

تأثیر تیمارهای بیولوژیک بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه شوید (*Aniethum graveolens* L.) تحت آلودگی عنصر مس

لاله فقیه‌عبداللهی^۱، همت‌اله پیردشتی^{۲*}، یاسر یعقوبیان^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

^۲ دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

^۳ دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۲۱

چکیده

حضور فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند منجر به کاهش رشد گیاهان شود. تجمع این فلزات به دلیل ایجاد سمیت در خاک‌های کشاورزی می‌تواند تهدیدی برای تولید گیاهان زراعی باشد. از طرفی مطالعات زیادی نشان دادند که کاربرد میکروارگانیزم‌ها می‌تواند سمیت فلزات سنگین را کاهش دهد. به همین دلیل در پژوهش حاضر اثر قارچ تریکودرما (*Trichoderma virens*) و باکتری‌های محرک رشد آزوسپریلیوم (*Azospirillum brasilense*) و ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum*) بر بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شوید (*Aniethum graveolens*) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۱ مورد بررسی قرار گرفت. عوامل مورد بررسی شامل چهار سطح پرایمینگ (شاهد، قارچ تریکودرما، باکتری آزوسپریلیوم + ازتوباکتر و تلفیق قارچ و باکتری) و چهار سطح نیترات مس (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که پاسخ مؤلفه‌های جوانه‌زنی به سطوح نیترات مس متفاوت بود به طوری که روند پاسخ صفات طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه به صورت خطی و کاهشی (به ترتیب با شیب ۰/۰۰۵-، ۰/۰۱۷- و ۰/۰۲۲-) ولی در صفات وزن تر و خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه این روند از نوع درجه دوم بود. به جز سرعت جوانه‌زنی روزانه در سایر صفات، روند تغییرات در سطوح پایین تنش به صورت افزایشی ولی در سطوح بالای آن کاهشی بود و بیشترین میزان این صفات در سطوح متوسط نیترات مس به دست آمد. با این وجود اثر تیمارهای بیولوژیک و بر همکنش آن با سطوح عنصر سنگین در هیچ‌کدام از صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود. در مجموع به نظر می‌رسد تکرار چنین آزمایش‌هایی در سایر مراحل رشدی و بسترهای کشت دیگر می‌تواند اطلاعات کامل‌تری در این زمینه فراهم آورد.

واژگان کلیدی: آزوسپریلیوم، ازتوباکتر، جوانه‌زنی، فلزات سنگین، قارچ تریکودرما

مقدمه

گیاهان طی چرخه زندگی خود معمولاً در معرض انواع وسیعی از تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند که از جمله آنها می‌توان به تنش فلزات سنگین اشاره کرد. سمیت عناصر سنگین که از معضلات عمده محیط زیستی در قرن حاضر می‌باشد. این عناصر وارد شبکه غذایی شده و از طریق تولیدات گیاهی به مصرف انسان می‌رسند

*مسئول مکاتبه: h.pirdashti@sanru.ac.ir

(Aycicek et al., 2008). عنصر مس یکی از عناصر کم مصرف و ضروری مورد نیاز گیاه می باشد (Yang et al., 2002). ولی غلظت های بالای آن می تواند باعث تنش اکسیداتیو و اختلال در فرایندهای فیزیولوژیک از جمله فتوسنتز و رشد گیاه گردد (Mohammadi et al., 2013). در اکثر گیاهان در صورتی که غلظت این عنصر به ۳۰ - ۲۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک برسد سبب مسمومیت گیاه می شود، که توقف رشد ریشه و رنگ تیره برگ از بارزترین علائم مسمومیت این عنصر است (Mohasseli, 2003). مشکل اصلی گیاه در محیط محتوی فلزات سنگین مانند مس انباشتگی یون این فلزات و ممانعت از جذب کاتیون های ضروری مانند آهن، پتاسیم، کلسیم و منگنز است (Mohammadi et al., 2013). تحمل تنش ناشی از عناصر سنگین در مرحله جوانه زنی و رشد گیاهچه به عنوان کلید استقرار گیاهان تحت شرایط محدود کننده می باشد. اولین مکانیسم های سمیت فلزات سنگین از طریق اختلال در فعالیت کاتالیزوری آنزیم ها، آسیب به غشای سلولی و محدود کردن رشد ریشه بروز می یابد. این کاهش در رشد ریشه در اثر کاهش تقسیم سلولی اتفاق می افتد (Singh et al., 2007; Verma et al., 2011). تحقیقات انجام شده در این زمینه حاکی از کاهش درصد و سرعت جوانه زنی و همچنین کاهش رشد ریشه چه و ساقه چه در مرحله جوانه زنی و گیاهچه ای بذور گیاهان در اثر سمیت عنصر مس می باشد (Bashmakov et al., 2005; Singh et al., 2007; Saberi et al., 2011; Lari Yazdi et al., 2011). در سال های اخیر ضرورت مطالعه بیولوژیک در ریزوسفر به منظور بهبود تغذیه و رشد گیاه و نیز کنترل عوامل تنش زا در محیط ریشه، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Vessey, 2003). به همین لحاظ مدیریت جمعیت میکروارگانیسم ها در ریزوسفر، به سوی استفاده بهینه از ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR) پیش می رود (Turan et al., 2006). کودهای بیولوژیک به تولیدات حاصل از فعالیت میکروارگانیسم هایی که در ارتباط با تثبیت نیتروژن و یا فراهمی فسفر و سایر عناصر غذایی در خاک فعالیت می کنند اشاره دارد (Rastin, 1998). از میکروارگانیسم هایی که با اغلب گیاهان رابطه همیاری دارند، می توان به گونه های مختلف ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم اشاره کرد (Bashan et al., 1989). این باکتری ها قادرند با افزایش در سرعت جوانه زنی، افزایش طول و وزن ریشه چه (Khan et al., 2003)، تسریع در طویل شدن ریشه و استقرار گیاه، منجر به افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان مختلف شوند (Dobbelaere et al., 2003). (Noumavo et al., 2013) در ذرت و (Yadav et al., 2010) در لوبیا چشم بلبلی نشان دادند که تلقیح بذرها با باکتریهای تحریک کننده رشد گیاه، موجب افزایش جوانه زنی و رشد گیاهچه ها می گردد.

گونه های قارچ تریکودرما نیز که بطور رایج در انواع خاک ها یافت می شوند، سرعت رشد و نمو و توانایی اسپورزایی بالایی داشته و اثرات مفیدی روی رشد گیاهان دارند (Rasponi et al., 2009). همچنین نقش اصلی آنها تبدیل بازمانده های آلی و تولید کمپوست می باشد (Yazdani et al., 2009). گونه های متعددی از قارچ تریکودرما شناخته شده که می توانند سمیت عناصر سنگین خاک های آلوده را تحمل کنند، همچنین این گونه ها مقاومت بالایی به مواد سمی مختلف از جمله آنتی بیوتیک ها، قارچ کش ها و فلزات سنگین دارند (Hajieghrari et al., 2010). Mastouri et al., (2010) افزایش جوانه زنی و رشد گیاهچه های گوجه فرنگی را در اثر تلقیح با قارچ تریکودرما، تحت تنش های شوری، خشکی و سرما گزارش کردند.

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز دارای جایگاه ویژه ای در نظام های سنتی کشاورزی ایران بوده و این نظام ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی ایفا کرده اند. شوید (*Aniethum graveolens* L.) گیاهی یک ساله علفی و

معطر است که از ترکیبات و مواد مؤثره آن در صنایع داروسازی و برای درمان بیماری‌های دستگانه گوارش و کاهش چربی خون استفاده می‌شود (Simon et al., 1984).

بنابراین با توجه به اهمیت دارویی و غذایی گیاه شوید و نظر به اینکه جوانه‌زنی به عنوان اولین مرحله نمودی در گیاهان و یکی از مراحل مهم و حساس و یک فرایند کلیدی در سبز شدن گیاهچه می‌باشد (De Villiers et al., 1994)، مطالعه بازدارندگی این مراحل در گیاهانی که در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته‌اند راه مناسبی برای درک اثرات سمی آنها در گیاهان محسوب می‌شود. بنابراین، در پژوهش حاضر به بررسی تأثیر قارچ تریکودرما و باکتریهای آزوسپریلیوم و ازتوباکتر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شوید تحت آلودگی نیترات مس پرداخته شد تا توانایی این میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان عوامل زیستی برای کاهش جذب عناصر سنگین در جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار مورد ارزیابی قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار سال ۱۳۹۱ در آزمایشگاه تنش‌های محیطی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح پرایمینگ (شاهد، قارچ تریکودرما، باکتری‌های آزوسپریلیوم + ازتوباکتر و تلفیق قارچ و باکتری) و چهار سطح نیترات مس (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. ایزوله قارچ تریکودرما گونه *virens* از مجموعه قارچهای زنده آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه تهیه و پس از تکثیر در محیط کشت PDA، تعداد اسپورها با استفاده از لام هموسیتومتر^۱ شمارش شده و سوسپانسیونی به غلظت 10^7 عدد اسپور قارچ در هر میلی‌لیتر تهیه گردید. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش نیز باکتریهای محرک رشد آزوسپریلیوم (*Azospirillum brasilense*) و ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum*) به تعداد 10^8 عدد باکتری زنده در هر میلی‌لیتر بود که به‌عنوان کود بیولوژیک نیتروکسین از بازار تهیه شد. برای تهیه محلول حاوی تریکودرما و باکتری‌های محرک رشد از نسبت ۱:۱ سوسپانسیون تریکودرما و باکتری‌های آزوسپریلیوم و ازتوباکتر استفاده شد. بذرهای شوید (*Aniethum graveolens* L.) با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شده و سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شد و سپس به منظور آلوده‌سازی با تیمارهای قارچی و باکتریایی، به مدت ۱۰ دقیقه در سوسپانسیون‌های تهیه شده غوطه‌ور گردید. پس از تلقیح بذور ۲۰ عدد بذر در هر پتری‌دیش گذاشته و محلول نیترات مس با غلظت‌های مشخص برای هر تیمار اضافه شد و پتری‌ها به مدت ۱۳ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و روزانه تعداد بذور جوانه‌زده شمارش گردید. بذوری جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آنها ۲ میلی‌متر یا بیشتر بود (Zabih et al., 2009). پس از پایان روز سیزدهم ۱۰ عدد گیاهچه نرمال برای اندازه‌گیری طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، وزن تر و خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه انتخاب شدند. ریشه‌چه‌ها و ساقه‌چه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک شده و وزن خشک آن با ترازوی دیجیتال با دقت یک‌ده هزارم اندازه‌گیری گردید. در نهایت نیز آغاز، پایان و یکنواختی جوانه‌زنی با استفاده از نرم‌افزار Germin محاسبه گردید (Soltani and Maddah, 2010). در نهایت نیز برخی از مؤلفه‌های جوانه‌زنی با استفاده از روابط زیر تعیین شد:

$$1\text{-شاخص بنیه طولی گیاهچه} = \frac{SVIL}{100} = \frac{GP \times TL}{100} \quad (\text{Abdul-baki and Anderson, 1973})$$

¹ Hemacytometer

GP : درصد جوانه‌زنی، TL: طول گیاهچه (سانتی‌متر)

۲- شاخص جوانه‌زنی $\sum GI = \frac{\sum Ni}{Ti}$ (Throneberry and Smith, 1955)

Ti: تعداد روزهای پس از کشت، ni: تعداد کل بذرهای جوانه‌زده تا روز i

۳- سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) $Rs = \sum_{i=1}^n \frac{Si}{Di}$ (Maguire, 1962)

Si: تعداد بذور جوانه‌زده در هر شمارش، Di: تعداد روز تا شمارش، n: دفعات شمارش

۴- متوسط جوانه‌زنی روزانه (بذر در روز) $MDG = \frac{FGP}{d}$ (Dehghanshoar et al., 2006)

FGP: درصد جوانه‌زنی، d: تعداد روزها تا رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی نهایی (طول دوره اجرای آزمایش)

۵- سرعت جوانه‌زنی روزانه (بذر در روز) $DGS = \frac{1}{MDG}$ (Dehghanshoar et al., 2006)

MDG: متوسط جوانه‌زنی روزانه

۶- ضریب سرعت جوانه‌زنی $CVG = \frac{G_1 + G_2 + G_3 + \dots + G_n}{(1 \times G_1) + (2 \times G_2) + (3 \times G_3) + \dots + (n \times G_n)}$ (Kotowski, 1926)

G1-Gn: تعداد بذرهای جوانه زده از روز اول تا روز آخر آزمون

۷- ضریب آلومتری $CA = Ls/Lr$ (Shams et al., 2006)

Ls: طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)، Lr: طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)

۸- درصد جوانه‌زنی $GP = \frac{\sum G}{N} \times 100$ (Shakirova. and Sahabuddinova, 2003)

GP: درصد جوانه‌زنی، G: تعداد بذور جوانه‌زده، N: تعداد کل بذور

برای اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تست نرمال به روش کولموگروف-اسمیرنوف انجام گردید و در نهایت با نرم افزار آماری SAS (Soltani, 2007) نسخه ۹/۱ تجزیه و آزمون مقایسه میانگین‌ها نیز با روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. در سطوح نیترات مس نیز از تجزیه رگرسیونی و برازش معادله درجه ۱، ۲ و دو تکه‌ای^۱ استفاده گردید. رسم منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

با توجه به جدول تجزیه واریانس صفات رویشی (جدول ۱)، اثر ساده عنصر سنگین مس در صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول گیاهچه و ضریب آلومتری معنی‌دار ($P < 0.01$) بود ولی در وزن تر و وزن خشک گیاهچه اثر معنی‌داری نداشت. اثر پرایمینگ بذر و همچنین اثر متقابل عنصر سنگین و پرایمینگ بذر بر صفات رویشی مورد اندازه‌گیری معنی‌دار نبود (جدول ۱).

¹ Segmented

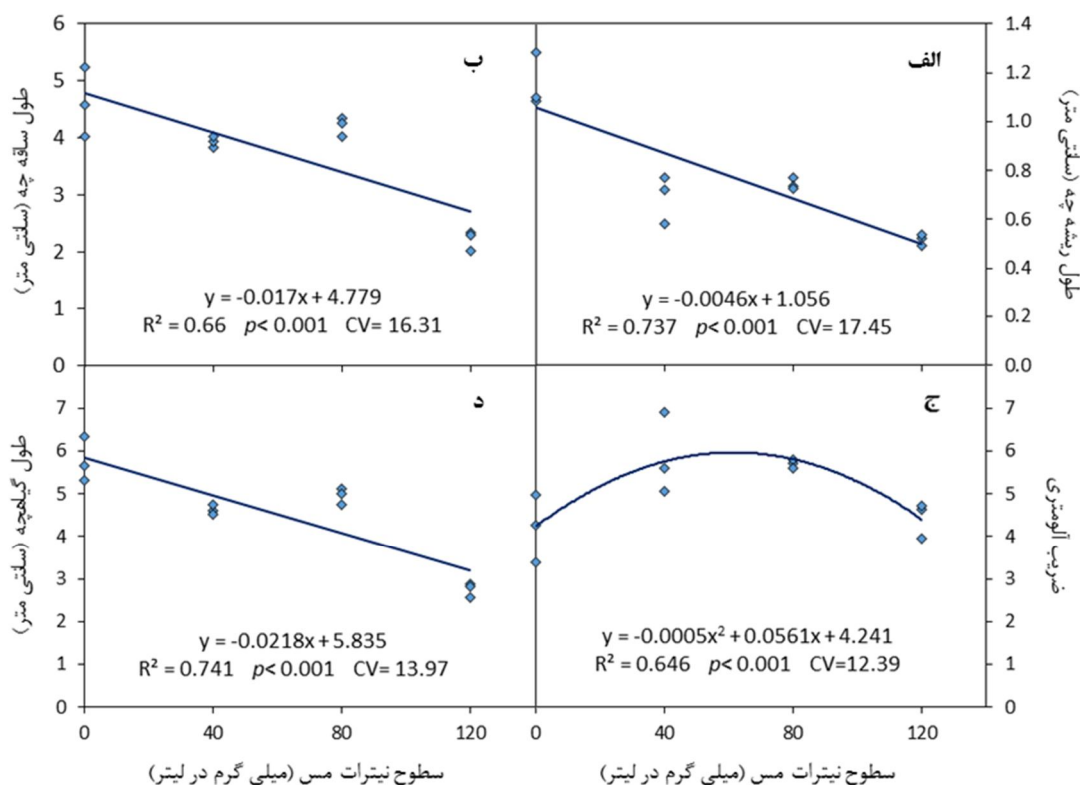
جدول ۱. میانگین مربعات اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات رویشی گیاهچه شویید

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ریشه چه	طول ساقه چه	طول گیاهچه	ضریب آلومتری	وزن تر گیاهچه	وزن خشک گیاهچه
عنصر سنگین (A)	۳	۰/۸۷۲**	۱۳/۲۸۲**	۱۹/۶۶۹**	**۸/۶۷۸	۱/۲۲	۰/۰۲۲
پرایمینگ (B)	۳	۰/۰۳۱	۰/۴۹۱	۰/۴۵۳	۱/۹۴۳	۰/۲۲	۰/۰۰۵
A × B	۹	۰/۰۴۶	۰/۳۹۳	۰/۵۶۳	۱/۱۴۷	۰/۴۳	۰/۰۱۲
خطای آزمایشی	۳۲	۰/۰۲۲	۰/۴۱۴	۰/۳۸۹	۱/۲۵۱	۰/۵۳	۰/۰۱۳
ضریب تغییرات (درصد)		۱۹/۰۰	۱۷/۲	۱۳/۸	۲۲/۱	۲۴/۶	۱۹/۵

* و ** معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

نتایج تجزیه رگرسیون اثر سطوح مختلف نیترات مس بر صفات مورد مطالعه (شکل ۱) نشان داد که عکس‌العمل صفات طول ریشه چه ($R^2=0/74$)، طول ساقه چه ($R^2=0/67$) و طول گیاهچه ($R^2=0/74$) به افزایش غلظت نیترات مس از رابطه خطی تبعیت نموده است، بدین معنی که با افزایش غلظت عنصر سنگین به ترتیب با شیب $-0/017$ و $-0/022$ واحد کاهش نشان دادند. در میان صفات مذکور حساسیت طول ریشه چه به تنش عنصر سنگین نسبت به طول ساقه چه و گیاهچه بیشتر بوده و با افزایش غلظت نیترات مس از صفر به 120 میلی گرم در لیتر حدود 55 درصد کاهش نشان داد و کمترین میزان آن ($0/52$ سانتی متر) در سطح 120 میلی گرم در لیتر نیترات مس به دست آمد (شکل ۱). اولین اثر ظاهری عنصر سنگین مس روی گیاه با محدود کردن رشد ریشه بروز می‌یابد که این کاهش، از طریق کاهش تقسیم سلولی و در نتیجه کاهش رشد طولی ریشه اتفاق می‌افتد (Verma et al., 2011). Saberi et al., (2011) نیز در آزمایشی روی گیاه آگروپیرون (*Agropyron elongatum*) کاهش رشد طولی ریشه و ساقه را در اثر سمیت عناصر مس و کادمیوم گزارش کردند.

روند تغییرات ضریب آلومتری نسبت به تغییرات غلظت نیترات مس به صورت درجه دوم ($R^2=0/65$) بوده و در ابتدا روند افزایشی و سپس کاهش داشت (شکل ۱-ج)، به طوری که در سطوح پایین تنش (صفر تا 40 میلی گرم در لیتر) افزایش یافته و در ادامه با افزایش غلظت مس از 80 به 120 میلی گرم در لیتر دوباره کاهش نشان داد (شکل ۱). در این آزمایش عکس‌العمل ضریب آلومتری نسبت به افزایش غلظت عنصر مس می‌تواند بیانگر حساسیت بیشتر طول ریشه چه نسبت به طول ساقه چه در سطوح پایین عنصر سنگین مس (0 تا 40 میلی گرم در لیتر نیترات مس) و برعکس حساسیت بیشتر طول ساقه چه نسبت به ریشه چه در سطوح بالای این عنصر (80 تا 120 میلی گرم در لیتر نیترات مس) باشد، چرا که در سطح 40 نیترات مس نسبت به سطح شاهد آن، طول ریشه چه نسبت به طول ساقه چه کاهش بیشتری نشان داده (به ترتیب 40 و 15 درصد)، ولی با این وجود در سطح 120 نیترات مس نسبت به سطح 80 آن کاهش طول ریشه چه کمتر از ساقه چه (به ترتیب 30 و 47 درصد) بود (شکل ۱). Smirnov et al., (2006) در آزمایشی بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم به این نتیجه رسیدند که صفات طول ریشه، طول ساقه و سرعت جوانه‌زنی حساس‌ترین صفات نسبت به سمیت عنصر مس هستند که در این میان صفت طول ریشه حساسیت بیشتری نسبت به غلظت این عنصر دارد. Singh et al., (2007) بیان داشتند که کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تحت تنش عنصر سنگین مس می‌تواند با کاهش فعالیت آنزیم آمیلاز و کاهش هیدرولیز قند ذخیره‌ای و در نتیجه محدود شدن انرژی آزاد شده در بذر مرتبط باشد.



شکل ۱. اثر سطوح مختلف نیترات مس بر طول ریشه‌چه (الف)، طول ساقه‌چه (ب)، ضریب آلومتری (ج) و طول گیاهچه (د) بذر شوید

تأثیر سطوح تنش نیترات مس بر صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی روزانه، متوسط جوانه‌زنی روزانه، شاخص جوانه‌زنی و همچنین شاخص بنیه طولی گیاهچه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود، ولی بر ضریب سرعت جوانه‌زنی اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۲). اثر ساده پیش‌تیمار بذور با میکروارگانیزم‌های مورد بررسی و همچنین اثر متقابل آن به تنش عنصر سنگین مس در هیچ یک از صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری نداشت که این نتایج با نتایج پژوهشگران دیگر در بررسی اثر تیمارهای بیولوژیکی روی جوانه‌زنی بذور رازیانه (Alizadeh, 2012)؛ Foroutan et al., 2012)، برنج (Behmanesh et al., 2012) و فلفل (Hasani et al., 2012) در سطوح مختلف نیترات مس مطابقت دارد. ولی با نتایج (Mastouri et al., 2010) که افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی را در اثر تلقیح قارچ تریکودرما، تحت تنش‌های شوری، خشکی، سرما و پیری مورد بررسی قرار داده بودند همخوانی ندارد. هرچند در آزمایش (Mastouri et al., 2010) نیز قارچ تریکودرما در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذوری که تحت تنش قرار نداشتند (تیمار شاهد)، اثر معنی‌داری نداشت. (Noumavo et al., 2013) در ذرت و (Yadav et al., 2010) در لوبیا چشم بلبلی اثر مثبت باکتریهای تحریک‌کننده رشد گیاه را در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها مشاهده نمودند.

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر شوید

منابع تغییر	درجه آزادی	جوانه‌زنی					شاخص	درجه آزادی
		سرعت روزانه	ضریب سرعت	درصد	متوسط روزانه	طولی		
عنصر سنگین (A)	۳	۰/۰۲۳۱**	۰/۶۷۳	۱۴۲۶/۴**	۱۱/۷۹**	۱۰۸۷۵۴**	۶۳۱۸**	۳
پرایمینگ (B)	۳	۰/۰۰۲۳	۱/۷۶۱	۱۵۰	۱/۲۴	۶۶۳۰	۱/۰۳۶	۳
A × B	۹	۰/۰۰۰۳	۲/۰۰۵	۱۷/۱	۰/۱۴۲	۱/۳۹۹	۰/۲۹۸	۹
خطای آزمایشی	۳۲	۰/۰۰۱۷	۲/۱۸۲	۱۱۵/۱	۰/۹۵۱	۴/۹۰۳	۰/۷۲۹	۳۲
ضریب تغییرات (درصد)		۲۰/۲	۹/۴	۱۸/۹	۱۸/۹	۲۶/۶	۲۳/۳	

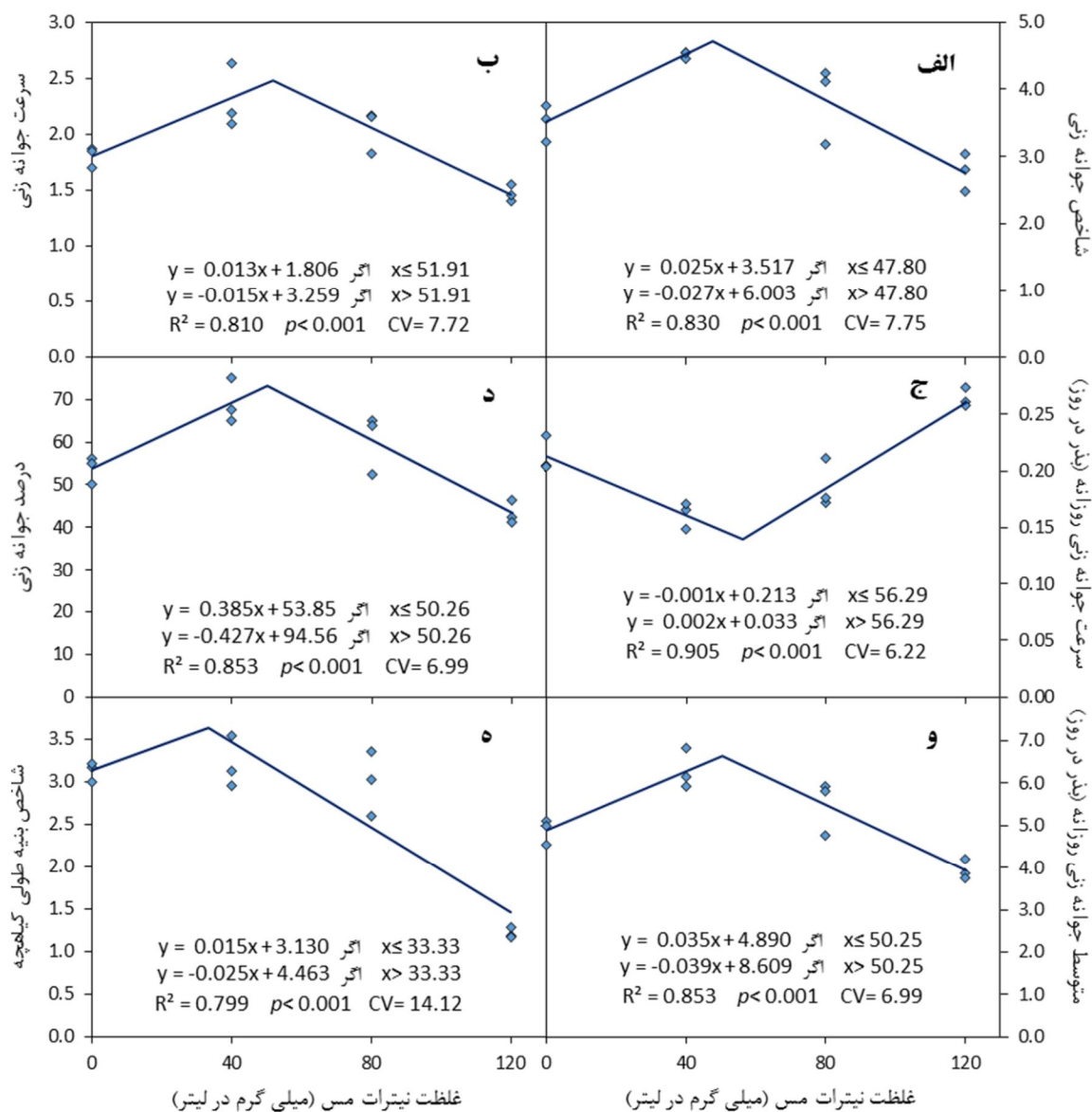
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

روند تغییرات شاخص جوانه‌زنی نسبت به تغییرات غلظت نیترات مس از تابع دو تکه‌ای ($R^2=0/83$) تبعیت کرد. پاسخ شاخص جوانه‌زنی بذر به افزایش غلظت نیترات مس، ابتدا از روند افزایشی و سپس کاهش بر خوردار بود، به طوری که با افزایش غلظت نیترات مس از صفر به حدود ۴۸ میلی‌گرم در لیتر، شاخص جوانه‌زنی به صورت خطی با شیب ۰/۰۲۵ افزایش یافت، ولی از ۴۸ تا ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت خطی و با شیب -۰/۰۲۷ کاهش نشان داد. بیشترین میزان شاخص جوانه‌زنی در غلظت ۴۸ (۴/۷۱) و کمترین آن (۲/۷۶) در غلظت ۱۲۰ نیترات مس مشاهده گردید (شکل ۲).

سرعت جوانه‌زنی نیز عکس‌العملی شبیه به شاخص جوانه‌زنی نسبت به تغییرات غلظت عنصر مس نشان داده و ابتدا تا غلظت ۵۲ میلی‌گرم در لیتر افزایش و در ادامه به صورت خطی کاهش نشان داد ولی سرعت جوانه‌زنی روزانه کاملاً عکس این حالت را داشت و در ابتدا نسبت به افزایش سطوح تنش عنصر مس عکس‌العمل منفی نشان داده ولی در ادامه روند افزایشی داشت (شکل ۲). با توجه به جدول ۲، اثر عنصر سنگین بر صفت ضریب سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار نبود. Lari Yazdi et al., (2011) نیز در مطالعه اثر سطوح مختلف عنصر مس و سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی دو رقم گندم کاهش شاخص جوانه‌زنی را در اثر سمیت مس گزارش نمودند.

روند تغییرات درصد جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه و شاخص بنیه طولی گیاهچه نیز نسبت به غلظت نیترات مس از نوع مدل دو تکه‌ای (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۵، ۰/۸۵ و ۰/۸۰) بود، به طوری که در هر سه مورد با افزایش غلظت نیترات مس روند تغییرات ابتدا (به ترتیب تا غلظت حدود ۵۰، ۵۰ و ۳۳ میلی‌گرم در لیتر نیترات مس) به صورت افزایشی و سپس کاهش بود. با این تفاوت که شاخص بنیه طولی گیاهچه در غلظت پایین‌تری از نیترات مس (حدود ۳۳ درصد) به حداکثر مقدار خود رسید (جدول ۳). از آنجایی که مس یک عنصر کم‌مصرف ضروری برای گیاه است، سطوح پایین (از صفر تا حدود ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) آن باعث بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی گیاه می‌شود ولی افزایش غلظت آن، باعث ایجاد سمیت و اختلال در فرایندهای معمول سلولی و در نتیجه کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها می‌گردد (Verma et al., 2011). Bashmakov et al., (2005) نیز در بررسی اثر برخی از عناصر سنگین بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های ذرت، در مورد عنصر مس به نتایج مشابهی دست یافتند در حالی که در مورد عناصر نیکل و روی این حالت صادق نبوده و در سطوح پایین این عناصر نیز اثر مضر آن‌ها مشاهده گردید.

در میان تمامی صفات مورد اندازه‌گیری صفات شاخص بنیه طولی گیاهچه و طول ریشه‌چه بیشترین حساسیت را نسبت به تنش نیترات مس نشان دادند و در سطح ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات مس نسبت به سطح صفر آن به ترتیب حدود ۶۱ و ۵۵ درصد کاهش نشان دادند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). انباشته شدن فلزات سنگین در محیط ریشه سبب کاهش جذب آب و مواد غذایی، کاهش متابولیسم سلولی و در نتیجه مهار رشد، تسریع پیری و حتی مرگ گیاه می‌شود (Cheng and Huang, 2006; Pandey and Sharma, 2002).



شکل ۲. اثر سطوح مختلف نیترات مس بر شاخص جوانه زنی (الف)، سرعت جوانه زنی (ب)، سرعت جوانه زنی روزانه (ج)، درصد جوانه زنی (د)، متوسط جوانه زنی روزانه (و) و شاخص بنیه طولی گیاهچه (ه) بذر شوید

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج کلی بدست آمده از این بررسی نشان می‌دهد که غلظت‌های اعمال شده نیترات مس موجب اختلال در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شویید می‌شوند، به طوری که غلظت‌های بالای این عناصر کاهش شدید رشد ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه شویید را به همراه داشت. همچنین با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش و با توجه به اینکه بیشترین گزارشات از اثرات مفید میکروارگانیسم‌های محرک رشد در شرایط کشت خاکی و در مراحل پس از جوانه‌زنی گیاه وجود دارد، به نظر می‌رسد که تکرار چنین آزمایش‌هایی در سایر مراحل رشدی و بسترهای کشت دیگر، نتیجه‌گیری را قوی‌تر و غنی‌تر ساخته و امکان تصمیم‌گیری دقیق‌تر را فراهم می‌آورد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقایان دکتر محمدعلی تاجیک و مهندس محمد علوی به دلیل همکاری‌هایشان در تهیه ایزوله‌های قارچ و باکتری‌ها تشکر می‌گردد.

References

- Abdul-baki, A.A., Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in Soybean seed by multiplication. *Crop. Sci*, 3: 630-633.
- Alizadeh Foroutan, M., Pirdashti, H.A., and Yaghoobian, Y. 2012. Effect of Trichoderma with plant growth promoting rhizobacteria on germination and seedling improvement in herb fennel (*Foeniculum vulgare*) under copper contamination. The 17th National & 5th International Iranian Biology Conference. Kerman. (In Persian).
- Aycicek, M. Ince, M and Yaman, M. 2008. Effects of cadmium on the germination, early seedling growth and metal content of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Int. J. Sci. Technol.* 1: 1-11.
- Bashan, Y., Ivanony, Y.H., and Saad, A., 1989. Nonspecific response in plant growth, yield and root colonization of non-cereal crop plant to inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Can. J. Bot.* 67: 1317-1324.
- Bashmakov, D.I., Lukatkin A.S., Revin, V.V., Duchovskis, P., Brazaitytė, A., and Baranauskis, K. 2005. Growth of maize seedlings affected by different concentration of heavy metals. *J. Ekologija*, 3: 22-27.
- Behmanesh, N., Pirdashti, H.A., and Yaghoobian, Y. 2012. Effect of copper element and biological treatments on germination component of rice (*Oryza sativa* L.) seed. The 17th National & 5th International Iranian Biology Conference. Kerman. (In Persian).
- Cheng, Sh.F. and Huang, C.Y. 2006. Influence of cadmium on growth of root vegetable and accumulation of cadmium in the edible root. *Int. J. Appl. Sci. Eng.* 4(3): 243-252.
- De Villiers, A.J., Van Rooyrn, M.W., Theron, G.K., and Van Deventer, H.A. 1994. Germination of three Namaqualand pioneer species, as influenced by salinity, temperature and light. *Seed Sci. and Technol.* 22: 427-433.
- Dehghanshoar, M., Hamidi, A. and Mobser, S. 2006. Evaluation the methods of Seed Vigor. The Ministry of Agriculture Press. Tehran. P193. (In Persian).
- Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. and yacovokon, Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Plant Sci.* 22: 107-149.
- Hajieghrari, B. 2010. Effect of some metal-containing compound and fertilizers mycelia growth response. *Afr. J. Biotechnol.* 26: 4025-4033.
- Hasani, Z., Pirdashti, H.A., and Yaghoobian, Y. 2012. Effect of Trichoderma (*Trichoderma Virens*), Azospirillum and Azotobacter on the seed germination index of pepper plants under copper

- contamination. The 17th National & 5th International Iranian Biology Conference. Kerman. (In Persian).
- Khan, M.R., Talukdar, N.C. and Thakuria, D. 2003. Detection of Azospirillum and PSB in rice rhizosphere soil by protein and antibiotic resistance profile and their effect on grain yield of rice. *Indian J. Biotechnol.* 2: 246-250.
- Kotowski, F. 1926. Temperature relation to germination of vegetable seed. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 23: 176-184.
- LariYazdi, H., Chehregani, A., and Kordi, F. 2011. Effect of copper and salicylic acid on germination of wheat *Triticum aestivum* L. (Marvdasht and Bahar). Fifth National Conference on New Ideas in Agriculture. Esfahan. (In Persian).
- Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Sci.* 2, 176-177.
- Mastouri, F., Björkman, Th., 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.
- Mohammadi, Z., Nabavi Kalat, S.M., and Sadrabadi Haghaghi, R. 2013. Effect of copper sulfate and salt stress on seed germination and proline content of psyllium (*Plantago psyllium*). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 13: 148-152
- Mohasseli, V. 2003. Effects of different levels of copper on growth and chemical composition of wheat variety Falat Staff. *Pajouhesh-va-Sazandegi.* 61: 25-31. (In Persian).
- Noumavo, P.A., Kochoni, E., Didagbé, Y.O., Adjanohoun, A., Allagbé, M., Sikirou, R., Gachomo, E.W., Kotchoni, S.O., and Baba-Moussa, L. 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *American J. Plant. Sci.* 4, 1013-1021.
- Pandey, N., and Sharma, C.P. 2002. Effect of heavy metals Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. *Plant Sci.* 163: 753-758.
- Rasponi, E., Cacciola, S.O., Gotor, C., Romero, L.C., Garci, I. 2009. Implications of cysteine metabolism heavy metal response in *Trichoderma harizanum* and in three fusarium species, *chemosphere.* 76:48-54.
- Rastin, N. 1998. Biologic Manures. *J. Water and Soil.* 12: 1-36.
- Saberi, M., Shahriari, A., and Tarnian, F. 2011. Investigation the effects of cadmium chloride and copper sulfate on germination and seedling growth of *Agropyron elongatum*. *Mod. Appl. Sci.* 5(5): 232-243.
- Shakirova, F.M. and Sahabutdinova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci.* 164: 317-322.
- Shams, R., Shariati, M., and Modaresi Hashemi, M. 2006. Study of some dormancy breaking treatments in five pronances of *Stipa barbata*. *Iran Journal of Biology.* 18: 48- 59. (In Persian).
- Simon, J. E., Chadwich, A.F., and Craker, L.E. 1984. Herbs: an Indexed bibliography 1971-1980 the scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone. Archon Books, Hamden, CT, 770 p.
- Singh, D., Nath, K., and Kumar Sharma, Y. 2007. Response of wheat seed germination and seedling growth under copper stress. *J. Environ. Biol.* 28, 409-414.
- Smirnov, T.A., Kolomiitseval, G.Ya., Prusovl, A.N., and Vanyushin, B.F. 2006. Zinc and copper content in enveloping and aging coleoptiles of wheat seedling. *Russian J. Plant Physiol.*, 53(4): 535-540.
- Soltani, A. 2007. Application and using of SAS program in statistical analysis. Jihad-Daneshgahi; Press, Mashhds, Iran, 180p. (In Persian).
- Soltani, A. and Maddah, V. 2010. Simple, applied programs for education and research in agronomy. Niak Press. 80p. (In Persian).

- Throneberry, G.O. and Smith, F.G. 1955. Relation of respiratory enzymatic activity to corn seed viability. J. Plant Physiol. 30: 337-343.
- Turan, M., Ataoglu, N., Ataoglu, N., and Sahin, F. 2006. Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. Journal of Sustainable Agriculture. 28: 99-108.
- Verma, J.P., Singh, V., and Yadav, J. 2011. Effect of copper sulphate on seed germination, plant growth and peroxidase activity of Mung Bean (*Vigna radiate*). In. J. Bot. 7(2): 200-204.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 255: 571-586.
- Yadav, J., Verma, J.P., and Tiwari, K.N. 2010. Effect of plant growth promoting Rhizobacteria on seed germination and plant growth Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under in Vitro conditions. Biol. Forum Int. J. 2, 15-18.
- Yang, X., Long, X.X., Ni, W.Z., Yang, X.E., Ni, W.Z., Ye, Z.Q., He, Z.I., Stoffella, P.J., and Calvert, D.V. 2002. Assessing copper thresholds for phytotoxicity and potential dietary toxicity in selected vegetable crops. J. Environ. Sci. Health B. 37: 625-635.
- Yazdani, M., Pirdashti, H., Tajik, M.A., and Bahmanyar, M.A. 2009. Effect of Trichoderma spp. and different organic manures on growth and development in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. Electronic J. Crop Prod. 1: 65-82. (In Persian).
- Zabihi, H.R., Savabeghi, K., Khavazi, K., and Ganjali, A. 2009. Effect of fluorescent Pseudomonas strains from different levels of soil salinity on yield and yield components of wheat. J. Water and Soil. 23: 199-208. (In Persian).