فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۲، شماره ۵۴، خرداد و تیرماه ۱۴۰۲ صفحه: ۲۱۹-۲۳۷

مقاله پژوهشی

اثر کاربرد قارچ تریکودرما و انواع بیوچار بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه اسپرس رشدیافته در خاک حاوی فلزات سنگین

محمدرضا اصغری[۱]، سعید خماری[۱*] و مهدی داوری[۲]

[۱]گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

[۲] گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۱/۳۱، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۹/۱۲)

چکیده

افزودن بیوچار تنها یا توأم با تلقیح میکروبی به عنوان یک اصلاح‌کننده خاک به کاهش سمیت فلزات سنگین در خاک‌های زراعی آلوده کمک می‌کند. از طرف دیگر، برهمکنش تلقیح با میکروارگانیسم‌ها و کاربرد بیوچار بر جذب عناصر سرب و روی و رشد و عملکرد گیاه تا حدی نامشخص است. هدف از آزمایش گلخانه‌ای حاضر، ارزیابی اثرات کاربرد انواع بیوچار (حاصل از پوسته بادام زمینی و تفاله هویج) و سوسپانسیون کنیدیایی قارچ تریکودرما (*Trichoderma harzianum* Rifai-T22) بر رشد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک گیاهچه‌های اسپرس رشدیافته در خاک آلوده به فلزات سنگین سرب و روی بود. کاربرد انواع بیوچار و قارچ تریکودرما باعث بهبود برخی از خصوصیات مورفولوژیک گیاهچه‌های اسپرس نظیر طول ریشه، ارتفاع بوته و وزن خشک اندام هوایی گردید. همچنین هم‌افزایی این تیمارها باعث افزایش محتوای پروتئین کل برگ، قند محلول ریشه و برگ، فلاونوئید کل ریشه و برگ، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و نیز سرعت سبزشدن گیاهچه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد (عدم استفاده از بیوچار و قارچ) شد. به‌طورکلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که کاربرد بیوچار و قارچ تریکودرما در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین از طریق بهبود برخی شاخص‌های فیزیولوژیک در برگ، افزایش رشد ریشه، مقابله با آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو و در نتیجه بهبود احتمالی جذب آب باعث بهبود رشد گیاهچه‌های اسپرس گردید.

کلمات کلیدی: تریکودرما هارزیانوم، تنش اکسیداتیو، رشد، سرب و روی، فتوسنتز

مقدمه

امروزه آلوده شدن خاک با فلزات سنگین یکی از مشکلات عمده پیش‌رو در سیستم‌های کشاورزی است. استفاده بی‌رویه و نامعقول از کودهای شیمیایی، ورود پساب‌های ناشی از فاضلاب‌های شهری و صنعتی و نیز ورود لجن حاصل از تصفیه‌خانه‌های معادن که حاوی کانی‌های معدنی است از جمله منابع عمده آلودگی خاک‌های کشاورزی به فلزات سنگین است، که این امر علاوه بر آسیب‌های جدی زیست محیطی، بر سلامت افراد جامعه و نیز کمیت و کیفیت محصولات زراعی اثر منفی می‌گذارد (Vardhan *et al*., 2019; Vareda *et al*., 2019). اکثر فلزات سنگین به صورت شیمیایی یا زیستی تجزیه نمی‌شوند، از این‌رو قابلیت ماندگاری بالاتری نسبت به آلاینده‌های آلی در خاک دارند. از طرف دیگر روش‌های مختلفی برای کاهش غلظت و تحرک فلزات سنگین

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: saeid.khomari@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

در خاک‌ها وجود دارد، که به عنوان رهیافتی مؤثر و کارآمد در راستای مقابله با آلودگی‌های زیست محیطی در نظر گرفته می‌شود (Khodaverdiloo and Hamzenejad Taghlidabad, 2011). امروزه روش‌های متعددی برای کنترل و پاکسازی فلزات سنگین در خاک‌های آلوده به آنها وجود دارد، اما انتخاب روشی مناسب، ارزان قیمت، نسبتاً سریع و سازگار با محیط زیست دارای اهمیت بسزایی است. به عنوان مثال استفاده از بیوچار (Biochar) در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین یک روش مناسب و مقرون به صرفه است. بیوچار یا زغال زیستی یک ماده آلی با گروه‌های عاملی فراوان و خصوصیات جذبی مناسبی است که از طریق فرآیند گرما کافت (Pyrolysis) و با استفاده از انواع زیست توده نظیر برگ، چوب، کاه و کلش، کودها در شرایط بی‌هوازی یا حضور اکسیژن با غلظت پایین تولید می‌شود. این ماده از طریق غیرمتحرک‌سازی و کاهش فراهمی زیستی فلزات سنگین باعث کنترل و پاکسازی این عناصر در خاک‌های آلوده به آنها می‌گردد و از این طریق باعث بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک می‌شود (Xu *et al*. 2018; Dianat Maharluei *et al*., 2018). در حقیقت بیوچار یک ماده کربنی متخلخل با خصوصیات ویژه است و به منظور بهبود حاصلخیزی خاک و تثبیت آلاینده‌های موجود در خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sohi *et al*., 2010). این ترکیب شیمیایی به دلیل ظرفیت تبادل کاتیونی مناسب و سطح ویژه بالا، به عنوان یک جذب‌کننده ارزان قیمت برای حذف آلاینده‌های شیمیایی و آلی در خاک‌های آلوده معرفی شد (Ahmad *et al*., 2014). Verheijen و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که کربن بیوچار بسیار پایدار است و افزودن این ماده در خاک می‌تواند به عنوان مخزن بالقوه کربن در خاک عمل نماید. Paranavithana و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که افزودن بیوچار پوست نارگیل به خاک باعث افزایش جذب فلزات سنگینی مانند کادمیوم و سرب می‌شود. همچنین نتایج آزمایشات نشان داد که استفاده از بیوچار بادام‌زمینی منجر به افزایش جذب سطحی کادمیوم به میزان صفر، ۲ و ۵ درصد در خاک گردید (Xu *et al*., 2017). طبق پژوهش غلامی و همکاران (Gholami and Rahim, 2020) بیوچار تفاله هویج باعث اصلاح خاک‌های اسیدی و افزایش جذب سطحی فلزات سنگینی نظیر سرب و کادمیوم در خاک می‌شود.

یکی دیگر از روش‌های مناسب برای حذف آلاینده‌های زیست محیطی، استفاده از زیست‌پالایی است. این روش به معنی استفاده از ریزجانداران خاکزی نظیر قارچ، باکتری و جلبک‌هاست. Li و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که استفاده از برخی قارچ‌ها باعث کاهش سمیت فلزی عناصر و افزایش رشد گیاهان می‌شود. Mazlumi Lyli و همکاران (۲۰۱۵) نیز بیان کرد که استفاده از گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما می‌تواند به عنوان عاملی مؤثر در کاهش اثرات سمی فلزات سنگین در نظر گرفته شود. تریکودرما قارچی خاکزی، غیربیماری‌زا و هم‌زیست با ریشه گیاهان است که به وفور در اکثر خاک‌های کشاورزی یافت می‌شود (Kaewchai *et al*., 2009). همچنین این قارچ باعث افزایش رشد و بهبود مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا و تنش‌های غیرزنده می‌شود (Shoresh *et al*., 2010). در واقع تریکودرما از طریق سنتز هورمون‌های رشد، قابلیت حل کردن عناصر نامحلول موجود در خاک، بهبود جذب عناصر غذایی و انتقال آن در گیاه و نیز ایجاد مقاومت القایی در برابر تنش‌های محیطی باعث افزایش رشد گیاهان می‌شود (Mazhabi *et al*., 2011). برخی از گونه‌های این قارچ نیز، قابلیت بقا در غلظت‌های بالای فلزات سنگین را دارند و از این‌رو می‌توان از آنها برای پاکسازی خاک‌های آلوده به این عناصر استفاده کرد (Anand *et al*., 2006). Watanabe (۲۰۰۲) بیان کرد که برخی از سویه‌های قارچ تریکودرما قابلیت تجزیه زیستی آلاینده‌های موجود در محیط را دارند و از آنها می‌توان برای پاکسازی محیط‌های آلوده به عناصر سنگین بهره برد. براساس نتایج Altintas و Bal (۲۰۰۸) و Cavalcante و همکاران (۲۰۰۸) تیمار گیاهان با قارچ تریکودرما باعث افزایش رشد به ترتیب در گیاه کاهو و گندم شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

در طول تاریخ انسان همواره در جستجوی گیاهان علوفه‌ای با کمیت و کیفیت بالاتر برای تغذیه دام‌های خود بوده است. بنابراین بهبود عملکرد و کیفیت گیاهان علوفه‌ای نقش مهمی در سلامت دام‌ها و به دنبال آن سلامت انسان دارد. اسپرس زراعی (*Onobrychis viciifolia* Scop.) گیاهی علوفه‌ای، چند ساله و از خانواده لگومینوز است. این گیاه در ایران دارای پراکنش گسترده‌ای است و به دلیل کیفیت مطلوب علوفه، مقاومت به سرخورطومی یونجه و نیز تحمل به تنش‌های محیطی در بسیاری از مناطق کشور کشت می‌گردد (Baghaie-Nia *et al.*, 2010). از آنجایی که سوزاندن بقایای گیاهی در دراز مدت آسیب‌های جبران‌ناپذیری به محیط‌زیست وارد می‌کند و از سویی دیگر در مناطق صنعتی، افزایش فعالیت‌های انسانی منجر به آلودگی بالای خاک‌ها به فلزات سنگین شده است، ارائه راهکاری مناسب برای مقابله با اثرات مخرب زیست محیطی آلاینده‌های صنعتی ضروری به نظر می‌رسد. از این‌رو آزمایش فوق به منظور بررسی اثرات کاربرد انواع بیوچار (پوسته بادام زمینی و تفاله هویج) و تلقیح قارچ تریکودرما در خاک، بر برخی خصوصیات گیاهچه اسپرس رشدیافته در خاک آلوده به فلزات سنگین صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای و در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کاملاً تصادفی با دو عامل و سه تکرار، در سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی با مختصات جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا به اجرا درآمد. در این آزمایش از خاک آلوده به فلزات سنگین که از شهرستان زنجان، مزارع اطراف روستای انگوران و از عمق ۲۵-۰ سانتی‌متری خاک سطحی در سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شده بود، استفاده شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش و نیز میزان عناصر سنگین موجود در خاک به ترتیب در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

عامل‌های مورد مطالعه در این آزمایش شامل کاربرد بیوچار با سه سطح (عدم کاربرد بیوچار، بیوچار تفاله هویج، بیوچار پوسته بادام زمینی) و تلقیح خاک با قارچ تریکودرما در دو سطح (عدم کاربرد و کاربرد قارچ تریکودرما) بود. در ابتدا برای تهیه بیوچار تفاله هویج و پوسته بادام زمینی، مواد گیاهی جمع‌آوری شده کاملاً آسیاب و پودر گردید و سپس در کوره با دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد در شرایط اکسیژن نسبتاً محدود (در ظروف در بسته) و در یک بازه زمانی دو ساعته پیرولیز شد (Wu *et al.*, 2012).

در این آزمایش، خاک هوا خشک پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری متناسب با نوع تیمار مورد استفاده، بیوچارها به نسبت پنج درصد با خاک مخلوط شدند. پس از پرشدن گلدان‌ها با خاک، به تعداد ۲۰ عدد بذر اسپرس در هر گلدان کشت گردید که پس از سبز شدن و در مرحله دو برگی، گیاهچه‌ها به صورت تصادفی تنک شده و تعداد آنها به ۱۵ عدد رسید. سویه استاندارد قارچ *Trichoderma harzianum* با کد استاندارد (T_{447}) از مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. جدایه *T. harzianum* Rifai – T_{447} به دست‌آمده روی محیط کشت PDA (سیب‌زمینی – دکستروز – آگار) احیا شد و به مدت حداقل یک هفته در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. کنیدی‌های قارچ با فیلتر کردن از طریق پشم شیشه استریل از میسلیوم جدا شد و به عنوان منبع تریکودرما (10^6 کنیدی در هر میلی‌لیتر) برای تحویل مستقیم به مخلوط گلدان استفاده شد (Manhas *et al.*, 2022). سوسپانسیون قارچ تهیه شده طی دو مرحله به گلدان‌ها اعمال گردید. مرحله اول، سوسپانسیون حین کاشت و به میزان ۵۰ سی‌سی و مرحله دوم نیز به میزان ۵۰ سی‌سی سوسپانسیون یک هفته پس از کاشت به خاک گلدان‌های مورد نظر تزریق شد. در طول دوره رشد گیاه، دمای گلخانه در شبانه‌روز بین ۲۰ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد (با رطوبت نسبی حوالی ۶۰ تا ۶۵٪) متغیر بود، تأمین نور تکمیلی مورد نیاز در گلخانه برای رشد گیاهان از طریق لامپ‌های آفتابی و مهتابی از ساعت ۵ تا ۷ عصر بود. آبیاری به صورت منظم و براساس ۱۰۰٪ ظرفیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکو- شیمیایی خاک آزمایش (تهیه‌شده از مزارع اطراف روستای انگوران و زنجان)

پتاس	فسفر	سیلت	رس	شن	بافت خاک	نیتروژن کل	هدایت الکتریکی گل اشباع خاک	اسیدیته خاک
(میلی‌گرم برکیلوگرم)		۰/۰۵-۰/۰۰۲	<۰/۰۰۲	۲-۰/۰۵		(٪)	(دسی‌زیمنس بر متر)	
۳۷۵	۱۵/۸	۲۹	۳۹	۳۲	رسی لومی	۰/۰۳۵	۱/۱۳	۸/۱۲

جدول ۲- میزان حضور عناصر سنگین قابل جذب (DTPA-Extractable) در خاک آزمایش

سرب (Pb)	آهن (Fe)	نیکل (Ni)	روی (Zn)	منگنز (Mn)	مس (Cu)	کادمیوم (Cd)	کبالت (Co)
(میلی‌گرم بر کیلوگرم)							
۱۲/۴	۲/۹	۱/۷	۶۴/۸	۴/۳۲	۳/۸۲	۰/۸۴	۰/۳۴

زراعی خاک، یکبار در هر هفته انجام پذیرفت، همچنین ۵ سی‌سی کود اوره (به میزان ۳۰ کیلوگرم در هکتار) پس از تنک کردن گیاهچه‌ها، به هر گلدان اضافه شد. گلدان‌های مورد استفاده در این آزمایش دارای قطر ۲۰ سانتی‌متری و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متری بودند. بذور از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. درصد جوانه‌زنی بذور مورد استفاده در این آزمایش بالای ۹۳٪ بود. در طول دوره رشد گیاه از هیچگونه کود آلی، کود شیمیایی (بجز اوره)، علف‌کش و آفت‌کش شیمیایی استفاده نشد و پس از یک دوره رشد ۵۰ روزه اقدام به نمونه‌برداری از هر گلدان صورت پذیرفت.

صفات مورد مطالعه در این آزمایش شامل سرعت سبز شدن گیاهچه‌ها، محتوای نسبی آب برگ، طول ریشه، ارتفاع بوته، وزن خشک و تر برگ، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو (Fv/Fm)، محتوای پروتئین کل برگ و ریشه، قند محلول برگ و ریشه بود. سرعت سبز شدن گیاهچه (در روز) نیز محاسبه گردید (Ellis *et al*., 1987). محاسبه محتوای نسبی آب برگ (٪) به روش Ritchie و همکاران (۱۹۹۰) صورت پذیرفت. در ابتدا آخرین برگ کاملاً توسعه‌یافته در بخش بالایی هر گیاه، جدا شده و توسط ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد و سپس هر نمونه داخل ۱۰۰ سی‌سی آب‌مقطر دیونیزه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از آن مجدداً توزین شده تا وزن اشباع آنها اندازه‌گیری شود. در نهایت نمونه‌ها به آون ۶۰ درجه منتقل و پس از ۴۸ ساعت وزن خشک آنها توسط ترازو محاسبه شد و با استفاده از رابطه زیر محتوای نسبی آب برگ محاسبه شد:

$$RWC = [F_w - D_w / S_w - D_w] \times 100$$

F_w: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری؛ S_w: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب‌مقطر به مدت ۲۴ ساعت در شرایط خنک و تاریک؛ D_w: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون ۷۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت.

برای محاسبه طول ریشه (سانتی‌متر) در ابتدا خاک گلدان‌ها به آرامی خارج شده و پس از آن، ریشه‌ها به دقت با آب شسته شدند و در نهایت طول ریشه توسط سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. ارتفاع بوته (سانتی‌متر) نیز توسط خط‌کش و از سطح خاک (طوقه) تا نوک بوته محاسبه گردید. برای محاسبه وزن تر برگ (گرم)، برگ‌ها بلافاصله پس از برداشت توسط ترازو وزن شده و پس از آن در آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و سپس توسط ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. محاسبه بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو در بازه زمانی ۸ صبح تا ۱۱ قبل از ظهر توسط دستگاه فلورومتر مدل (OS_1-F_1 chlorophyll Flurometer) انجام شد. برای اندازه‌گیری پروتئین کل ریشه و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)، عصاره پروتئینی ریشه و برگ توسط بافر فسفات پتاسیم با غلظت ۵۰ میلی‌مولار (= pH ۷/۸) استخراج شد و در ادامه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و g ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. از روشناور فوق برای محاسبه پروتئین کل ریشه و برگ به روش برادفورد (۱۹۷۶) استفاده گردید. محاسبه میزان قند محلول ریشه و برگ با استفاده از روش فنل سولفوریک اسید (Dubois and Gilles, 1956) و استاندارد گلوکز اندازه‌گیری شد. در ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی با ۴ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ به خوبی مخلوط شد، پس از آن نمونه‌های تهیه شده در حمام آب گرم به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. در ادامه به مخلوط حاصل ۱/۵ میلی‌لیتر کلروفرم و ۴ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد و بعد از آن نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و g ۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. به یک میلی‌لیتر از محلول روشناور فوق یک۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ اضافه گردید و بلافاصله پس از آن ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به ترکیب حاصله افزوده گشت. مخلوط حاصله پس از ده دقیقه، به خوبی هم زده شد و در ادامه به مدت نیم ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. در نهایت جذب نوری در طول‌موج ۴۹۰ متر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (Bio-Rad; SmartSpec Plus) سنجش شد.

به منظور اندازه‌گیری فلاونوئید کل در بافت برگ و ریشه، یک گرم بافت پودر شده (خشک شده در دمای ۶۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت) توسط ۲۵ میلی‌لیتر متانول مطلق استخراج شد. پس از صاف نمودن با کاغذ واتمن شماره یک، دو میلی‌لیتر از آن با ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر مخلوط گردید. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق (تشکیل کمپلکس به رنگ سبز روشن)، جذب مخلوط واکنش در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. ضریب خاموشی کوئرستین (۱/۳۶ بر میلی‌مولار بر سانتی‌متر) جهت محاسبه محتوای فلاونوئید کل به کار برده شد. فلاونوئیدهای واکنش دهنده با کلرید آلومینیوم به عنوان شاخصی از محتوای فلاونوئید کل بافت گیاهی با واحد میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در نظر گرفته شدند (Chang *et al*., 2002). به منظور استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت منجمد گیاهی در بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷/۸) ساییده شده و در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتریفیوژ گردید. از روشناور حاصله برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز به روش Aebi (۱۹۸۴) و پراکسیداز به روش (Mac-Adam *et al*., 1992) استفاده شد.

پس از جمع‌آوری داده‌ها، نرمال بودن آن‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو – ویلک، و یکنواختی واریانس خطاها با استفاده از آزمون لون مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS, 9.4 و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد صورت پذیرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

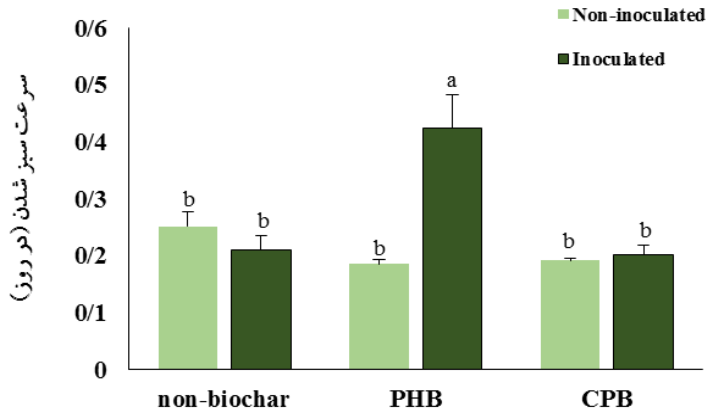
سرعت سبز شدن گیاهچه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات متقابل تلقیح قارچ تریکودرما و کاربرد انواع بیوچار بر سرعت سبزشدن گیاهچه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۳)، به‌طوری‌که بیشترین میزان سرعت سبزشدن گیاهچه از تیمار کاربرد بیوچار پوسته بادام زمینی + تلقیح قارچ تریکودرما در خاک (با میانگین ۰/۴۲ در روز) بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد بیوچار و عدم تلقیح قارچ تریکودرما در خاک) افزایش ۶۸٪ از خود نشان داد، همچنین تیمارهای شاهد (عدم کاربرد بیوچار و عدم تلقیح قارچ تریکودرما در خاک)، عدم کاربرد بیوچار + تلقیح قارچ تریکودرما در خاک، کاربرد بیوچار تفاله هویج + تلقیح قارچ تریکودرما در خاک، کاربرد بیوچار تفاله هویج + عدم تلقیح قارچ تریکودرما در خاک و کاربرد بیوچار پوسته بادام زمینی + عدم تلقیح قارچ تریکودرما در خاک نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان ندادند و در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۱). Mastouri و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که تلقیح قارچ تریکودرما در خاک‌های آلوده به کادمیوم از طریق افزایش جذب عناصر غذایی باعث افزایش سرعت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر عوامل آزمایشی بر برخی صفات مورفولوژیک گیاهچه اسپرس

منابع تغییر	درجه آزادی	سرعت سبز شدن	ارتفاع گیاهچه	طول ریشه	وزن خشک برگ	وزن تر برگ	محتوای نسبی آب برگ
تکرار	۲	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۴۵ ns	۰/۹۲۵ ns	۲/۵۵۴ ns	۰/۰۰۲ ns	۱۱/۷۳ ns
بیوچار	۲	۰/۰۱۸*	۰/۴ ns	۱۶/۱۲*	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۸ ns	۱۲۹/۶۷ ns
تریکودرما	۱	۰/۰۲۲*	۱۰/۹۳۶**	۱۰/۰۰۵ ns	۶/۰۰۹ns	۰/۰۰۵ ns	۶۲۱/۶۳۴ *
بیوچار × تریکودرما	۲	۰/۰۳۳**	۱۴/۹۷۷**	۲/۳۳۱ ns	۹/۴۴۲ ns	۰/۰۱۱ ns	۱۸۳/۳۲۲*
خطا	۱۰	۰/۰۰۳	۰/۹۱	۳/۲۶۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۵ ns	۴۰/۹۵۳
ضریب تغییرات (٪)	-	۲۲/۳۵	۷/۹	۱۲/۷۱	۱۴/۴۹	۱۷/۸۵	۷/۳۳

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ است.

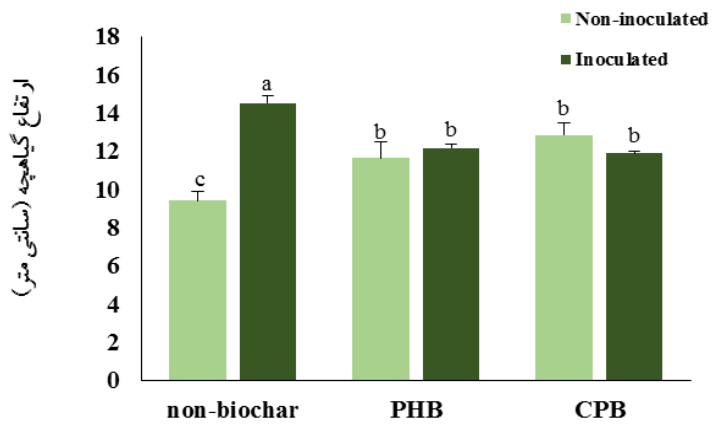


شکل ۱- اثر متقابل کاربرد بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما بر سرعت سبز شدن گیاهچه‌های اسپرس. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).

سبزشدن گیاهچه‌ها شد. همچنین به نظر می‌رسد که افزودن بیوچار به خاک از طریق افزایش تخلخل خاک، بهبود جذب عناصر غذایی در خاک، افزایش حاصلخیزی و رطوبت موجود در خاک، باعث افزایش سبزشدن گیاهچه‌ها در خاک گردید (O'Connor *et al.*, 2018).

ارتفاع گیاهچه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده کاربرد انواع بیوچار بر ارتفاع گیاهچه از لحاظ آماری معنی‌دار نشد، اما اثر ساده تلقیح قارچ تریکودرما و اثرات متقابل کاربرد انواع بیوچار و تلقیح قارچ تریکودرما بر این صفت در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین تیمار کاربرد قارچ تریکودرما بدون کاربرد بیوچار (با میانگین ۱۴/۵ سانتی‌متر) باعث افزایش ۵۴٪ ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد بیوچار و عدم تلقیح قارچ تریکودرما در خاک) شد (شکل ۲). Abouzina و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که کاربرد تریکودرما باعث افزایش ارتفاع بوته در گیاه کلزا نسبت به تیمار شاهد گردید، آنها همچنین بیان کردند که تریکودرما احتمالاً از طریق ایجاد همزیستی بین ریشه گیاهان و قارچ باعث افزایش سطح جذب ریشه، افزایش جذب آب و عناصر غذایی و در نتیجه بهبود فتوسنتز و رشد در گیاه می‌شود. البته باید در نظر داشت که قارچ تریکودرما تأثیر مثبت و تقویتی بر رشد ریشه‌های جانبی و حجم کل ریشه دارد، که منجر به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]



شکل ۲- اثر متقابل کاربرد بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما بر ارتفاع گیاهچه اسپرس. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).

جستجوی مطلوب‌تر خاک و افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر گردیده و در نتیجه رشد کلی بوته را افزایش می‌دهد (van Duijnen *et al.*, 2021).

طول ریشه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تلقیح قارچ تریکودرما و نیز اثر متقابل کاربرد انواع بیوچار و تلقیح قارچ تریکودرما بر طول ریشه از لحاظ آماری معنی‌دار نشد، اما اثر ساده کاربرد بیوچار بر این صفت در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان طول ریشه از تیمارهای بیوچار پوسته بادام زمینی (با میانگین ۱۵/۵ سانتی‌متر) و بیوچار تفاله هویج (با میانگین ۱۴/۸ سانتی‌متر) بدست آمد که هر کدام به ترتیب باعث افزایش ۲۵٪ و ۱۹٪ طول ریشه نسبت به تیمار شاهد شدند (جدول ۴). Zhang و همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند که طول ریشه گندم در حضور فلزات سنگین کاهش یافت. همچنین براساس شواهد موجود مشخص شده است که حضور فلزات سنگین در خاک، از طریق کاهش جذب آب و عناصر غذایی باعث کاهش طول ریشه در گیاه خواهد شد (Nie *et al.*, 2018). کاربرد بیوچار تولید شده از بقایای برمودا گراس موجب افزایش طول ریشه اسفناج در خاک آلوده به فلز سنگین سرب گردید، که به واسطه توسعه ریزوسفر گیاه و تسهیل در جذب آب و عناصر غذایی معدنی به منظور حفظ و گسترش بیشتر ریشه‌ها در خاک بوده است (Rashid *et al.*, 2020).

وزن خشک و تر برگ: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ساده تلقیح قارچ تریکودرما و نیز اثرات متقابل تلقیح قارچ تریکودرما و کاربرد انواع بیوچار بر وزن خشک برگ تاثیر معنی‌داری نداشت، درحالی‌که کاربرد انواع بیوچار بر این صفت در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثرات ساده و متقابل تیمارهای آزمایشی بر وزن تر برگ تأثیر معنی‌داری نداشتند. براساس نتایج مقایسات میانگین، کاربرد بیوچار پوسته بادام زمینی (با میانگین ۰/۰۸۵ گرم) باعث افزایش حدود ۶۰٪ وزن خشک برگ نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد بیوچار و عدم تلقیح قارچ تریکودرما در خاک) گردید (جدول ۴). Namgay و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه اثر حضور کادمیوم بر گیاه ذرت گزارش کردند که در حضور کادمیوم، وزن خشک بوته ذرت کاهش یافت، آنها همچنین بیان کردند که این کاهش به دلیل بسته شدن روزنه‌ها و کاهش میزان فتوسنتز و تنفس در حضور کادمیوم و نیز اثر منفی این عنصر بر هورمون‌های گیاهی نظیر سیتوکینین است. Zhang (۲۰۱۳) نیز در مطالعه اثر استفاده از بیوچار در خاک‌های حاوی فلزات سنگین بیان کرد که به دلیل ماهیت آلی بیوچار، افزودن آنها به خاک‌های آلوده به فلزات

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

جدول ۴- اثر اصلی کاربرد انواع بیوچار بر طول ریشه، وزن خشک برگ و محتوای پروتئین ریشه گیاهچه اسپرس

کاربرد انواع بیوچار	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک برگ (گرم)	محتوای پروتئین ریشه (میلی‌گرم بر گرم وزن تر بافت گیاهی)
شاهد (عدم کاربرد بیوچار)	۱۲/۳۶ ± ۰/۵۳۲ b	۰/۰۵۳ ± ۰/۰۰۲ c	۰/۱۷۶ ± ۰/۰۰۶ b
بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی	۱۵/۴۸ ± ۰/۶۷۲ a	۰/۰۸۵ ± ۰/۰۰۶ a	۰/۱۴۴ ± ۰/۰۱۵ c
بیوچار حاصل از تفاله هویج	۱۴/۸ ± ۰/۵۳۶ a	۰/۰۶۹ ± ۰/۰۰۲ b	۰/۲۳ ± ۰/۰۳ a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

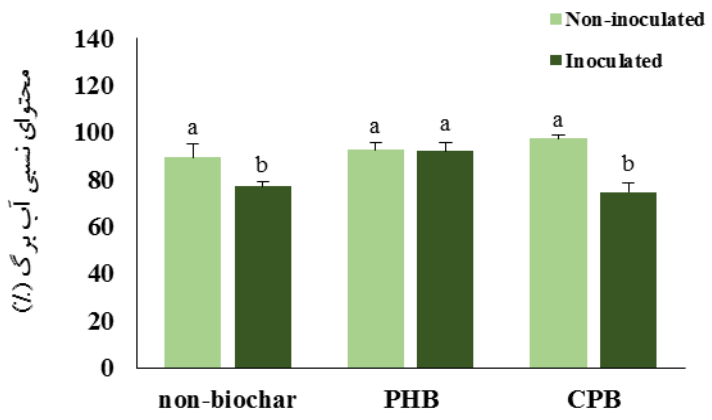
سنگین از طریق افزایش تخلخل و حفظ رطوبت خاک و نیز افزایش دسترسی گیاهان به عناصر غذایی نظیر پتاسیم، کلسیم، فسفر، آهن و نیتروژن، میزان فتوسنتز و تولید ماده خشک در گیاه افزایش می‌یابد. Rahimi و همکاران (۲۰۱۶)، Arab Bafrani و همکاران (۲۰۲۰) و Tanure و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که افزودن بیوچار به خاک، به ترتیب باعث افزایش وزن خشک بوته در گیاهانی نظیر برنج، گلرنگ و ذرت گردید.

محتوای نسبی آب برگ (RWC): نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داده که اثر ساده تلقیح با قارچ تریکودرما و اثرات متقابل کاربرد انواع بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود، در حالی‌که اثر ساده کاربرد انواع بیوچار بر این صفت اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). براساس نتایج مقایسه میانگین بیوچار تفاله هویج + عدم تلقیح با قارچ تریکودرما (با میانگین ۹۵/۴٪)، بیوچار پوسته بادام زمینی + عدم تلقیح با قارچ تریکودرما، بیوچار پوسته بادام زمینی + تلقیح با قارچ تریکودرما (هر دو با میانگین ۹۲/۳۲٪) باعث افزایش ۵/۲۵ درصدی نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد انواع بیوچار+ عدم تلقیح با قارچ تریکودرما) شدند و تیمارهای بیوچار تفاله هویج + تلقیح با قارچ تریکودرما (با میانگین ۷۴/۷۵٪) و تیمار عدم کاربرد بیوچار + تلقیح با قارچ تریکودرما (با میانگین ۷۷/۱۷٪) دارای کاهش ۱۴/۹۴ درصدی نسبت به تیمار شاهد بودند (شکل ۳). Seregin و Ivanov (۲۰۰۱) در مطالعه اثر سرب و کادمیوم بر گیاهان گزارش کردند که سرب از طریق کاهش تعرق و سطح برگ، باعث کاهش محتوای آب در گیاهان می‌شود. همچنین آنها بیان کردند که سرب باعث کاهش اندازه سلول‌های محافظ روزنه، کاهش انعطاف‌پذیری دیواره سلولی، افزایش غلظت اسید آبسزیک، اختلال در تنفس و فتوسنتز می‌شود که در نهایت منجر به اختلال در وضعیت آب گیاه می‌شود. Arab Bafrani و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که استفاده از بیوچار باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) نسبت به شاهد گردید.

بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو (fv/fm): براساس نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل کاربرد انواع بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما بر میزان بیشینه عملکرد کوانتمی فتوسیستم دو معنی‌دار نبود (جدول ۵).

میزان پروتئین برگ و ریشه: اثر ساده کاربرد انواع بیوچار و اثرات متقابل کابرد انواع بیوچار و قارچ تریکودرما بر میزان پروتئین برگ در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود، درحالی‌که اثر ساده تلقیح قارچ تریکودرما بر صفت فوق تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۵). همچنین اثر ساده کاربرد انواع بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما در سطح احتمال ۵٪ اثر معنی‌داری بر میزان پروتئین ریشه داشت، اما اثرات متقابل این تیمارها بر میزان پروتئین ریشه معنی‌دار نبود. براساس نتایج مقایسه میانگین مشخص شد که بالاترین میزان پروتئین ریشه از بیوچار تفاله هویج (با میانگین ۰/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بافت گیاهی) بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد دارای افزایش حدود ۳۰٪ بود، درحالی‌که کمترین میزان پروتئین ریشه از بیوچار پوسته بادام زمینی (با میانگین ۰/۱۴ میلی‌گرم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]



شکل ۳- اثر متقابل کاربرد بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما بر محتوای نسبی آب برگ گیاهچه اسپرس. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).

جدول ۵- نتایج جدول تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آزمایشی بر برخی صفات بیوشیمیایی گیاهچه اسپرس

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		بیشینه عملکرد کوانتومی	محتوای پروتئین برگ	محتوای پروتئین ریشه	محتوای قند محلول برگ	محتوای قند محلول ریشه
تکرار	۲	۰/۰۰۲ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۳۲ ns	۱/۲۴۲ ns
بیوچار	۲	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۲۱ **	۰/۰۱۱ **	۳/۶۱۹ **	۴/۰۴ *
تریکودرما	۱	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ *	۰/۶۷۳ ns	۰/۱۳۲ ns
بیوچار × تریکودرما	۲	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۱۷ **	۰/۰۰۱ ns	۴/۹۳۷ **	۷/۸۴۴ **
خطا	۱۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۳۵۱	۰/۹۷۸
ضریب تغییرات (٪)	–	۳/۹۳	۶/۰۲	۵/۴۶	۱۱/۷۳	۲۳/۰۹

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ است.

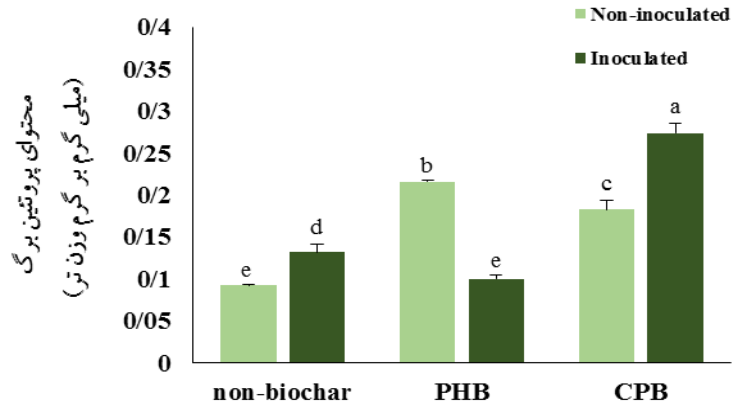
جدول ۶- اثر اصلی تلقیح با قارچ تریکودرما بر محتوای پروتئین ریشه گیاهچه اسپرس

تلقیح با قارچ تریکودرما	محتوای پروتئین ریشه (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
شاهد (عدم تلقیح)	۰/۱۹۲ ± ۰/۰۱ a
تلقیح با قارچ	۰/۱۷۴ ± ۰/۰۵ b

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

بر گرم وزن تر گیاهی) بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد دارای کاهش ۱۸٪ بود (جدول ۴). همچنین تیمار تلقیح با قارچ تریکودرما نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح با قارچ) کاهش ۹٪ در میزان پروتئین ریشه نشان داد (جدول ۶). بیشترین میزان پروتئین برگ از تیمار بیوچار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

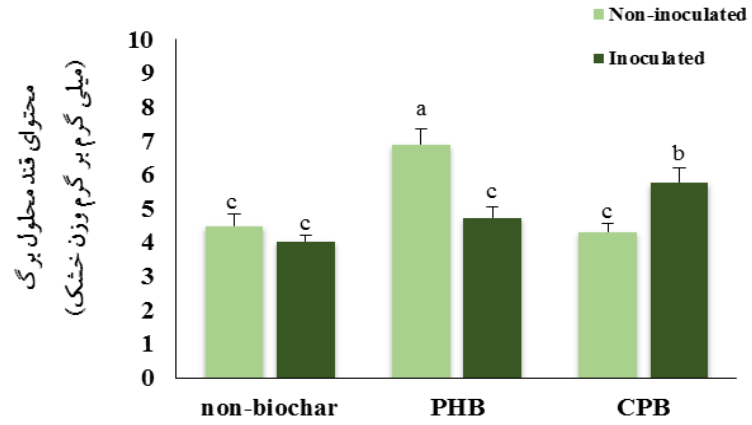


شکل ۴- اثر متقابل کاربرد بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما بر محتوای پروتئین برگ گیاهچه اسپرس. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).

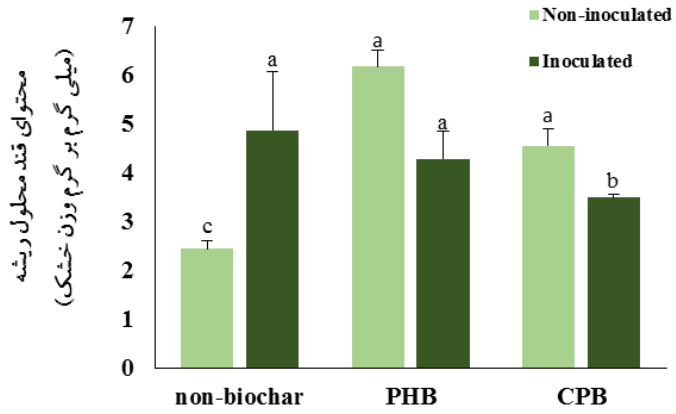
تفاله هویج + تلقیح با قارچ تریکودرما (با میانگین ۰/۲۷۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بافت گیاهی) بدست آمد که نسبت به شاهد دارای افزایش ۱۹۷/۸۲٪ در میزان پروتئین برگ بود، همچنین بیوچار پوسته بادام زمینی + تلقیح با قارچ تریکودرما از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد و با این تیمار در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ۴). تنش فلزات سنگین به واسطه ایجاد انواع اکسیژن واکنشی (ROS) موجب تجزیه و اکسیداسیون پروتئین‌ها (اسیدهای آمینه گوگرد دار موجود در ساختمان برخی پروتئین‌ها حساس‌ترند) و اختلال در عملکرد عادی آنزیم‌ها می‌شوند. از سویی دیگر کاهش میزان پروتئین می‌تواند بدلیل افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز در حضور فلزات سنگین باشد. به عبارتی ROS تولید شده در شرایط تنش فلزات سنگین می‌توانند القاکننده پراکسیداسیون لیپیدها و تجزیه پروتئین‌ها باشند (John *et al.*, 2009; Khudsar *et al.*, 2001). دانش کمی در مورد تأثیر بیوچار بر متابولیسم و جذب پروتئین در گیاه وجود دارد. در مطالعه‌های پیشین، استفاده از بیوچار باعث افزایش محتوای پروتئین محلول در بافت‌های گیاه شد، شاید به این دلیل که بیوچار باعث تحریک چرخه نیتروژن آلی خاک با افزایش تولید پروتئین و استفاده از آن توسط گیاه می‌شود (Mehdizadeh *et al.*, 2021). قارچ تریکودرما به‌طور قابل‌توجهی محتوای پروتئین در برگ پیاز را افزایش داد. این افزایش در محتوای پروتئین ممکن است نتیجه افزایش جذب نیترات و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و تولید اکسید نیتروژن باشد که در آنزیم کدکننده ال- آرژنین دخیل و برای بیوسنتز پروتئین مهم است (Metwally, 2020).

قند محلول برگ و ریشه: اثر ساده کاربرد انواع بیوچار و اثرات متقابل کاربرد انواع بیوچار + تلقیح با قارچ تریکودرما بر میزان قند محلول برگ و ریشه در سطح احتمال ۵٪ تأثیر معنی‌داری بود، درحالی‌که اثر ساده تلقیح قارچ تریکودرما بر میزان قند محلول برگ و ریشه تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۵). کاربرد بیوچار پوسته بادام زمینی+ عدم تلقیح با قارچ تریکودرما (با میانگین ۶/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاهی) دارای بیشترین میزان قند محلول در برگ بود و نسبت به شاهد (عدم کاربرد بیوچار + عدم تلقیح با قارچ تریکودرما) افزایش ۵۳/۵۶٪ از خود نشان داد و همچنین تیمار بیوچار تفاله هویج + تلقیح با قارچ تریکودرما (با میانگین ۵/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاهی) نسبت به شاهد (عدم کاربرد بیوچار + عدم تلقیح قارچ تریکودرما) افزایش ۲۸/۴۵٪ از خود نشان داد (شکل ۵). تیمارهای کاربرد بیوچار پوسته بادام زمینی+ عدم تلقیح با قارچ تریکودرما، کاربرد بیوچار پوسته بادام زمینی+ تلقیح با قارچ تریکودرما، تیمار عدم کاربرد بیوچار + تلقیح با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]



شکل ۵- اثر متقابل کاربرد بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما بر محتوای قند محلول برگ گیاهچه اسپرس. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).



شکل ۶- اثر متقابل کاربرد بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما بر محتوای قند محلول ریشه گیاهچه اسپرس. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).

قارچ تریکودرما، بیوچار تفاله هویج + عدم تلقیح با قارچ تریکودرما دارای بیشترین میزان قند محلول ریشه بودند و به ترتیب دارای افزایش ٪۱۵۳/۵۰، ٪۷۶/۱۴، ۱۰۰ و ٪۸۷/۲۵ نسبت به تیمار شاهد بودند (شکل ۶). Ehdaie و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایشی مشابه بر روی گیاهچه‌های گندم بیان کردند که افزایش غلظت کادمیوم و جیوه باعث کاهش میزان قند محلول در گیاهچه‌ها شد.

مقدار فلاونوئید کل در برگ و ریشه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی بیوچار و تریکودرما بر صفت فلاونوئید کل در برگ معنی‌دار است. ولی اثر متقابل بیوچار × تریکودرما برای صفت فلاونوئید کل در برگ معنی دار نگردید (جدول ۷). بررسی نتایج اثر اصلی بیوچار و قارچ تریکودرما بر فلاونوئید کل در ریشه اسپرس نشان داد که اختلاف معنی-داری از لحاظ عوامل آزمایشی برای این صفت مطالعه شده وجود دارد و همچنین اثر متقابل بیوچار × قارچ تریکودرما برای صفت فلاونوئید کل در ریشه، معنی دار گردید (جدول ۷). مقایسه میانگین اثر اصلی بیوچار بر فلاونوئید کل در برگ گیاهچه اسپرس نشان داد که کمترین میزان فلاونوئید کل برگ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

جدول ۷- تجزیه واریانس تأثیر عوامل آزمایشی بر صفات مطالعه شده در اسپرس

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فلاونوئید محلول در برگ	فلاونوئید محلول در ریشه	فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ	فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه	فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ	فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه
تکرار	۲	۰/۱۰۱^{ns}	۰/۰۹۴^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۶/۲۲۲^{ns}	۳/۱۵۷^{ns}
بیوچار	۲	۱۰/۸۰۹**	۳/۶۶۶*	۰/۰۷۱**	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۰۱^{ns}
تریکودرما	۱	۱۸/۵۳۴**	۳/۸۳۸*	۰/۰۲۲**	۶/۷۲۲^{ns}	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۱*
بیوچار × تریکودرما	۲	۲/۱۱۰^{ns}	۳/۶۴۸*	۰/۰۲۴**	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۱**	۵/۵۸۶^{ns}
خطا	۱۰	۰/۵۶۲	۰/۶۳۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱۵	۰/۰۰۰۰۳۹
ضریب تغییرات (٪)	–	۱۳/۷۵	۲۳/۵۱	۱۱/۵۴	۱۲/۹۰	۸/۶۱	۱۲/۰۴

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ است.

جدول ۸- اثر اصلی بیوچار بر مقدار فلاونوئید کل در برگ

سطوح بیوچار	فلاونوئید کل در ریشه اسپرس (میلی‌مول بر گرم وزن تر)
شاهد (بدون بیوچار)	۲/۴۹۳ ±۰/۶۷۵^{b}
بیوچار پوسته بادام زمینی	۳/۸۰۴ ±۰/۳۳۷^{ba}
بیوچار تفاله هویج	۳/۸۸۶ ±۰/۵۲۹^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

مربوط به تیمار شاهد (بدون کاربرد بیوچار) و بیشترین میزان فلاونوئید کل برگ به‌طور مشترک، برای تیمارهای آزمایشی بیوچار پوسته بادام زمینی و بیوچار تفاله هویج بود (جدول ۸). اثر اصلی قارچ تریکودرما برای صفت فلاونوئید برگ اسپرس نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید کل در برگ اسپرس، مربوط به تیمار آزمایشی قارچ تریکودرما (تلقیح شده) بود. در حالی‌که شاهد (بدون تلقیح) از کمترین میزان فلاونوئید کل در برگ برخوردار بود (جدول ۹).

در اثر متقابل بیوچار × تریکودرما، میزان فلاونوئید کل ریشه در تیمار آزمایشی بیوچار تفاله هویج × تریکودرما بیشتر بود اما این تیمار آزمایشی نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی شامل بیوچار پوسته بادام زمینی و قارچ تریکودرما تفاوت معنی‌داری نداشت درحالی‌که این تیمار آزمایشی (بیوچار تفال هویج × تریکودرما) نسبت به تیمارهای آزمایشی شامل شاهد، بیوچار تفاله هویج و بیوچار پوسته بادام زمینی × تریکودرما از افزایش معنی‌داری برخوردار بود و شاهد نسبت به تمام تیمارهای آزمایشی از کمترین فلاونوئید کل در ریشه برخوردار بود (شکل ۷). مطابق نتایج به دست آمده از آزمایش حاضر، تلقیح با قارچ تریکودرما هارزیانوم موجب افزایش تجمع متابولیت‌های ثانویه در بوته‌های گوجه‌فرنگی رشدیافته در شرایط تنش خشکی گردید. بیوسنتز ترکیبات فلاونوئیدی در گیاهان تلقیح‌یافته با قارچ افزایش یافته و باعث بهبود رشد گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش می‌شود که به واسطه حفاظت از تنش اکسیداتیو است (AlWhibi *et al.*, 2017). فنول‌ها و فلاونوئیدها در تشکیل دیواره سلولی نقش دارند که از گیاهان در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده محافظت می‌نماید (Surekha

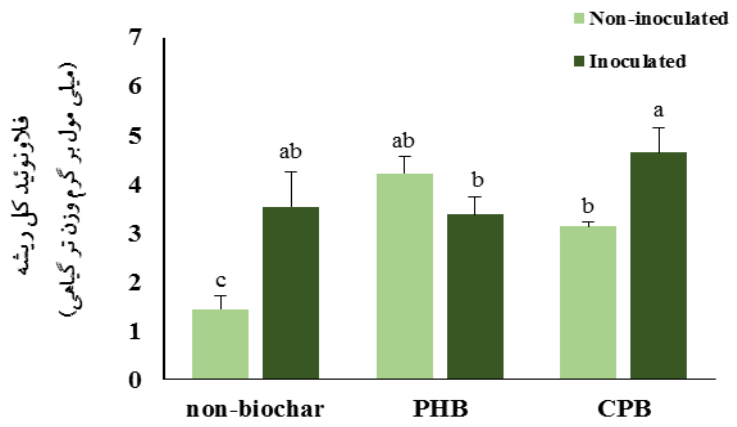
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

جدول ۹- اثر اصلی تریکودرما بر مقدار فلاونوئید کل در برگ

سطوح تریکودرما	فلاونوئید کل در برگ اسپرس (میلی‌مول بر گرم وزن تر)
شاهد (بدون تلقیح)	۰/۵۵۳^{b} ±۴۳۷/۴
قارچ تریکودرما (تلقیح شده)	۰/۳۶۴^{a} ±۴۶۷/۶

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



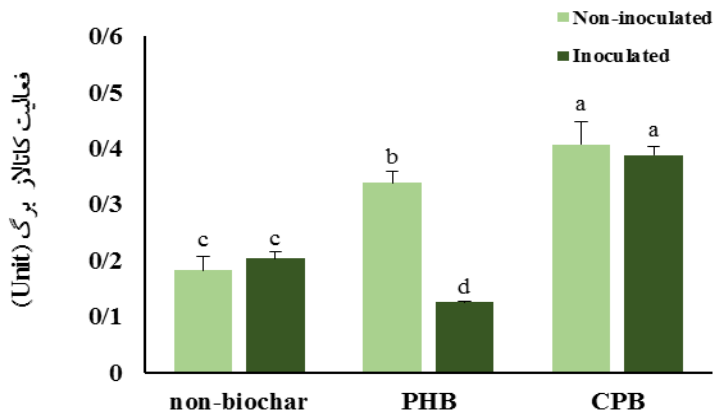
شکل ۷- اثر متقابل بیوچار و تریکودرما بر مقدار فلاونوئید کل ریشه. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).

et al., 2014). فلاونوئیدها به عنوان تنظیم‌کننده‌های انتقال قطبی اکسین جهت تنظیم رشد عمل می‌کنند و شرایط تلقیح با *T. harzianum* ممکن است تنظیم دقیق بیئسنتز و عمل هورمون رشد و حفاظت نوری در فرآیند فتوسنتز را در بر داشته باشد (Brunetti *et al.*, 2013).

فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ و ریشه: براساس بررسی نتایج تجزیه واریانس مشاهده گردید که اثر اصلی کاربرد بیوچار و تلقیح با قارچ تریکودرما در سطح احتمال یک درصد از نظر فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ معنی‌دار بودند و همچنین اثر متقابل بیوچار × تریکودرما برای صفت فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۷). در مقابل، در خصوص فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه، نتایج به دست آمده نشان داد که تمام عوامل آزمایشی (اثر اصلی و اثر متقابل) برای این صفت تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۷).

براساس نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل بیوچار × تریکودرما مشاهده گردید که با اعمال ترکیبات تیماری بیوچار تفاله هویج و بیوچار تفاله هویج - قارچ تریکودرما به خاک، باعث بروز بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گیاهچه اسپرس شده‌اند که این دو تیمار آزمایشی (بیوچار تفاله هویج و بیوچار تفاله هویج - تریکودرما) نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشته بلکه نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی از افزایش معنی‌داری برخوردار بودند و پس از این تیمارهای فوق، تیمار آزمایشی بیوچار پوسته بادام زمینی از بیشترین فعالیت کاتالاز برگ نسبت به تیمارهای شاهد، قارچ تریکودرما و بیوچار پوسته بادام زمینی- تریکودرما برخوردار بود. تیمارهای آزمایشی شاهد و قارچ تریکودرما نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشتند اما در مقایسه با تیمار آزمایشی بیوچار پوسته بادام زمینی - قارچ تریکودرما از افزایش معنی‌داری برای فعالیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]



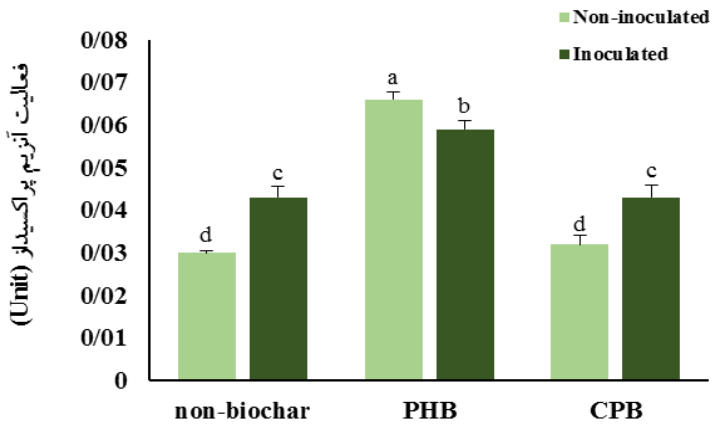
شکل ۸- اثر متقابل بیوچار و تریکودرما بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ اسپرس. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).

آنزیم کاتالاز برگ برخوردار بودند و بنابراین تیمار بیوچار پوسته بادام زمینی × قارچ تریکودرما کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گیاهچه اسپرس را داشت (شکل ۸). طی مطالعه‌ای که بر روی گیاه ماش تحت تنش فلز سنگین آرسنیک صورت پذیرفت، کاربرد biochar (BC)، قارچ‌های *mycorrhizal arbuscular* (AMF) و سلنیوم (Se) بر روی خاک‌های حاوی آرسنیک، تأثیر تیمارهای فوق به عنوان مواد کاهش‌دهنده تنش مورد ارزیابی قرار گرفت، که در این پژوهش فعالیت آنزیم کاتالاز به دلیل استفاده از بیوچار، میکوریزا آربوسکولار و سلنیوم در محصولات ماش در مقایسه با شاهد افزایش یافت. با این حال، بعد از کاربرد تیمارهای فوق‌الذکر، پرولین به‌طور قابل توجهی در مقایسه با شاهد کاهش پیدا کرد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که تنش اکسیداتیو به دلیل استفاده از این مواد سرکوب‌کننده تنش فلز سنگین به‌طور بالقوه در محصولات ماش که تحت تنش فلز سنگین آرسنیک بودند به حداقل رسید (Alam *et al.*, 2019). در تأیید این مطالعه، طی پژوهشی که Du و همکاران (۲۰۱۴) اظهار نمودند با کاربرد بیوچار بطور متوالی در محصولات گندم پاییزه، مشاهده گردید که فعالیت کاتالاز در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت.

فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ و ریشه: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی بیوچار و اثر اصلی تریکودرما بر صفت مطالعه شده فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ معنی‌دار گردید. همچنین اثر متقابل بیوچار × تریکودرما برای این صفت معنی‌دار شد (جدول ۷). بررسی نتایج اثر اصلی بیوچار و تریکودرما بر پراکسیداز ریشه اسپرس نشان داد که تنها اثر اصلی تریکودرما برای این صفت معنی‌دار گردید درحالی‌که اثر اصلی بیوچار و اثر متقابل بیوچار × تریکودرما برای این صفت معنی‌دار نبودند (جدول ۷). در مقایسه میانگین اثر متقابل بیوچار × تریکودرما مشاهده شد که تیماری که بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ را داشت، تیمار بیوچار پوسته بادام زمینی بود. کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ به صورت مشترک مربوط به تیمارهای آزمایشی شاهد و بیوچار تفاله هویج بود (شکل ۹).

در مورد صفت فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه تنها اثر اصلی بیوچار در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد و اثر اصلی تریکودرما و همچنین اثر متقابل بیوچار × تریکودرما معنی‌دار نشدند (جدول ۷). در مقایسه میانگین اثر اصلی بیوچار، مشاهده گردید که با کاربرد تیمارهای آزمایشی شامل بیوچار پوسته بادام زمینی و بیوچار تفاله هویج، به طور مشترک باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه گیاهچه اسپرس

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]



شکل ۹- اثر متقابل بیوچار و تریکودرما بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ اسپرس. میانگین‌ها همراه اشتباه استاندارد (mean ± S.E.) آورده شده و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (PHB: بیوچار حاصل از پوسته بادام زمینی؛ CPB: بیوچار حاصل از تفاله هویج).

جدول ۱۰- اثر اصلی کاربرد بیوچار بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه گیاهچه اسپرس

سطوح بیوچار	فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه اسپرس (Unit)
شاهد (بدون بیوچار)	۰/۰۴۶ ±۰/۰۰۱^{b}
بیوچار پوسته بادام زمینی	۰/۰۵۹ ±۰/۰۰۲^{a}
بیوچار تفاله هویج	۰/۰۵۹ ±۰/۰۰۶^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

نسبت به شاهد شده اند (جدول ۱۰). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش فلزات سنگین می‌تواند نشان‌دهنده افزایش تولید ROS و ایجاد مکانیسم‌های محافظتی برای کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش غیرزیستی باشد (Allen and Tresini, 2000). در مطالعه حاضر، پاسخ‌های فعالیت پراکسیداز به تنش فلزات سنگین نشان می‌دهد که آلودگی خاک با فلزات سنگین منجر به افزایش قابل‌توجهی در تولید ROS در مقایسه با گیاهانی که در خاک تیمار شده با انواع بیوچار رشد می‌کنند، می‌گردد. طی پژوهشی که Kamran و همکاران (۲۰۱۹) اظهار نمودند فعالیت‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنول پراکسیداز و پراکسیداز بطور قابل‌توجهی تحت تنش آبیاری با آب فاضلاب حاوی فلزات سنگین و بدون اختلاط با بیوچار افزایش یافت. علاوه بر این با اعمال بیوچار به میزان ۱٪ و ۲٪ منجر به افزایش فعالیت پراکسیداز به ترتیب به میزان (۸٪ و ۴۲٪) و (۱۰٪ و ۳۹٪) شد. در گزارشی دیگر Elfanssi و همکاران (۲۰۱۸) و Rizwan و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که خاک آبیاری شده با آب فاضلاب و تنش خشکی ناشی از آلودگی کادمیوم، منجر به افزایش فعالیت پراکسیداز می‌گردد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج بدست آمده از این آزمایش، حضور فلزات سنگین در خاک به واسطه افت محتوای رطوبتی برگ و نیز کاهش مقادیر پروتئین کل، قند محلول و فلاونوئید کل در بافت‌های ریشه و برگ باعث کاهش رشد و عملکرد کلی گیاهچه‌های اسپرس در تیمار شاهد (عدم کاربرد بیوچار و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

قارچ تریکودرما در خاک) گردید. در مقابل، کاربرد بیوچار (احتمالاً از طریق جذب سطحی و پالایش فلزات سنگین) ضمن افزایش فلاونوئیدها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز به ویژه در برگ‌ها موجب کاهش اثرات سو این فلزات بر رشد گیاهچه‌ها شد. همچنین تلقیح با قارچ تریکودرما در خاک (احتمالاً از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، انتقال قندها و اسیدهای آمینه و نیز ایجاد مقاومت القایی در برابر تنش‌های محیطی) ضمن بهبود فتوسنتز، متابولیسم گیاه و سیستم آنتی‌اکسیدانی باعث بهبود رشد و استقرار گیاهچه‌ها در خاک آلوده به فلزات سنگین گردید. بنابراین استفاده از انواع بیوچار و تلقیح با سوسپانسیون کنیدیایی قارچ تریکودرما در خاک می‌تواند به عنوان روشی مناسب در بهبود رشد گیاه علوفه‌ای اسپرس و استقرار مطلوب‌تر آن در خاک آلوده به فلزات سنگین سرب و روی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

Abouzina, H. F., Saber, M., Hoballah, E., El-Ashry, S. and Zaghloul, A. M. (2013) Yield attributes and oil safety in the hyperaccumulator canola plant grown in a bioremediation sewage soil. Journal of Agricultural Science and Technology 3: 1010-1016.

Aebi, H. E. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Ahmad, M., Rajapaksha, A. U., Lim, J. E., Zhang, M., Bolan, N., Mohan, D., Vithanage, M., Lee, S. S. and Ok, Y. S. (2014) Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. Chemosphere 99: 19-33.

Allen, R. G. and Tresini, M. (2000) Oxidative stress and gene regulation. Free Radical Biology and Medicine 28: 463-499.

Altintas, S. and Bal, U. (2008) Effects of the commercial product based on *Trichoderma harzianum* on plant, bulb and yield characteristics of onion. Scientia Horticulturae 116: 219-222.

Anand, P., Isar, J., Saran, S. and saxena, R. K. (2006) Bioaccumulation of copper by *Trichoderma viride*. Bioresource Technology 97: 1018-1025.

Arab Bafrani, Z., Ghaneei-Bafghi, M. J. and Shirmardi, M. (2020) Effect of wood residues of pistachio biochar on growth characteristics of safflower. Journal of Soil Management and Sustainable Production 10: 73-93. (In Persian with English abstract).

Baghaie-Nia, M., Majidi, M. M. and Mirlohi, A. (2010) Effects of induced mutation on general combining ability and association of traits in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop). Iranian Journal of Rangeland and Forests Plant Breeding and Genetic Research 18: 181-199. (In Persian with English abstract).

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

Brunetti, C., Ferdinando, M. D., Fini, A., Pollastri, S. and Tattini, M. (2013) Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: Relative significance in plants and humans. International Journal of Molecular Sciences 14: 3540-3555.

Cavalcante, R. S., Lima, H. L. S., Pinto, G. A. S., Gava, C. A. T. and Rodriguez, S. (2008) Effect of moisture on *Trichoderma conidia* production on corn and wheat bran by solid state fermentation. Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 319-325.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis 10: 178-182.

Dianat Maharluei, Z., Sepehri, M., Yasrebi, J. and Ghasemi, R. (2018) Effect of rice husk biochar and endophytic fungus *Piriformospora indica* on concentrations of some nutrients in shoots and roots of corn grown in zinccontaminated soil. Journal of Plant Process and Function 8: 261-277. (In Persian with English abstract).

Du, Z., Wang, Y., Huang, J., Lu, N., Liu, X., Lou, Y. and Zhang, Q. (2014) Consecutive biochar application alters soil enzyme activities in the winter wheat–growing season. Soil Science 179: 75-83.

Dubois, M. and Gilles, K. A. (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Analytical Chemistry 25: 350-354.

Ehdaie, B., Alloush, G. A., Madore, M. A. and Waines, J. G. (2006) Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat: I. Post anthesis changes in internode dry matter. Crop Science 46: 735-746.

Elfanssi, S., Ouazzani, N. And Mandi, L. (2018) Soil properties and agro-physiological responses of alfalfa (*Medicago sativa* L.) irrigated by treated domestic wastewater. Agricultural Water Management 202: 231-240.

Ellis, R. H., Hong, T. D. and Roberts, E. H. (1987) The development of desiccation-tolerance and maximum seed quality during maturation in six grain legumes. Annals of Botany 59: 23-29.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

Gholami, L. and Rahim, Gh. (2020) The effect of carrot pulp derived biochar on the adsorption of cadmium and lead in an acidic soil. Journal of Water and Soil Conservation 27: 1-23. (In Persian with English abstract).
John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. and Sharma, S. (2009) Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. Journal of Plant Production 3: 65-76.
Kaewchai, S., Soytong, K. and Hyde, K. D. (2009) Mycofungicides and fungal biofertilizers. Fungal Diversity 38: 25-50.
Kamran, M., Malik, Z., Parveen, A., Huang, L., Riaz, M., Bashir, S., Mustafa, A., Abbasi, G. H., Xue, B. And Ali, U. (2019) Ameliorative effects of biochar on rapeseed (*Brassica napus* L.) growth and heavy metal immobilization in soil irrigated with untreated wastewater. Journal of Plant Growth Regulation 1-13.
Khodaverdiloo, H. and Hamzenejad Taghlidabad, R. (2011) Sorption and desorption of lead (Pb) and effect of cyclic wetting-drying on metal distribution in two soils with different properties. Water and Soil Science 21: 150-163. (In Persian with English abstract).
Khudsar, T., Mahmood-uzzafar, M. and Iqbal, M. (2001) Cadmium induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in *Cajanus cajan*. Biologia Molecular de Plantas 44: 59-64.
Li, H. H., Liu, Y., Chen, Y., Wang, S., Wang, M., Xie, T. and Wang, G. (2016) Biochar amendment immobilizes lead in rice paddy soils and reduces its phytoavailability. Scientific Reports 6: 1-8.
Mac-Adam, J. W., Nelson, C. J. and Sharp, R. E. (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of all fescue. Plant Physiology 99: 872-878.
Manhas, A., Sharma, R. and Dorjey, S. (2022) Evaluation of fungicide and bio-control agents against Sclerotinia stem rot of chickpea (*Sclerotinia sclerotiorum*). The Pharma Innovation Journal 11: 358-365.
Mastouri, F., Bjorkman, T. H. and Harman, G. E. (2010) Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. Biologic Control 11: 1213-1221.
Mazhabi, M., Nemati, H., Rouhani, H., Tehranifar, A., Moghadam, E. M., Kaveh, H. and Rezaee, A. (2011) The effect of Trichoderma on polianthes qualitative and quantitative properties. Journal of Animal and Plant Sciences 21: 617-621.
Mazlumi Lyli, A., Alizadeh, H., Broumand, N. and Azami Sardooei, Z. (2015) Evaluation of Trichoderma stability in different soils and its effects on the growth performance of cucumber. Biological Control of Pests and Plant Diseases 4: 99-109. (In Persian with English abstract).
Mehdizadeh, L., Farsaraei, S. and Moghaddam, M. (2021) Biochar application modified growth and physiological parameters of *Ocimum ciliatum* L. and reduced human risk assessment under cadmium stress. Journal of Hazardous Materials 409: 124954.
Metwally, R. A. (2020) Arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma viride* cooperative effect on biochemical, mineral content, and protein pattern of onion plants. Journal of Basic Microbiology 60.
Mona, S. A., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Soliman, D. W. K., Wirth, S. and Egamberdieva, D. (2017) Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. Journal of Integrative Agriculture 16: 1751-1757.
Namgay, T., Singh, B. and Singh, B. P. (2010) Influence of biochar application to soil on the availability of As, Cd, Cu, Pb, and Zn to maize (*Zea mays* L.). Australian Journal of Soil Research 48: 638-647.
Nie, C., Yang, X., Niazi, N., Xu, K., Wen, X., Rinklebe, Y., Sikok, J., Xu, Y. S. and Wang, H. (2018) Impact of sugarcane bagasse-derived biochar on heavy metal availability and microbial activity: A field study. Chemosphere 18: 303-461.
O'Connor, D., Peng, T., Zhang, J., Tsang, D. C. W., Alessi, D. S., Shen, Z., Bolan, N. S. and Hou, D. (2018) Biochar application for the remediation of heavy metal polluted land: A review of in situ field trials. Science of the Total Environment 162: 619-620.
Paranavithana, G. N., Kawamoto, K., Inoue, Y., Saito, T., Vithanage, M., Kalpage, C. S. and Herath, G. B. B. (2016) Adsoption of Cd^{2+} and Pb^{2+} ontococonut shell biochar and biochar-mixed soil. Environmental Earth Sciences 75: 470-484.
Rahimi, A., Abbaspour, A., Asghari, H. R. and Ghorbani, H. (2016) Adsorbption kinetics of some pollutants by two types of rice bran and leaf biochar. M.Sc. thesis. Agriculture College. Shahroud University of Technology.
Rashid, A., Naz, T., Iqbal, M. M., Akhtar, J., Saqib, M., Anwar-ul-Haq, H. M., Ullah, R., Kabir, S. and Ikram, Q. D. (2020) Influence of organic amendments on growth and lead uptake of spinach (*Spinacia oleracea* L.) grown in lead-contaminated soil. Environmental and Earth Sciences Research Journal 7: 53-61.
Ritchie, S. W., Nguyan, H. T. and Holaday, A. S. (1990) leaf Water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.
Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Adrees, M., Zia-ur-Rehman, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Qayyum, M. F. and Nawaz, R. (2018) Residual effects of biochar on growth, photosynthesis and cadmium uptake in rice (*Oryza sativa* L.) under Cd stress with different water conditions. Journal of Environmental Management 206: 676-683.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

Seregin, I. V. and Ivanov, V. B. (2001) Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. Russian Journal of Plant Physiology 48: 523-544.

Shoresh, M., Harman, G. E. and Mastouri, F. (2010) Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review of Phytopathology 48: 21-43.

Sohi, S. P., Krull, E., Lopez-capel, E. and Bol, R. (2010) A review of biochar and its use and function in soil. Advances in Agronomy 105: 47-82.

Surekha, C., Neelapu, N. R. R., Prasad, B. S. and Ganesh, P. S. (2014) Induction of defense enzymes and phenolic content by *Trichoderma viride* in *Vigna mungo* infested with *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. International Journal of AgriSience 4: 31-40.

Tanure, M. M. C., da Costa, L. M., Huiz, H. A., Fernandes, R. B. A., Cecon, P. R., junior, J. D. P. and da Luz, J. M. R. (2019) Soil water retention, physiological characteristic, and growth of maize plants in response to biochar application to soil. Soil and Tillage Research 192: 164-173.

van Duijnen, R., Uther, H., Hardtle, W., Temperton, V. and Kumar, A. (2021) Timing matters: Distinct effects of nitrogen and phosphorus fertilizer application timing on root system architecture responses. Plant-Environment Interactions 2: 194-205.

Vardhan, K. H., Kumar, P. S. and Panda, R. C. (2019) A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives. Journal of Molecular Liquids 290: 111-197.

Vareda, J. P., Valente, A. J. M. and Duraes, L. (2019) Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: A review. Journal of Environmental Management 246: 101-118.

Verheijen, F., Jeffery, S., Bastos, A. C., Van Der Velde, M. and Diafas, I. (2010) Biochar application to soils: A critical scientific review of effects on soil properties processes and functions. Joint Research Centre Scientific and Technical Reports.

Watanabe, T. (2002) Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphology and Key to Species. 2nd Ed. India: CRC press.

Wu, W., Yang, M., Feng, Q., McGrouther, K., Wang, H., Lu, H. and Chen, Y. (2012) Chemical characterization of rice straw-derived biochar for soil amendment. Biomass Bioenergy 47: 268-276.

Xu, C. H., Chen, Q., Xiang, H., Zhu Hua, S., Wang, Q., Zhu, D., Hong Huang, Y. and Zhang, Y. (2018) Effect of peanut shell and wheat straw biochar on the availability of Cd and Pb in a soil-rice (*Oryza sativa* L.) system. Environmental Science and pollution Research 25: 1147-1156.

Xu, C., Wen, D., Zhu, Q., Zhu, H., Zhang, Y. and Huang, D. (2017) Effects of peanut shell biochar on the Adsorption of Cd (II) by paddy soil. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 98: 413-419.

Zahangeer Alam, M., McGee, R., Hoque, M. D. A., Jalal Ahammed, Gh. and Carpenter-Boggs, L. (2019) Effect of arbuscular mycorrizal fangi, selenium and biochar on photosynthestic pigments and antioxidant enzyme activity under arsenic stress in mung bean (*Vigna radiata*). Frontiers in Physiology 1-13.

Zhang, G., Fukami, M. and Sekimoto, H. (2000) Genotypic differences in effects of cadmium on growth and nutrient compositions in wheat. Journal of Plant Nutrition 23: 1337-1350.

Zhang, X., Wang, H., He, L., et al. (2013) Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants. Environmental Science and Pollution Research 20: 8472-8483.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]

Effect of *Trichoderma* and biochar application on some morpho-physiological traits of sainfoin seedlings grown in soils containing heavy metals

Mohammadreza Asghari[1], Saeid Khomari[1*], Mehdi Davari[2]

[1]Department of Plant Production and Genetics Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[3] Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Univercity of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
(Received: 20/04/2022, Accepted: 03/12/2022)

Abstract

Amending biochar alone or with microbial inoculation, as a soil amendment, helps to reduce the toxicity of heavy metals in contaminated agricultural soils. On the other hand, the interaction of inoculation with microorganisms and the application of biochar on the absorption of lead and zinc and the growth and yield of plants are somewhat unclear. The objective of this greenhouse experiment was to explore the influences of the application of biochars (obtained from peanut shells and carrot pulps) and conidial suspension of Trichoderma fungi (Trichoderma harzianum Rifai-T22) on seedling growth and some physiological characteristics of sainfoin grown in the soil polluted with heavy metals Pb and Zn. The application of biochars and inoculation with Trichoderma fungus improved the growth parameters of sainfoin seedlings such as root length, plant height, fresh and dry leaf weight. Also, the synergy of these treatments caused an increase in the total protein content, the soluble sugars, the total flavonoids in roots and leaves, catalase and peroxidase activity and also the rate of seedling germination compared to the control treatment (no use of biochar and conidial suspension). Overall, the application of biochar and Trichoderma in soils contaminated with heavy metals caused enhanced growth of sainfoin seedlings by improving some physiological parameters in the leaves, increasing root growth, alleviating the oxidative stress-induced damage and thus possible improvement in water and nutrient uptake.

Keywords: Growth, Lead and Zinc, Oxidative stress, Photosynthesis, *Trichoderma harzianum*

Corresponding author, Email: saeid.khomari@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.14.4]