



تأثیر همزیستی قارچ *Trichoderma atroviride* بر ویژگی‌های رشد و عملکرد دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.) در خاک آلوده تیمار شده با نیترات مس

الهه تشکری فرد^۱ - فاطمه تقوی قاسمخیلی^۲ - همت‌اله پیردشتی^{۳*} - محمد علی تاجیک قنبری^۴ - محمد علی بهمنیار^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۱۸

چکیده

به منظور بررسی اثر قارچ *Trichoderma atroviride* بر ویژگی‌های رشدی دو رقم کلزا در سطوح مختلف نیترات مس، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح کاربرد و عدم کاربرد قارچ، چهار سطح نیترات مس (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دو رقم کلزا (هایولا ۴۰۱ و ساری گل) در سه تکرار به صورت گلخانه‌ای در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۸۹ اجرا شد. نتایج آزمایش نشان داد که تعداد غلاف در شاخه اصلی در رقم هایولا ۴۰۱ با افزایش آلاینده در خاک روند کاهشی داشت اما در رقم ساری گل، بالاترین میزان این صفت (حدود ۳۶ عدد) در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس مشاهده شد. حضور قارچ *تری‌کودرما*، تعداد غلاف شاخه فرعی را در رقم هایولا ۴۰۱ و ساری گل به ترتیب حدود ۶۴ درصد و ۲/۵ برابر افزایش داد. همچنین بیشترین تعداد غلاف در شاخه فرعی در تیمار کاربرد *تری‌کودرما* و سطح ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس حدود ۱/۳ برابر نسبت به عدم کاربرد *تری‌کودرما* مشاهده شد. بیشترین ارتفاع بوته به ترتیب حدود ۱۰۰ و ۱۲۰ سانتی‌متر در ارقام هایولا ۴۰۱ و ساری گل با کاربرد قارچ در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس به دست آمد. حضور *تری‌کودرما* در خاک در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس توانست طول غلاف شاخه اصلی را در رقم هایولا ۴۰۱ (حدود ۱۶ سانتی‌متر) بیشتر از رقم ساری گل (حدود ۷ سانتی‌متر) افزایش دهد. در مجموع، به نظر می‌رسد که قارچ *تری‌کودرما* باعث بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه کلزا در سطوح بالای عنصر مس در خاک می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی، *تری‌کودرما*، عملکرد دانه، فلزات سنگین

مقدمه

لرزم تولید مواد غذایی بیشتر، موجب توسعه فعالیت‌های صنعتی، شهری و کشاورزی شده و آلودگی زیست‌محیطی را به دنبال داشته است (Naeemi et al., 2008; Hegazi et al., 2010). در نتیجه رشد گیاهان زراعی در محیط آلوده و تجمع مواد سمی در قسمت‌های خوراکی گیاهان موجب تهدید سلامت مصرف‌کنندگان خواهد شد (Abouzina et al., 2013; Ahmad et al., 2011). در میان انواع آلاینده‌های زیست‌محیطی که خاک، آب و هوا را آلوده کرده‌اند فلزات سنگین از خطرناک‌ترین آلاینده‌ها می‌باشند چرا که این فلزات تمایل به تجمع در سیستم‌های زیستی و زنجیره غذایی دارند و حذف آن‌ها از محیط بسیار مشکل و پرهزینه است (Przedpelska and Wierzbica, 2007; Wang et al., 2009). بنابراین، به نظر می‌رسد یافتن یک روش سریع و ایمن برای حذف این آلاینده‌ها با حداقل هزینه و تأثیر بر محیط زیست ضروری است. در این میان، گیاه‌پالایی^۶ به عنوان یکی از بهترین روش‌ها معرفی شده است که در آن از سازگاری‌های مقاومتی برخی از گیاهان در مقابله با اثرات سمی فلزات و نیز حذف آن‌ها از محیط استفاده می‌شود (Hashim et al.,

امروزه روغن‌های گیاهی به عنوان یکی از اجزای اصلی تغذیه انسان از اهمیت خاصی در میان گیاهان زراعی مهم دنیا برخوردار می‌باشند (Parsadoost et al., 2007). در سال‌های اخیر، کشت کلزا در ایران به دلیل کیفیت‌های ویژه این گیاه شامل قابلیت رشد در مناطق مختلف، محتوا و کیفیت بالای روغن و تغذیه حیوانات مورد توجه قرار گرفته است (Heshmatpure and Yousefi Rad 2012; Aghel and Zoghi, 2009). از سوی دیگر، رشد روزافزون جمعیت و

۱- دانشجوی دکتری رشته زراعت، دانشگاه گیلان

۲- دانشجوی دکتری رشته زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری

۳- دانشیار، گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۴- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۵- استاد گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*- نویسنده مسئول: (Email: h.pirdashti@sanru.ac.ir)

DOI: 10.22067/gsc.v15i1.39711

Kaewchai *et al.*, 2009; Mazhabi *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2008; Yazdani *et al.*, 2010). مطالعات انجام شده در این زمینه نشان داد، تلقیح گیاه با گونه‌های تریکودرما ضمن پالایش خاک‌هایی با آلودگی‌های متعدد، می‌تواند منجر به بهبود رشد و نمو گیاه، افزایش عملکرد و دسترسی به مواد غذایی شود (Anand *et al.*, 2006; Cao *et al.*, 2011; Molla *et al.*, 2012; Wang and Zhou, 2005).

امروزه، افزایش روزافزون نیاز غذایی مردم در اثر رشد سریع جمعیت، ایجاب می‌کند که میزان تولید محصولات کشاورزی افزایش یابد (Sadat *et al.*, 2010) و از آنجایی که وضعیت نگران‌کننده آلودگی‌های زیست‌محیطی مانعی در دستیابی به توسعه پایدار می‌باشد لذا لزوم توجه به مسائل محیط زیست با استفاده از فن‌آوری‌های پاک بیش از پیش احساس می‌شود (Moosavi and Seghatoleslami, 2013). بر همین اساس، استفاده از ریزجانداران خاکزی به‌منظور افزایش محصول، بالا بردن کیفیت تولیدات کشاورزی در اوایل قرن بیستم مطرح گردید و روز به روز افق‌های جدید و نویدبخشی بر روی بشر گشوده شد (Etesami *et al.*, 2007). لذا با توجه به ضرورت بررسی اثرات مضر مس در غلظت‌های بالا به‌عنوان فلز سنگین در کاهش عملکرد گیاهان زراعی (Vafadar and Zare Maivan, 2009; Khosravi *et al.*, 2006) و اهمیت و توانایی ریزجاندارانی همچون قارچ تریکودرما به‌عنوان عوامل زیستی برای کاهش جذب عناصر سنگین از خاک و افزایش رشد و عملکرد گیاه، هدف از انجام پژوهش حاضر مطالعه کارایی این قارچ در بهبود عملکرد و اجزای عملکرد گیاه کلزا در مقابل افزایش غلظت مس و همچنین تعیین برهم‌کنش مثبت یا منفی کاربرد قارچ و مس بر این صفات در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به‌صورت گلدانی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۸۹ انجام شد. فاکتورها شامل چهار سطح نیترات مس (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، قارچ تریکودرما با دو سطح (حضور یا عدم حضور قارچ) و دو رقم کلزا (هایولا ۴۰۱ و ساری‌گل) بود. هایولا ۴۰۱ یک رقم هیبرید و زودرس و رقم ساری‌گل یک رقم بومی، آزادگرده‌افشان و متوسط رس می‌باشد. این ارقام مناسب مناطق گرم و معتدل هستند (Fathi and Gholizade, 2008; Safahani Langerodi *et al.*, 2010). قارچ *T. atroviride* نیز از مجموعه قارچ‌های زنده آزمایشگاه قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه گردید.

کاربرد گیاهان بیش‌اندوز برای جذب فلز در فرایند گیاه‌پالایی مدت زیادی است که به‌صورت یک فن‌آوری شناخته شده است. در میان بیش‌اندوزهای شناخته‌شده گیاهان خانواده شب‌بو بیشترین میزان جذب و بالاترین تعداد بیش‌اندوزهای فلزات سنگین را دارا می‌باشند. در این میان، گیاه کلزا (*Brassica napus*) یکی از مهم‌ترین گیاهان این خانواده به‌عنوان یک گیاه بیش‌اندوز فلزات سنگین شناخته شده است (Heshmatpure and Yousefi Rad 2012; Abouzina *et al.*, 2013). اما با توجه به محدودیت‌های موجود در پاکسازی محیط‌های آلوده، پژوهشگران از تلفیق این فرایند با جوامع میکروبی مفید خاکزی تحت عنوان زیست‌پالایی بهره‌برده‌اند که اخیراً بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در این فرایند از یک سو، ریزجانداران قادر به حفظ فعالیت بیولوژیکی و ساختمان فیزیکی خاک بوده و از سوی دیگر، نسبت به روش‌های رایج فیزیکی، هزینه‌ی کمتری دارد (Kavamura and Esposito, 2010).

در این میان زیست‌توده قارچی به‌علت فراوانی و تولید اقتصادی مورد توجه خاصی قرار گرفته است (Anand *et al.*, 2006). این ریزجانداران می‌توانند به‌عنوان جاذب‌های بالقوه فلزات به‌کار روند (Sadhasivam *et al.*, 2007). در این میان، گونه‌های قارچ تریکودرما، رشته‌ای، مفید و غیربیماریز بوده، تقریباً در همه خاک‌ها حضور دارند که به‌دلیل رشد سریع، قدرت تکثیر بالا، تحمل به شرایط نامطلوب، توانایی رشد و کلونیزاسیون در ارتباط با ریشه گیاه و القای رشد گیاه به‌طور گسترده می‌توانند به‌عنوان یکی از منابع میکروارگانسمی جذب‌کننده زیستی فلزات سنگین استفاده شوند (Kaewchai *et al.*, 2009; Mazhabi *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2010; Molla *et al.*, 2012; Wang and Zhou, 2005; Vankar and Bajpai, 2008). بنابر گزارش موجود تلقیح گیاه با تریکودرما می‌تواند شرایط را برای پالایش خاک‌هایی با آلودگی‌های متعدد فراهم آورد (Anand *et al.*, 2006; Cao *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2010). همچنین در سال‌های اخیر مطالعه بیولوژی ریزوسفر از جمله ریزجانداران مفید خاکزی به‌منظور بهبود رشد گیاهان زراعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Bennett and Whipps 2008; Avis *et al.*, 2008). به‌طوری که امروزه تریکودرما به‌عنوان آفت‌کش زیستی به‌منظور کنترل زیستی در برابر عوامل بیماریزای خاکزی، کود زیستی یا حاصل‌خیزکننده خاک در تولید هورمون‌های رشد، افزایش جذب عناصر غذایی (Mazhabi *et al.*, 2011; Molla *et al.*, 2012; Cuevas, 2006)، دفع مسمومیت و افزایش انتقال قند و اسید آمینه در ریشه گیاهان، ایجاد مقاومت القایی^۱ در برابر تنش‌های محیطی و القای رشد گیاه استفاده می‌شوند (Cuevas, 2006).

1- Bioremediation

2- Induced Resistance

جدول ۱- نتایج تجزیه نمونه خاک اولیه قبل از اجرای آزمایش

Table1- Results of soil analysis before beginning the experiment

بافت خاک Soil texture	CEC (Cmol kg ⁻¹)	پتاسیم فسفر		pH	نیتروژن N (%)	ماده آلی Organic matter (%)	EC (dS m ⁻¹)
		P (mg kg ⁻¹)	K				
رسی سیلتی Clay loam	24.03	5.9	130	7.65	0.07	1.30	2.48

نتایج و بحث

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) از لحاظ آماری بین دو رقم کلزا تنها در طول غلاف در شاخه اصلی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. همچنین، کاربرد قارچ تریکودرما جز بر ارتفاع بوته و تعداد غلاف در شاخه اصلی، بر سایر صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری داشت. بین سطوح مختلف نیترات مس از نظر صفاتی همچون تعداد غلاف در شاخه فرعی و طول غلاف در شاخه اصلی تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. بین رقم و تریکودرما نیز از نظر تعداد غلاف در شاخه فرعی و طول غلاف در شاخه اصلی، بین رقم و نیترات مس از نظر تعداد غلاف در شاخه اصلی و طول غلاف در شاخه اصلی و بین تلقیح تریکودرما و سطوح مختلف نیترات مس از نظر طول غلاف در شاخه فرعی و اصلی برهم‌کنش کاملاً معنی‌داری مشاهده شد. برهم‌کنش سه عامل مورد بررسی در این آزمایش نیز بر ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی و طول غلاف در شاخه اصلی معنی‌دار گردید.

برهم‌کنش رقم، تریکودرما و نیترات مس بر ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، طول غلاف در شاخه اصلی، تعداد دانه در غلاف و عملکرد دانه

با توجه به شکل ۱- الف، پاسخ دو رقم مورد بررسی در سطح بدون آلودگی به نیترات مس تحت تیمار قارچ تریکودرما به‌گونه‌ای متفاوت بوده است. به‌طوری‌که در رقم هایولا ۴۰۱ در تیمار کاربرد تریکودرما کاهش ارتفاع مشاهده شد اما در رقم ساری گل این صفت افزایش یافت. در این پژوهش با افزایش غلظت نیترات مس، ارتفاع بوته در هر دو رقم تحت تیمار عدم کاربرد *T. atroviride* از روند کاهشی برخوردار بود. در حالی‌که روند تغییرات ارتفاع بوته در تیمار کاربرد *T. atroviride* نسبت به تیمار عدم کاربرد قارچ تریکودرما در سطوح پایین آلودگی به نیترات مس (صفر و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در رقم هایولا به‌صورت کاهشی و در غلظت بالای آلودگی به نیترات مس (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) افزایشی بود اما از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین کاربرد و عدم کاربرد قارچ در سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده نشد. همچنین، روند این تغییرات در

برای شروع آزمایش جهت تکثیر جدایه‌های مزبور ابتدا این جدایه‌ها در محیط کشت PDA (عصاره سیب‌زمینی، دکستروز و آگار) به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تکثیر و پس از پنج روز اسپورزایی در محیط کشت سبوس گندم تکثیر شدند. محیط کشت مورد استفاده قبلاً در اتوکلاو به مدت ۳۰ دقیقه استریل شد. ابتدا خاک مورد استفاده با فرمالین پنج درصد ضدعفونی و به مدت ده روز هوادهی شد (Harender and Sharma, 2009). سپس ۵۰ گرم از محیط کشت سبوس و اسپورهای تریکودرما (به تعداد ۱۰^۸ واحد کلون ساز در هر گرم) به خاک هرگلدان ده کیلوگرمی (به ارتفاع ۳۰ با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر) افزوده و کاملاً با آن مخلوط گردید (Yazdani *et al.*, 2008). قبل از انجام آزمایش، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی از جمله میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم نمونه خاک مورد استفاده تعیین شد (جدول ۱). در هر گلدان بذرهای ارقام هایولا ۴۰۱ و ساری گل به‌صورت جداگانه به تعداد ۲۰ عدد کشت و در مرحله جوانه‌زنی به تعداد سه گیاهچه تقلیل یافت. محلول نیترات مس در اوایل دوره رشد به‌صورت تدریجی به خاک اضافه گردید. در طول دوره رشد، رطوبت در حد ظرفیت مزرعه (۳۱/۶ درصد) به روش توزین حفظ شد. بوته‌های کلزا پس از رسیدگی فیزیولوژیکی برداشت و به‌منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های رشدی به آزمایشگاه منتقل و صفات: ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، تعداد غلاف در شاخه اصلی، تعداد غلاف در شاخه فرعی، طول غلاف در شاخه اصلی و طول غلاف در شاخه فرعی اندازه‌گیری شدند.

آزمون نرمال بودن داده‌ها به روش کولموگروف-اسمیرنوف با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) صورت گرفت. تجزیه واریانس استاندارد داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) جهت ارزیابی تأثیر مس و قارچ تریکودرما بر صفات مورد بررسی و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. منحنی‌ها نیز با نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

رقم ساری گل در تمامی سطوح نیترات مس به صورت افزایشی مشاهده شد (شکل ۱، الف). پژوهشی در این زمینه نشان داد آلودگی به کادمیم منجر به کاهش ارتفاع کلزا گردید که این کاهش با افزایش غلظت کادمیم در خاک افزایش یافت (Molla et al., 2012).

همچنین، در مطالعه‌ای دیگر در گیاه کلزا کاربرد لجن فاضلاب به دلیل تجمع فلزات سنگین باعث کاهش ارتفاع گیاه شد (Ahmad et al., 2011).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کاربرد قارچ *تریکودرما* و سطوح مختلف نیترات مس بر ویژگی‌های رشدی دو رقم کلزا
Table 2- ANOVA (mean squares) for the effect of *Trichoderma* and different levels of copper nitrate on the growth characteristics of two cultivars of rapeseed

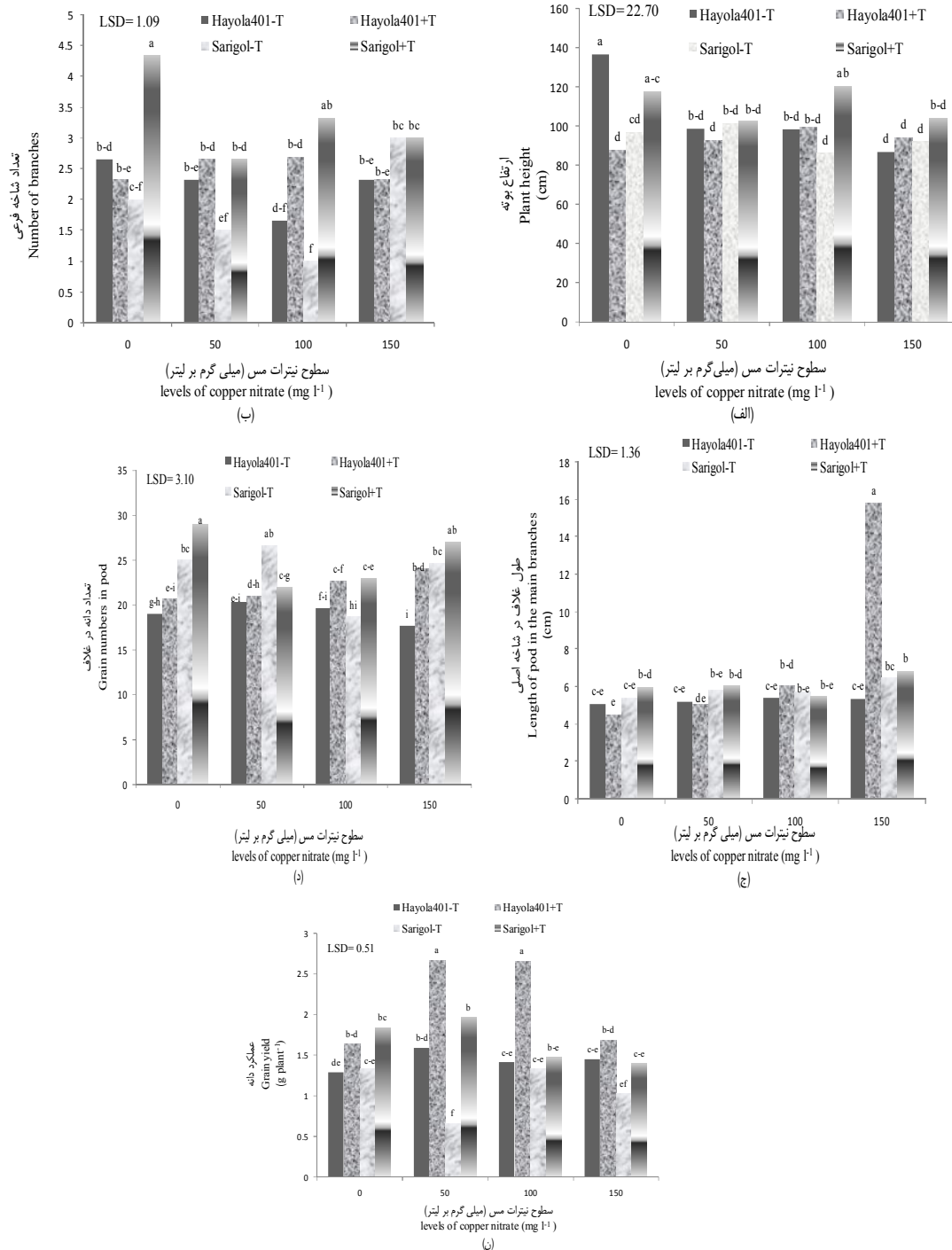
منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی df	عملکرد دانه Grain yield	تعداد دانه در غلاف Grain numbers in pod	طول غلاف در شاخه اصلی Length of pod in the main branches	تعداد شاخه فرعی Number of branches	ارتفاع بوته Plant height
رقم Cultivar (A)	1	2.134**	180.188**	4.02*	0.13 ^{ns}	130.84 ^{ns}
تریکودرما <i>Trichoderma</i> (B)	1	5.187**	58.521**	23.66**	11.50**	86.00 ^{ns}
نیترات مس Copper nitrate (C)	1	0.307*	15.076*	29.57**	1.71*	505.85 ^{ns}
A×B	3	0.067 ^{ns}	6.021 ^{ns}	16.52**	2.75*	2483.2 ^{ns}
A×C	3	0.496**	29.854**	15.63**	0.60 ^{ns}	102.50 ^{ns}
B×C	3	0.469**	24.743**	21.40**	0.75 ^{ns}	588.61*
A×B×C	3	0.313*	10.91*	20.16**	1.72*	692.63*
خطای آزمایش Error	32	0.096	3.479	0.675	0.432	186.25
ضریب تغییرات CV (%)	—	19.46	8.26	13.09	25.76	13.52

ns عدم معنی‌داری، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد
ns: Non-significant, *and**; Significant at 1% and 5% level of probability, respectively

ادامه جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کاربرد قارچ *تریکودرما* و سطوح مختلف نیترات مس بر ویژگی‌های رشدی دو رقم کلزا
Continued table 2- ANOVA (mean squares) for the effect of *Trichoderma* and different levels of copper nitrate on the growth characteristics of two cultivars of rapeseed

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی df	تعداد غلاف در شاخه اصلی Pod number in main branches	طول غلاف در شاخه فرعی Length of pod in the branches	تعداد غلاف در شاخه فرعی Pod numbers in branches	وزن هزار دانه 1000 grain weight
رقم Cultivar (A)	1	48.00 ^{ns}	3.23 ^{ns}	133.33 ^{ns}	0.010 ^{ns}
تریکودرما <i>Trichoderma</i> (B)	1	102.08 ^{ns}	3.91*	3605.33**	0.208 ^{ns}
نیترات مس Copper nitrate (C)	1	156.02*	0.30 ^{ns}	152.58**	1.805**
A×B	3	75.00 ^{ns}	0.04 ^{ns}	396.75**	0.156 ^{ns}
A×C	3	145.05*	2.50 ^{ns}	38.38 ^{ns}	0.226 ^{ns}
B×C	3	72.91 ^{ns}	4.18**	141.5*	0.265 ^{ns}
A×B×C	3	43.16 ^{ns}	2.19 ^{ns}	41.47 ^{ns}	0.224 ^{ns}
خطای آزمایش Error	32	44.79	0.932	32.77	0.173
ضریب تغییرات CV (%)	—	22.91	20.01	25.68	14.95

ns عدم معنی‌داری، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد
ns: Non-significant, *and**; Significant at 1% and 5% level of probability, respectively



شکل ۱- برهم کنش تریکودرما و نیترات مس بر (الف) ارتفاع بوته (ب) تعداد شاخه فرعی (ج) طول غلاف در شاخه اصلی (د) تعداد دانه در غلاف و عملکرد دانه (ن)

Figure 1- Interaction between of *T. atroviride* and copper nitrate on (a) plant height (b) number of branches (c) length of pod in the main branches (d) number of seed in pod and (n) grain yield

در هر شکل، حرف یا حروف مشابه دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) نمی باشند.

In each figure, the same letter or letters show non-significant difference ($P < 0.05$)

نسبت به عدم حضور *تری‌کودرما* به ترتیب از افزایش ۶۸ و ۸۸ درصدی برخوردار بودند. یکی از دلایل بهبود رشد و عملکرد گیاه در حضور قارچ *تری‌کودرما هارزینانوم* افزایش سطح ریشه و بهبود جذب عناصر معدنی قابل دسترس گیاه به ویژه در محدودیت مواد معدنی محیط خاک گزارش شده است (Bal and Altintas, 2008). در این زمینه، گزارشاتی مبنی بر بهبود جذب عناصر کم‌مصرف، گلدهی زودتر و عملکرد بیشتر گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) و برنج (*Oryza sativa*) با کاربرد گونه‌ی سودوکاینجی (Cuevas, 2006) و افزایش عملکرد گیاهانی همچون خیار، توت‌فرنگی، فلفل و پنبه با کاربرد گونه‌ی *هارزینانوم* ارائه شد (Bal and Altintas, 2008).

اثر ساده سطوح مختلف نیترات مس بر وزن هزار دانه

شکل ۲، وزن هزار دانه را در سطوح مختلف نیترات مس نشان می‌دهد. بر این اساس، بین سطوح مختلف نیترات مس اختلاف معنی‌داری مشاهده شد به طوری که با افزایش سطوح آلودگی، وزن هزار دانه کاهش یافت. بیشترین وزن هزار دانه در دو تیمار شاهد و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس مشاهده شد. کاهش حدود ۲۳ و ۲۴ درصدی این صفت در دو تیمار ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس را نسبت به شاهد (شکل ۲) می‌توان به نقش منفی عنصر مس در غلظت‌های بالا به عنوان عنصر سنگین در جذب عناصر غذایی و انتقال آن‌ها به سلول‌های گیاه نسبت داد که سبب کاهش رشد و فتوسنتز گیاه شده است. در نتیجه در مرحله‌ی پر شدن دانه، شیره‌ی پرورده کمتری به دانه‌ها انتقال داده شده و دانه‌های کوچک با وزن کمتری تولید شد (Taghavi Ghasemkheyli et al., 2015).

برهم‌کنش قارچ و سطوح مختلف نیترات مس بر تعداد

غلاف شاخه فرعی و طول غلاف در شاخه فرعی

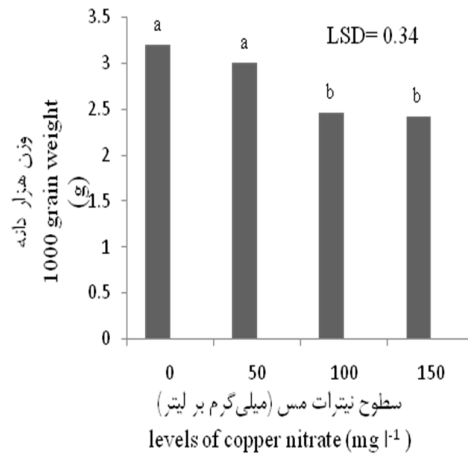
بر اساس مقایسه میانگین در تمامی تیمارهای آلودگی به نیترات مس، تعداد غلاف در شاخه فرعی در تیمار کاربرد *تری‌کودرما* بیشتر از تیمار عدم کاربرد بود اما با افزایش غلظت مس در محیط چه در حضور *تری‌کودرما* و چه در عدم حضور آن این صفت کاهش یافت (شکل ۳، الف). بیشترین تعداد غلاف شاخه فرعی مربوط به تیمار حضور *تری‌کودرما* و سطح ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس (افزایش حدود ۱/۳ برابری نسبت به عدم حضور *تری‌کودرما*) است که با سطح بدون آلودگی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشته است. در همین راستا، مطالعه‌ی نشان داد که همزیستی با ریزجانداران مفید خاکزی موجب کاهش اثرات زیانبار عناصر سنگین بر ویژگی‌های رشدی گیاه کلزا و افزایش تعداد غلاف گردید (Cao et al., 2008).

همانطور که در شکل ۱-ب نشان داده شد تعداد شاخه فرعی در تیمار کاربرد *T. atroviride* به طور معنی‌داری نسبت به عدم کاربرد *تری‌کودرما* واکنش نشان داد. در رقم هایولا ۴۰۱ در تمامی سطوح آلودگی به نیترات مس، افزایش تعداد شاخه فرعی در تیمار حضور *تری‌کودرما* نسبت به عدم حضور آن مشاهده شد. همچنین در رقم ساری گل، تعداد شاخه فرعی در تیمار کاربرد *T. atroviride* به طور معنی‌داری نسبت به عدم کاربرد *تری‌کودرما* با افزایش سطوح نیترات مس افزایش یافت (شکل ۱، ب). بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده در این تیمارها، بیشترین تعداد شاخه فرعی در سطوح آلوده به نیترات مس، در هر دو رقم در تیمار کاربرد *تری‌کودرما* مشاهده شد. بالاترین تعداد شاخه فرعی در رقم ساری گل (۸۵ درصد افزایش نسبت به رقم هایولا ۴۰۱) نیز با کاربرد قارچ *تری‌کودرما* و سطح بدون آلودگی مشاهده شد.

همانطور که در شکل ۱-ج مشاهده می‌شود، روند تغییرات طول غلاف در شاخه اصلی در برابر سطوح مختلف نیترات مس در هر دو رقم مورد مطالعه در تیمار کاربرد *تری‌کودرما* نسبت به عدم کاربرد قارچ از یک روند افزایشی برخوردار بود. با توجه به شکل ۱-ج، حداکثر طول غلاف در شاخه اصلی (با میانگین ۱۵/۸ سانتی‌متر) در تیمار کاربرد *تری‌کودرما* و در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس مشاهده شد. با این وجود، این مقدار نسبت به رقم ساری گل حدود ۱/۳ برابر افزایش نشان داد.

در این پژوهش تعداد دانه در غلاف از ۱۷ تا ۲۴ و ۱۸ تا ۲۹ عدد (به ترتیب برای رقم هایولا ۴۰۱ و ساری گل) متغیر بود (شکل ۱، د). بر اساس مقایسه میانگین (شکل ۱، د) در رقم هایولا در تمامی سطوح نیترات مس، کاربرد *تری‌کودرما* موجب افزایش معنی‌دار تعداد دانه در غلاف نسبت به عدم کاربرد قارچ شد. به طوری که این صفت در سطح ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس از افزایش حدود ۱۵ و ۳۶ درصدی برخوردار بود. همچنین در رقم ساری گل در سطوح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس، کاربرد *تری‌کودرما* به طور معنی‌داری (۲۳ درصد نسبت به عدم کاربرد *تری‌کودرما*) تعداد دانه در غلاف را افزایش داد (شکل ۱، د). نتایج این آزمایش نشان داد در سطوح صفر و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس، کاربرد *تری‌کودرما* در افزایش تعداد دانه در غلاف در رقم ساری گل نسبت به رقم هایولا ۴۰۱ واکنش بهتری نشان داد اما در سطوح بالاتر آلودگی از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین دو رقم در زمان کاربرد *تری‌کودرما* مشاهده نشد.

با توجه به نتایج به دست آمده (شکل ۱، ن) در هر دو رقم مورد بررسی در تمامی سطوح آلودگی به نیترات مس، حضور *تری‌کودرما* موجب افزایش عملکرد دانه شد. به طوری که بهترین تیمار از لحاظ صفت عملکرد دانه در حضور *تری‌کودرما* در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس در رقم هایولا ۴۰۱ مشاهده شد که



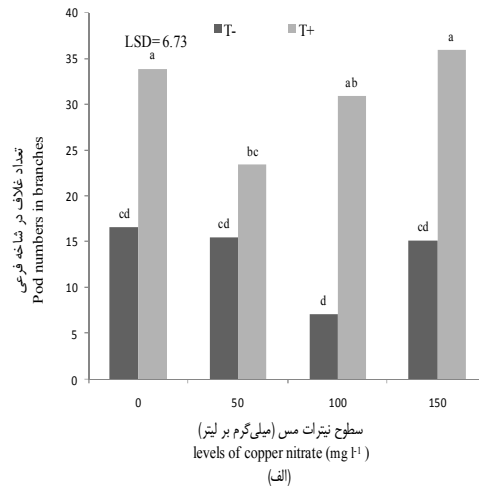
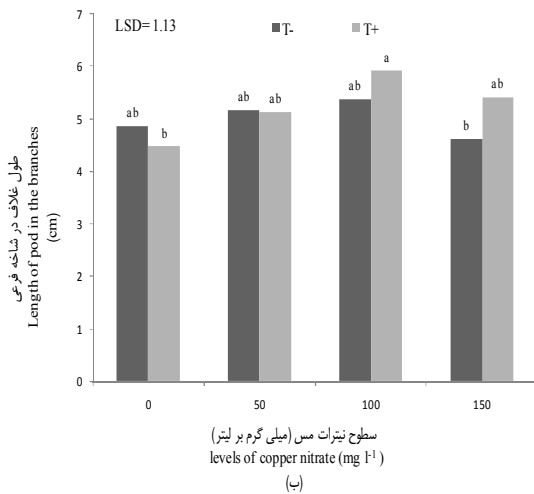
شکل ۲- اثر ساده نیترات مس بر وزن هزار دانه

Figure 2- The effect of different levels of copper nitrate on 1000 grain weight

حرف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشند.
The same letter shows non-significant difference ($P < 0.05$)

بود که در سطوح صفر و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس، حضور تریکودرما موجب افزایش این صفت نسبت به تیمار عدم حضور قارچ گردد لذا افزایش تعداد غلاف در شاخه فرعی تحت تیمار تریکودرما در این سطوح آلودگی (شکل ۳، الف) می‌تواند دلیلی بر کاهش طول غلاف در سطوح صفر و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس باشد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده همزیستی تریکودرما در سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات مس نسبت به عدم حضور تریکودرما باعث افزایش ۱۰ و ۱۷ درصدی طول غلاف در شاخه فرعی شده است (شکل ۳، ب) این نتیجه نشان‌دهنده تأثیر مثبت این قارچ در بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه می‌باشد. اگرچه انتظار بر این



شکل ۳- اثر متقابل تریکودرما و نیترات مس بر (الف) تعداد غلاف در شاخه فرعی (ب) طول غلاف در شاخه فرعی

Figure 3- Interaction between of *T. atroviride* and copper nitrate on (a) number of pod in branches (b) length of pod in the branches

در هر شکل، حرف یا حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشند.
In each figure, the same letter or letters shows non-significant difference ($P < 0.05$)

با افزایش قابلیت دسترسی عناصر، افزایش سطح تماس ریشه با خاک

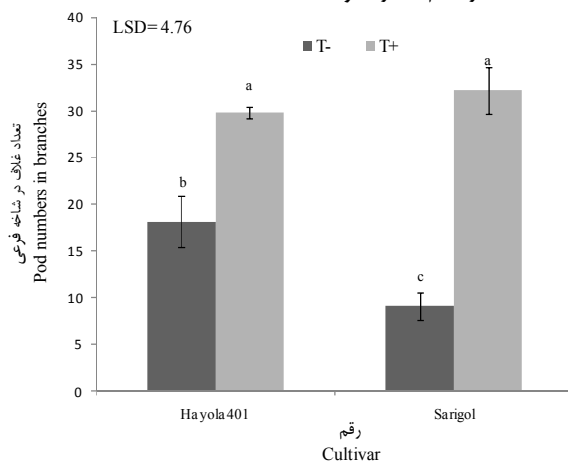
بنابراین، به‌نظر می‌رسد که ریزجاندارانی همچون قارچ تریکودرما

پرمصرف قابل جذب بیشتری را در اختیار این گیاهان قرار داده و از این طریق موجب بهتر شدن ویژگی‌های رشدی آن‌ها می‌شود (Cuevas, 2006).

برهم‌کنش رقم و قارچ تریکودرما بر تعداد غلاف در شاخه فرعی

براساس یافته‌ها تعداد غلاف در شاخه فرعی، در هر دو رقم مورد بررسی در حضور قارچ تریکودرما نسبت به عدم حضور آن از میزان بالاتری برخوردار بود به طوری که تعداد غلاف در شاخه فرعی رقم هایولا ۴۰۱ در حضور تریکودرما حدود ۶۴ درصد بیشتر بود در حالی که در رقم ساری گل باعث افزایش حدود ۲/۵ برابری شد (شکل ۴).

و ظرفیت جذب مواد غذایی توسط گیاه موجب بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه در مواجهه با تنش فلزات سنگین می‌شود (Abouzina et al., 2013). کائو و همکاران بیان داشتند تلقیح گیاه خردل (*Brassica juncea*) با گونه‌ی آتروویریدی در خاک آلوده به کادمیم و نیکل تأثیری در بهبود رشد گیاه در خاک غیرآلوده نداشت اما سبب افزایش رشد گیاه در خاک آلوده شد (Cao et al., 2008). بال و آلتینتاس نیز بیان داشته‌اند حضور تریکودرما هارزینوم موجب بهبود رشد و عملکرد گیاه کاهو شد و دلیل آن را افزایش سطح تماس ریشه با خاک و بهبود جذب عناصر معدنی قابل‌دسترس گیاه به‌ویژه در محیط‌های دارای مواد معدنی محدود گزارش کردند (Bal and Altintas, 2008). همچنین در مطالعه‌ی ای در گیاه گوجه‌فرنگی و برنج استفاده از گونه‌ی سودوکاینجی در خاک، عناصر کم‌مصرف و



شکل ۴- اثر متقابل رقم و قارچ تریکودرما بر تعداد غلاف در شاخه فرعی دو رقم کلزا حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد براساس آزمون LSD است.

Figure 4- Interaction between of cultivar and *T. atroviride* on the number of pod in branches of two cultivars of Rapeseed

در هر شکل، حرف یا حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشند.

In each figure, the same letter or letters shows non-significant difference ($P < 0.05$)

همچنین، افزایش رشد گیاهانی همچون لوبیا، خیار، ذرت و کاهو با کاربرد تریکودرما گزارش شده است که می‌تواند به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه مانند اکسین باشد که در پژوهشی دلیل اصلی بهبود صفات رشدی گیاه کلزا عنوان شده است (Mazhabi et al., 2011).

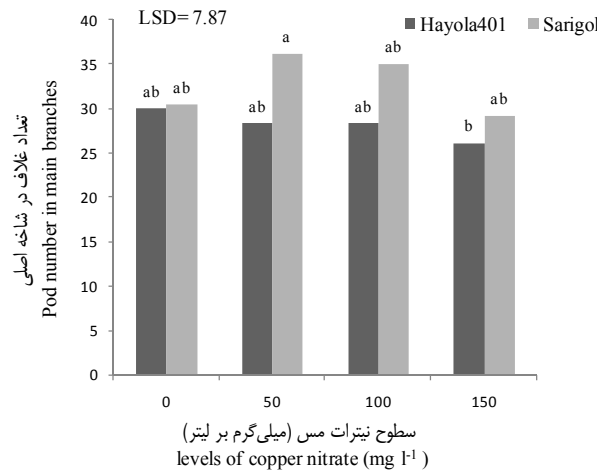
برهم‌کنش رقم و سطوح مختلف نیترات مس بر تعداد غلاف در شاخه اصلی

همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش آلاینده نیترات مس در تعداد غلاف در شاخه اصلی در رقم ساری گل همواره بیش از رقم هایولا ۴۰۱ بود. به طوری که این صفت در سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰

همانطور که در شکل ۳- الف مشاهده می‌شود تعداد غلاف شاخه فرعی در گیاهان همزیست شده در تمامی سطوح آلودگی به نیترات مس افزایش یافت. همچنین، با توجه به اثر معنی‌داری تریکودرما بر ارقام مورد بررسی، رقم ساری گل تحت تیمار تریکودرما نسبت به رقم هایولا از بیشترین تعداد غلاف شاخه فرعی برخوردار بود (داده‌ها نشان داده نشد). لذا این موضوع می‌تواند دلیلی بر تأیید اثر مثبت این قارچ بر تعداد غلاف شاخه فرعی در رقم ساری گل نسبت به رقم هایولا ۴۰۱ در شرایط آلودگی به نیترات مس باشد. در پژوهشی مشابه، افزایش تعداد غلاف گیاه کلزا در تلقیح با تریکودرما گزارش شد (Megawer and Mahfouz, 2010). در مطالعه‌ی دیگر در گیاه گوجه فرنگی حضور تریکودرما باعث بهبود صفات مورفولوژیکی مانند تعداد شاخه نسبت به گیاهان شاهد شد (Molla et al., 2012).

یک روند کاهشی برخوردار بود به طوری که کمترین تعداد غلاف در شاخه اصلی در تیمار ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر آلودگی به نیترات مس (با افت ۱۳ درصدی نسبت به شاهد) مشاهده شد.

میلی گرم بر لیتر نیترات مس در رقم ساری گل نسبت به رقم هایولا ۴۰۱ به ترتیب حدود ۲۹ و ۱۱ درصد افزایش نشان داد. تعداد غلاف در شاخه اصلی در رقم هایولا ۴۰۱ با افزایش سطوح نیترات مس از



شکل ۵- برهم کنش رقم و نیترات مس بر تعداد غلاف در شاخه اصلی

Figure 5- Interaction between of cultivar and copper nitrate on the number of pod in main branches

در هر شکل، حرف یا حروف مشابه دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) نمی باشند.

In each figure, the same letter or letters shows non-significant difference ($P < 0.05$)

بررسی باعث افزایش تعداد غلاف در شاخه فرعی شد. به گونه‌ای که در این پژوهش افزایش حدود ۱/۳ برابری تعداد غلاف شاخه فرعی در تیمار حضور تریکودرما و سطح ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر نیترات مس نسبت به عدم حضور تریکودرما مشاهده شد. این پژوهش نشان داد در هر دو رقم مورد بررسی در تمامی سطوح آلودگی به نیترات مس، حضور تریکودرما موجب افزایش عملکرد دانه شد. به طوری که رقم هایولا ۴۰۱ از لحاظ عملکرد دانه واکنش بهتری در همزیستی با قارچ نشان داد. در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نیترات مس، عملکرد دانه در رقم هایولا ۴۰۱ نسبت به رقم ساری گل تحت تیمار تریکودرما به ترتیب از افزایش ۳۵ و ۸۰ درصدی برخوردار بودند. هرچند وجود آلاینده مس در خاک منجر به کاهش ویژگی‌های رشدی گردید. در این پژوهش وزن هزار دانه با افزایش غلظت نیترات مس کاهش یافت. با این وجود، همزیستی قارچ مذکور در هر دو رقم کلزا توانست تا حدود زیادی اثر زیانبار سطوح بالای آلاینده مس در خاک را جبران نماید. این اثر در رقم ساری گل در برخی صفات همچون تعداد شاخه فرعی، تعداد دانه در غلاف بهتر از رقم هایولا ۴۰۱ بود. در حالی که حضور تریکودرما در بهبود صفاتی همچون طول غلاف شاخه اصلی و عملکرد دانه در رقم هایولا ۴۰۱ نسبت به رقم ساری گل نقش داشت. در مجموع به نظر می‌رسد قارچ *T. atroviride* در صورت وجود مقادیر بالای عنصر مس می‌تواند موجب بهبود کارایی تولید گیاه کلزا گردد. به طوری که در حضور آلاینده مس، عملکرد دانه رقم هایولا

کاهش ویژگی‌های رشدی کلزا در اثر کاربرد فلزات سنگین در مقادیر بالا (سمی) در پژوهش‌های بسیاری بیان گردیده است (Przedpelska and Wierzbica, 2007; Ahmad *et al.*, 2011;) (Ghani, 2010; Heshmatpure and Yousefi Rad, 2012) در حالی که محمود و همکاران بیان داشتند که پاسخ گونه‌ها و ارقام مختلف گیاه در برابر سمیت فلزات سنگین می‌تواند بسیار متفاوت باشد (Mahmood *et al.*, 2005). پژوهشی در این زمینه نشان داد که کلزا به عنوان یک گیاه بیش‌اندوز فلزات سنگین عمل می‌کند. به طوری که با افزودن فلزات سنگینی همچون مس، کادمیم، نیکل، روی، سرب و کروم به محیط رشد گیاه هیچ کاهشی در ویژگی‌های رشدی آن مشاهده نگردید (Abouzina *et al.*, 2013).

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، دو رقم کلزا پاسخ متفاوتی به همزیستی قارچ تریکودرما آتروویریدی در برابر افزایش غلظت نیترات مس در خاک نشان دادند. به طوری که افزایش تعداد شاخه فرعی و دانه در غلاف در رقم ساری گل نسبت به رقم هایولا، در حضور تریکودرما در تمامی سطوح آلودگی به نیترات مس مشاهده شد. همچنین تعداد غلاف در شاخه فرعی واکنش مطلوبی به حضور تریکودرما نشان داد. همزیستی با تریکودرما در هر دو رقم مورد

۴۰۱ واکنش بهتری با *T. atroviride* نسبت به رقم ساری گل نشان
داد. با این وجود شناخت دقیق مکانیسم تأثیر آن نیازمند پژوهش‌های
بیشتری است.

References

1. Abouzina, H. F., Saber, M., Hoballah, E., El-Ashry, S., and Zaghoul, A. M. 2013. Yield attributes and oil safety in the hyperaccumulator canola plant grown in a bioremediated sewage soil. *Journal of Agricultural Science and Technology* 3 (A): 1010-1016.
2. Aghel, H., and Zoghi, M. 2009. Evaluation of the main barriers for extension of rapeseed production in Khorasan province. *Iranian Journal of Field Crops Research* 7 (2): 505-514. (in Persian with English abstract).
3. Ahmad, K., Ejaz, A., Azam, M., Iqbal Khan, Z., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., Fardous, A., Gondal, S., Bayat, A. R., and Elahi Valeem, E. 2011. Lead, cadmium and chromium contents of canola irrigated with sewage water. *Pakistan Journal of Botany* 43 (2): 1403-1410.
4. Anand, P., Isar, J., Saran, S., and Saxena, R. K. 2006. Bioaccumulation of copper by *Trichoderma viride*. *Bioresource Technology* 97: 1018-1025.
5. Avis, T. J., Grave, V., Antoun, H., and Russe Tweddell, J. 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1733-1740.
6. Bal, U., and Altintas, S. 2008. Effect of *Trichoderma harzianum* on lettuce in protected cultivation. *Journal of Central European Agriculture* 9 (1): 63-70.
7. Bennett, A. J., and Whipps, J. M. 2008. Beneficial microorganism survival on seed, roots and in rhizosphere soil following application to seed during drum priming. *Biological Control* 44: 349-361.
8. Cao, L., Jiang, M., Zeng, Z., Du, A., Tan, H., and Liu, Y. 2008. *Trichoderma atroviride* F6 improve phytoextraction efficiency of mustard [*Brassica juncea* (L.) Coss. Var. *foliosa* Bailey] in Cd, Ni contaminated soils. *Chemosphere* 71: 1769-1773.
9. Cuevas, C. 2006. Soil inoculation with *Trichoderma pseudokoningii* rifai enhances yield of rice. *Philippine Journal of Science* 135 (1): 31-37.
10. Estudio, Y., and Gestion, A. 2010. *Trichoderma* spp. and its potential in soil bioremediation. European Commission Publish.
11. Etesami, H., Alikhani, H.A., and Saleh Rastin, N. 2007. Growth chamber assessment of superior IAA producing rhizobial strains and the effect of Ag and tryptophan treatments on wheat growth indices. *Pajouhesh and Sazandegi* 74: 16-23. (in Persian with English abstract).
12. Fathi, Gh., and Gholizade, E. 2010. Effects of drought stress during growth on seed and oil yields of rapeseed cultivars. *Crop Physiology Journal* 2 (8): 97-114. (In Persian).
13. Ghani, A. 2010. Effect of cadmium toxicity on the growth and yield components of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *World Applied Sciences Journal* 8: 26-29.
14. Hashim, M. A., Mukhopadhyay, S., Narayan Sahu, J., and Sengupta, B. J. 2011. Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. *Journal of Environmental Management* 92: 2355-2388.
15. Harender, R., and Sharma, S. D. 2009. Integration of soil solarization and chemical sterilization with beneficial microorganisms for the control of white root rot and growth of nursery apple. *Scientia Horticulturae* 119: 126-131.
16. Hegazi, A. A., and El-Kay, A. F. Y. 2010. Effect of road dust on vegetative characters and leaves heavy metal contents of *Zizyphus spina-christi* (L.) Wild, *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Olea europaea* L. seedlings. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants* 2 (3): 98-107.
17. Heshmatpure, N., and Yousefi Rad, M. 2012. The effect of PGPR (Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria) on phytoremediation of cadmiums by canola (*Brassica napus* L.) cultivars of Hyola 401. *Annals of Biological Research* 3 (12):5624-563.
18. Kaewchai, S., Soyong, K., and Hyde, K. D. 2009. Mycofungicides and fungal biofertilizers. *Fungal Divers* 25-50.
19. Kavamura, V., and Esposito, E. 2010. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. *Biotechnology Advances* 24: 61-69.
20. Khosravi, F., Savaghebi Firoozabadi, G.H., and Farahbakhsh, H. 2009. The effect of potassium chloride on cadmium uptake by canola and sunflower in a polluted soil. *Journal of Water and Soil* 23 (3): 28-35. (In Persian).
21. Mahmood, S., Hussain, A., Saeed, Z., and Athar, M. 2005. Germination and seedling growth of corn (*Zea mays* L.) under varying levels of copper and zinc. *International Journal of Environment Science and Technology* 2 (3): 269-274.
22. Mazhabi, M., Nemati, H., Rouhani, H., Tehranifar, A., Mahdikhani-Moghadam, E., and Kave, H. 2011. How may *Trichoderma* application affect vegetative and qualitative traits in tulip "darwin hybride" cultivar. *Journal of Biological and Environmental Sciences* 5 (15): 177-182.
23. Megawer, E. A., and Mahfouz, S. A. 2010. Response of canola (*Brassica napus* L.) to biofertilizers under Egyptian conditions in newly reclaimed soil. *International Journal of Agriculture Science* 2 (1): 12-17.

24. Molla, A. H., Haque, M., Haque, A., and Ilias, G. N. M. 2012. Trichoderma-enriched biofertilizer enhances production and nutritional quality of tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.*) and minimizes NPK fertilizer use. *Agricultural Research* 1 (3): 265-272.
25. Moosavi, S. Gh., and Seghatoleslami, M. J. 2013. Phytoremediation: A review. *Advance in Agriculture and Biology* 1: 5-11.
26. Naeemi, M., Akbari, Gh. A., Shirani Rad, A. H., Modares Sanavi, S. A. M., Sadat Nuri, S. A., and Jabari, H. 2008. Evaluation of drought tolerance in different canola cultivars based on stress evaluation indices in terminal growth duration. *Crop Production* 1 (3): 83-98. (in Persian with English abstract).
27. Parsadoost, F., Bahreini Nejad, B., SafariSanjani, A. K., and Kaboli, M. M. 2007. Phytoremediation of lead with native rangeland plants in Irankoh polluted soils. *Pajouhesh and Sazandegi* 75: 54-63. (in Persian).
28. Przedpelska, E., and Wierzbiica, M. 2007. *Arabidopsis arenosa* (Brassicaceae) from a lead-zinc waste heap in southern Poland – a plant with high tolerance to heavy metals. *Plant Soil* 299: 43-53.
29. Sadat, A., Savaghebi, Gh., Rejali, F., Farahbakhsh, M., Khavazi, K., and Shirmardi, M. 2010. Effects of some arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth Promoting Rhizobacteria on the growth and yield indices of two wheat varieties in a saline soil. *Journal of Water and Soil* 24 (1): 53-62. (in Persian with English abstract).
30. Sadhasivam, S., Savitha, S., and Swaminathan, K. 2007. Exploitation of *Trichoderma harzianum* mycelial waste for the removal of rhodamine 6G from aqueous solution. *Journal of Environmental Management* 85: 155-161.
31. Safahani Langerodi, A., Aynehband, A., Zand, E., Nour-mohammadi, Gh., Baghestani, M. A., and Kamkar, B. 2008. Evaluation of competitive ability in some canola (*Brassica napus*) cultivars with wild mustard (*Sinapis arvensis*) and relationship with canopy structure. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 15 (2): 86-98. (in Persian with English abstract).
32. Sun, Y. M., Horng, C. Y., Chang, F. L., Cheng, L. C., and Tian, W. X. 2010. Biosorption of lead, mercury and cadmium ions by *Aspergillus terreus* immobilized in a natural matrix. *Polish Journal of Microbiology* 59 (1): 37-44.
33. Taghavi Ghasemkheyli, F., Pirdashti, H., Bahmanyar, M. A., and Tajick Ghanbary, M. A. 2015. The Effect of *Trichoderma harzianum* and cadmium on tolerance index and yield of barley (*Hordeum vulgare L.*). *Journal of Crop Ecophysiology* 8 (4): 465-482. (in Persian with English abstract).
34. Vafadar, M., and Zare Maivan, H. 2006. The comparison of the role of some herbaceous plants in absorption of some heavy metals: Case study in Ramsar forest region. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 13 (4): 142-150. (in Persian with English abstract).
35. Vankar, P. S., and Bajpai, D. 2008. Phyto-remediation of chrome-VI of tannery effluent by *Trichoderma* species. *Desalination* 222: 255-262.
36. Wang, M., and Zhou, Q. 2005. Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and copper acting on wheat *Triticum aestivum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 169-175.
37. Wang, B., Liu, L., Gao, Y., and Chen, J. 2009. Improved phytoremediation of oilseed rape (*Brassica napus*) by *Trichoderma* mutant constructed by restriction enzyme-mediated integration (REMI) in cadmium polluted soil. *Chemosphere* 74: 1400-1403.
38. Yazdani, M., Pirdashti, H., Tajik, M. A., Bahmanyar, M. A. 2008. Effect of *Trichoderma* spp. and different organic manures on growth and development in soybean [*Glycine max* (L.) Merril.]. *Electronical Journal of Crop Production* 1 (3): 65-82. (in Persian with English abstract).



Symbiotic Effect of *Trichoderma atroviride* on Growth Characteristics and Yield of two Cultivars of Rapeseed (*Brassica napus* L.) in a Contaminated Soil Treated with Copper Nitrate

E. TashakoriFard¹- F. Taghavi Ghasemkheyli²- H. Pirdashti^{3*}- M. A. Tajick Ghanbary⁴- M. A. Bahmanyar⁵

Received: 24-09-2014

Accepted: 06-04-2016

Introduction

Accumulation of heavy metals in agricultural soils can be a threat to crop production due to plant toxicity. In the recent years, hyperaccumulator plants are cultivated to cleaning up the soils which contaminated with pollutants especially heavy metals. However, the biomass of these plants is low and metal specific. Many studies have shown that microorganisms can be used to significantly reduce the toxicity of heavy metals. Therefore, the present study aimed to determine the role of *Trichoderma atroviride* on the growth characteristics of tow cultivars of rapeseed in different levels on copper.

Materials and Methods

In this study, a pot experiment was conducted in factorial arrangement based completely randomized design with three replicates. Treatment were *T. atroviride* fungi at two levels of inoculated and non-inoculated plants, four levels of copper nitrate including 0, 50, 100 and 150 mg l⁻¹ and two cultivars of rapeseed consist of Hayola 401 and Sarigol. *Trichoderma atroviride* was prepared from Mycology Lab of Sari Agricultural Science and Natural Resource University. PDA medium (potato extract, dextrose and agar) was kept for a week at 25°C to propagation of fungal strain. The used medium was previously sterilized in autoclave for 30 minutes. So, this fungus propagated in Wheat's bran for five days. Healthy and uniform seeds of rapeseeds were separated from rogues and infertile ones. Seeds disinfected in hypochlorite sodium 0.5% for five minute and then washed with distilled water three times. After preparing fungus spore suspension of 10⁸ CFU per ml water, 50 g wheat bran mixed to the soil of each pot. Twenty sterilized seeds sown in 2 cm of soil depth in 25×30 cm pot with 10 kg capacity. Copper nitrate was used to pollute treated soil. During this experiment did not used any pesticides and herbicides and all weed controlled manually. Some growth and yield related parameters such as plant height, number of secondary branches, pod number and length of primary and secondary branches, were determined. All statistical analysis were performed using SAS software (version 9.1) and mean comparisons were made by the least significant difference (LSD) test ($P < 0.05$).

Results and Discussion

Results showed that increasing copper content in growth medium markedly decreased pod number in main branches in Hayola 401 while in Sarigol the maximum pod number was recorded at the 50 mg l⁻¹ of copper nitrate. The presence of the *Trichoderma*, however, increased pod number in branches. Sarigol resulted more pod numbers in branches than Hayola 401 (2.5 times vs. 64%). Also, the maximum pod numbers in branches (about 1.3 fold as compared to the uninoculated control) were observed in *Trichoderma* inoculated plants which received 100 mg/L of copper nitrate. The maximum plant height in Hayola 401 and Sarigol (0 and 100 mg l⁻¹ of copper nitrate, respectively) recorded when those plants inoculated with *Trichoderma*. The presence of the *Trichoderma* in the growth medium significantly improved the pod length of in main branches in Hayola 401

1- Ph.D. Student of Agronomy, University of Guilan

2- Ph.D. Student of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Member of Young Researchers Club in Islamic Azad University, Sari Branch

3- Associate Professor, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

4- Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

5- Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

(* - Corresponding Author Email: h.pirdashti@sanru.ac.ir)

rather than Sarigol.

Conclusions

Many researches showed that rapeseed is a hyperaccumulatore plant for heavy metals such as copper, cadmium, nickel, zinc and lead. On the other hand, many researchers confirmed that soil beneficial microorganisms such as *Trichoderma* spp. could improve the growth and yield attributes of plant especially in polluted soil. In conclusion, inoculation of rapeseed plants with *Trichoderma* could enhance the growth characteristics of rapeseed particularly under high levels of copper in the soil. Sarigol, however, respond better than Hayola 401 in terms of yield and yield components. Since, important aspect of bioremediation is inhibition of pollutants passes through a food chain, thus, coexistence of beneficial microorganisms that capable to transform contaminants into nontoxic products are very important.

Keywords: Contamination, Grain yield, Heavy metals, *Trichoderma*