نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار/ جلد ۲۸ شماره ۱/ بهار ۱۳۹۷

نقش قارچ *Rhizophagus irregularis* در تعدیل جذب سرب توسط آفتابگردان

امیرحسین دانش‌فر[۱*]، ناصر علی‌اصغرزاد[۲]، شاهین اوستان[۳]، بهمن خوش‌رو[۱]

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۲۷

۱- به ترتیب کارشناسی ارشد و دانشجوی دکترای بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استاد شیمی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
*مسئول مکاتبه: Email: amirhossein.daneshfar@yahoo.com

چکیده

آلودگی خاک با فلزات سنگین از جمله سرب یکی از مشکلات زیست محیطی عمده در جوامع بشری است که علاوه بر کاهش عملکرد و کیفیت محصول، پایداری تولیدات کشاورزی را دچار مخاطره نموده و سلامتی موجودات زنده را به خطر می‌اندازد. در برخی موارد مشاهده شده که قارچ میکوریز با غیرمتحرک کردن فلزات سمی در خاک و اندام‌های خود، مانع از ورود آن‌ها به ریشه شده و یا این که با غیرمتحرک کردن آن‌ها در داخل ریشه، مانع از حرکت آن‌ها به بخش هوایی می‌شود. بذور آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) در گلدان‌های پلاستیکی با خاک استریل کشت شده و با قارچ *Rhizophagus irregularis* تلقیح گردیدند. سه سطح سرب شامل صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم (به ترتیب Pb_0، Pb_1 و Pb_2) از منبع نیترات سرب به خاک اضافه شد. نتایج نشان داد که در سطوح زیاد سرب، وزن خشک و ارتفاع گیاهان میکوریزی به طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی بیش‌تر بود. غلظت سرب بخش هوایی و فاکتور انتقال سرب در گیاهان میکوریزی به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی کم‌تر بود. غلظت سرب ریشه در سطوح Pb_1 و Pb_2 در تیمارهای میکوریزی به ترتیب ۰/۷۴۹ و ۱/۴۴۵ و در تیمارهای غیرمیکوریزی به ترتیب ۰/۴۹۲ و ۱/۱۳۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاهی بود.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، سرب، غیرمتحرک‌سازی، قارچ میکوریز، *Rhizophagus irregularis*

The Role of *Rhizophagus irregularis* to Alleviate Pb Absorption by Sunflower

Amir Hossein Daneshfar[1], Naser AliAsgharzad[2], Shahien Ostan[3], Bahman Khoshroo[1]

Received: May 23, 2017 Accepted: November 18, 2017

1-Respectively MSc and PhD. in Biology and Soil Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Iran.
2- Prof., Biology and Soil Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3- Prof., Soil Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
*Corresponding Author: Email: amirhossein.daneshfar@yahoo.com

Abstract

Soil pollution with heavy metals (HM) such as Pb in human societies is one of the major environmental problems that in addition to reducing the yield and product quality, threatens to endanger sustainable agricultural production and the health of organisms. In some cases it has been observed that fungus with stabilize the toxic metals in soil and prevent from entering the root or the stabilize them in the root, prevented them from moving to the shoot. In this study, seeds of sunflower (*Helianthus annuus* L. cv. Farrokh Hybrid) were grown in pots containing sterilized soil and inoculated with mycorrhizal fungus, *Rhizophagus irregularis*. Three levels of Pb including 0, 500 and 1000 mg Pb per kg soil (Pb_0, Pb_1 and Pb_2, respectively) as lead nitrate were added to the soil. The results showed that in high levels of Pb, dry weights as well as height of plants inoculated with *R. irregularis* increased significantly compared to the non-mycorrhizal plants. The Pb translocation factor and shoot Pb concentration of mycorrhizal plants were significantly lower than non-mycorrhizal ones. Pb root concentrations in Pb_1 and Pb_2 at mycorrhizal treatments was 0.749 and 1.445 respectively and in the non-mycorrhizal treatments was 0.492 and 1.138 milligrams per gram of dry matter, respectively.

Keywords: Immobilization, Mycorrhizal Fungi, , Lead, *Rhizophagus irregularis*, Sunflower

مقدمه

کشت گیاه و تولید محصول در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین همواره این نگرانی را به دنبال داشته است که این عناصر از طریق ریشه جذب شده و به بخش هوایی منتقل شوند و به دنبال آن، با تغذیه انسان و دام از بخش هوایی، خسارات جبران ناپذیری به آن‌ها وارد می‌شود. یکی از معضلات مطرح در مورد خاکها، آلودگی سربی می‌باشد (وانگ و همکاران ۲۰۰۷). سرب سی و ششمین عنصر فراوان پوسته زمین می‌باشد (براون و همکاران ۱۹۹۹) و به طور طبیعی در تمامی خاک‌ها حضور دارد (دای و همکاران ۲۰۰٤). مقدار آن در حدود ۲ تا ۲۰۰ میکروگرم بر گرم خاک با میانگین ۱٦ میکروگرم بر گرم می‌باشد (سودوا و وستکا ۲۰۰۷). نیمه عمر سرب در خاک ۷٤۰ تا ۵۹۰۰ سال تخمین زده شده است (آلووی ۱۹۹۷). آلودگی خاک‌ها به سرب یکی از مشکلات بزرگی است که کشورهای در حال توسعه و صنعتی با آن روبه‌رو هستند (کاباتا-پندیاس و پندیاس ۲۰۰۱). منابع آلوده کننده سرب خاک‌ها را می‌توان به چند گروه دسته بندی کرد: فعالیت‌های صنعتی مانند معادن و

تصفیه‌خانه‌ها، فعالیت‌های کشاورزی مانند کاربرد آفت-کش‌ها و کاربرد لجن فاضلاب و فعالیت‌های شهری مانند کاربرد سرب در بنزین و رنگ‌ها (شن و همکاران ۲۰۰۲).

حضور سرب در خاک‌ها تحت تأثیر سه فرایند اصلی می‌باشد: ۱- رسوب به عنوان فاز معدنی نسبتاً محلول ۲- جذب توسط بخش رس، اکسیدهای آهن و منگنز و کربنات‌ها ۳- تشکیل کمپلکس‌های نسبتاً پایدار با مواد آلی خاک (دیاس و همکاران ۱۹۹٦). محققان عقیده دارند که تحرک و زیست‌فراهمی سرب در خاک ممکن است به شکل‌های مختلف سرب و حلالیت آن‌ها، سطح ویژه خاک و ظرفیت تبادل کاتیونی بستگی داشته باشد (وانگ و همکاران ۲۰۰۷). در محیط خاک، تحرک و سرنوشت فلزات توسط توزیع آن‌ها بین فاز جامد و فاز محلول خاک تنظیم می‌شود (هیلدبرانت و همکاران ۲۰۰۷). در واقع مهم‌ترین فرایندهای شیمیایی که رفتار و زیست‌فراهمی فلزات سنگین را در خاک‌ها تحت تأثیر قرار می‌دهند آن‌هایی هستند که با جذب این فلزات از فاز مایع به فاز جامد در ارتباط می‌باشند (آلووی ۱۹۹۰). روش‌های مختلف برای ممانعت از حرکت این عناصر سمی از خاک یا ریشه به قسمت هوایی گیاه به کار گرفته شده است. در این میان استفاده از برخی میکروارگانیسم‌ها و به ویژه انواع همزیست چشم‌انداز خوبی ارائه کرده است.

همزیستی ریشه با قارچ‌های میکوریزی گاهی سبب تحرک بیش‌تر فلزات سنگین و انتقال آن‌ها به بخش هوایی شده است ولی در برخی موارد، قارچ با غیرمتحرک کردن فلزات سمی در خاک مانع از ورود آن‌ها به ریشه شده و یا این که با غیرمتحرک کردن آن‌ها در داخل ریشه، مانع از حرکت آن‌ها به بخش هوایی می‌شوند. غلظت بالای سرب در گیاهان فعالیت‌های متابولیکی از جمله فتوسنتز، عملکرد آنزیم‌ها و هورمون‌ها (به ویژه هورمون‌های رشد) را مختل می‌سازد (کوپر و کرونک ۲۰۰۵). در این رابطه به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های مهم، غیرمتحرک شدن یون فلز در خاک یا ریشه باشد (پورین و ریلیگ ۲۰۰۷). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار از راسته گلومرال[1] با ۷۰ درصد گیاهان همزیستی تشکیل می‌دهند (بیرو و تاکاس ۲۰۰۷). این قارچ‌ها در همزیستی گسترده با ریشه گیاهان، با تأمین عناصر معدنی و تعدیل تنش های محیطی، رشد آن‌ها را بهبود می‌بخشند و نقش کلیدی و مهمی در تسهیل جذب مواد غذایی در اکوسیستم‌های مختلف، به ویژه در سیستم‌های کشاورزی با ورودی کم، بازی می‌کنند (جانسا و همکاران ۲۰۰۸). با توجه به بیوماس قابل ملاحظه این قارچ‌ها در خاک، گفته می‌شود که درصد مهمی از محصولات فتوسنتزی گیاه بصورت بیوماس قارچی در خاک ظاهر می‌شود (ترسدر و کراس ۲۰۰٦). بر همکنش میان قارچ‌های AM و عناصری به جز فسفر، به ویژه فلزات سنگین، به دلیل آثار مثبت احتمالی این قارچ‌ها بر مقاومت گیاهان در مقابل سمیت این فلزات مورد مطالعه قرار گرفته است (دیاز و همکاران ۱۹۹٦). مکانیسم‌هایی که قارچ میکوریز آربوسکولار برای کاهش تنش فلزات سنگین در گیاهان اعمال می‌کنند شامل کی‌لیت شدن و غیرپویایی فلزات سنگین در میسلیوم‌های خارج ریشه‌ای، بهبود تغذیه معدنی به ویژه فسفر، تغییر pH ریزوسفر، تنظیم بیان ژن ناقل‌های فلزی و غیره می‌باشد (گنزالز-گوئرو و همکاران ۲۰۰۵). عوامل مختلفی بر همزیستی میکوریزی تأثیر می‌گذارند که یکی از این عوامل، آلودگی خاک به فلزات سنگین می‌باشد. قارچ می‌تواند تحت تأثیر فلزات سنگین قرار گرفته و به این ترتیب کلونیزاسیون قارچ‌های AM کاهش می‌یابد (کومن و همکاران ۱۹۹۰). گیلدون و تینکر (۱۹۸۳) مشاهده کردند که میزان کلونیزاسیون پیاز توسط قارچ AM با افزایش غلظت فلزات سنگین سرب، روی، مس و کادمیوم کاهش می‌یابد و از طرف دیگر مقاومت قارچ AM بومی خاک آلوده نسبت به گونه مشابه جداسازی شده از خاک غیرآلوده، در مقابل سمیت فلزات سنگین، بیش‌تر بود. دل-وال و همکاران (۱۹۹۹) مشاهده کردند که تعداد اسپورهای قارچ میکوریز آربوسکولار همزیست ذرت با

1-Glomeral

افزایش غلظت فلزات سنگین لجن فاضلاب کاهش می‌یابد و گونه‌های مختلف قارچ‌های AM، مقاومت متفاوتی در مقابل فلزات سنگین نشان می‌دهند. این واقعیت که فلزات سنگین موجب کاهش قابلیت جذب عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد و نمو طبیعی گیاهان می‌شوند، بیانگر اهمیت قارچ‌های مایکوریزا در برگرداندن شرایط خاک‌های آلوده به حالت طبیعی قابل بهره برداری است (جفریز و همکاران ۲۰۰۳). علیرغم این که نتایج در خاک-های آلوده به فلزات سنگین متفاوت و غیرمستقل از شرایط متعدد ذکر شده است، قارچ‌های AM قادر به تعدیل سمیت فلزات سنگین برای گیاهان می‌باشند (بیرو و تاکاس ۲۰۰۷). لذا هدف از این تحقیق بررسی تأثیر سطوح مختلف سرب بر میزان سرب جذب شده توسط گیاه آفتابگردان در همزیستی با قارچ *Rhizophagus irregularis* و نیز مقدار سرب تجمع یافته در ریشه آفتابگردان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

زادمایه قارچ AM

زادمایه قارچی *R. irregularis* (اخذ شده از دپارتمان اکولوژی میکروبی دانشگاه لوند سوئد)[2] به شکل کشت درون شیشه‌ای از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز دریافت شد.

انتخاب و آماده‌سازی خاک

خاک مورد نظر از ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه تبریز و از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری شد. بعد از هوا خشک کردن و عبور از غربال دو میلی-متری، ویژگی‌های مهم خاک، شامل بافت خاک به روش هیدرومتر (گی و بادر ۱۹۸٦)، pH گل اشباع، ECe (ریچاردز ۱۹٥٤)، درصد کربن آلی به روش والکلی-بلک اصلاح شده (نلسون و سامرز ۱۹۸۲)، مقدار پتاسیم قابل جذب با عصاره‌گیر استات آمونیوم (گوپتا ۲۰۰۰)، مقدار فسفر قابل جذب با عصاره‌گیر بی‌کربنات سدیم (اُولسن و سامرز ۱۹۸۲) و رطوبت ظرفیت مزرعه با استفاده از دستگاه صفحات فشار (کمپل و همکاران ۱۹۸٦) تعیین گردید.

آماده‌سازی خاک جهت کشت گلدانی

خاک مورد نظر به منظور کشت گیاه، پس از عبور از غربال چهار میلی‌متری در گونی‌های کنفی پر شد و پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر در اتوکلاو استریل شد.

اعمال سطوح سرب در خاک

سطوح سرب شامل سه سطح صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک استریل و از منبع $Pb(NO_3)_2$ اعمال گردید (شعبانی و همکاران ۲۰۱۳). برای ایجاد سطوح سرب ۳٦ کیلوگرم خاک استریل شده به سه قسمت تقسیم شده و به جز تیمار بدون سرب (شاهد)، در هر تیمار ۱۲ کیلوگرم خاک استریل شده بر روی صفحات پلاستیکی ضدعفونی شده پخش و مقدار نمک نیترات سرب لازم را در مقدار مشخصی آب مقطر برای رسیدن به رطوبت FC ۰/۸ حل کرده و به طور یکنواخت به خاک اسپری شد و ضمن اسپری به طور مرتب با بیلچه استریل به هم زده شد تا مخلوط یکنواخت و یکدستی حاصل شد و برای رسیدن به حالت تعادل بین فاز جامد و مایع به مدت ۱۵ روز در همین حال (با حفظ رطوبت FC ۰/۸) نگه‌داری شد (علی اصغرزاد و همکاران ۲۰۱۱). با توجه به غلظت‌های مختلف نیترات سرب به کار رفته، جهت یکسان‌سازی اثر نیترات، از نمک نیترات سدیم ($NaNO_3$) استفاده شد.

انتخاب و آماده‌سازی بذر جهت جوانه‌زنی

از بذر آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم تجاری هیبرید فرخ استفاده شد. بذرهای سالم و یکنواخت

[2] Microbial Ecology, Department of Biology, Lund University, Lund, Sweden

از ایستگاه تحقیقات کشاورزی شهرستان خوی تهیه شد. ابتدا بذور را به مدت ۲ ساعت در آب مقطر خیس کرده و سپس در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند (شعبانی و همکاران ۲۰۱۳). در نهایت بذرها ٤-۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شد.

کشت بذور آفتابگردان

دو کیلوگرم خاک استریل (حاوی سطوح سرب) در هر گلدان (گلدان‌ها قبلاً به مدت نیم ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر اتوکلاو شده بودند) ریخته شد و زادمایه قارچی (از کشت درون شیشه‌ای مخلوط شده با ۷۰ گرم ماسه شسته استریل) در پنج سانتی‌متری از سطح گلدان‌ها قرار داده شد سپس توسط اسپاتول در سطح خاک گلدان، شیاری به عمق حدوداً سه برابر عرض بذر ایجاد کرده و بذر در آن قرار گرفت. در مورد گیاهان شاهد غیرمیکوریزی، به همان مقدار محیط کشت فاقد قارچ مخلوط شده با ماسه شسته استریل اضافه گردید. در هر گلدان پنج بذر آفتابگردان کشت شد که در مرحله چهار برگی تُنک و در هر گلدان دو گیاهچه نگه‌داری شد. عناصر غذایی نیتروژن ($mg.kg^{-1}$ ۱۵۰ از منبع اوره) و پتاسیم ($mg.kg^{-1}$ ۱۰۰ از منبع سولفات-پتاسیم) بر اساس نتایج آزمون خاک و توصیه کودی منطقه برای گیاه آفتابگردان، به طور یکنواخت به خاک همه گلدان‌ها قبل از کشت افزوده و به خوبی مخلوط شد (ملکوتی ۱۳۷۹). رطوبت گلدان‌ها به روش توزین در FC ۰/۸ تا FC ۰/۹ تنظیم شد. گیاهان در شرایط فتوپریود ۱٦ ساعت روشنایی با نور فلورسنت در اتاق کشت قرار داده شدند. گیاهان در آستانه مرحله گل‌دهی برداشت شدند.

اندازه‌گیری غلظت سرب

از استاندارد ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب در لیتر برای تهیه سری استانداردهای ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم سرب در لیتر استفاده شد. پس از واسنجی دستگاه جذب اتمی با استانداردها، اندازه‌گیری با شعله آبی استیلن و هوا با دستگاه جذب اتمی مدل Shimadzu, AA-6300 انجام شد.

اندازه‌گیری غلظت سرب نمونه‌های گیاهی به روش تر سوزانی

نمونه‌ها بعد از خشک شدن، خرد شده و برای ایجاد نمونه‌ای یکنواخت از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شدند. برای اندازه‌گیری سرب، هضم نمونه‌های گیاهی به روش ترسوزانی انجام گرفت (والینگ و همکاران ۱۹۸۹). غلظت سرب در عصاره‌ها با دستگاه جذب اتمی قرائت گردید (طباطبایی ۱۳۹۲).

طرح آزمایشی و تجزیه آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش عبارتند از: سرب (در سه سطح صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) از منبع نیترات سرب و قارچ (در دو سطح شاهد بدون قارچ و قارچ *R. irregularis*). آزمون نرمال بودن توزیع داده ها و سپس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین آن‌ها با استفاده از نرم افزار MSTATC و رسم نمودارها با Excel انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات خاک مورد استفاده

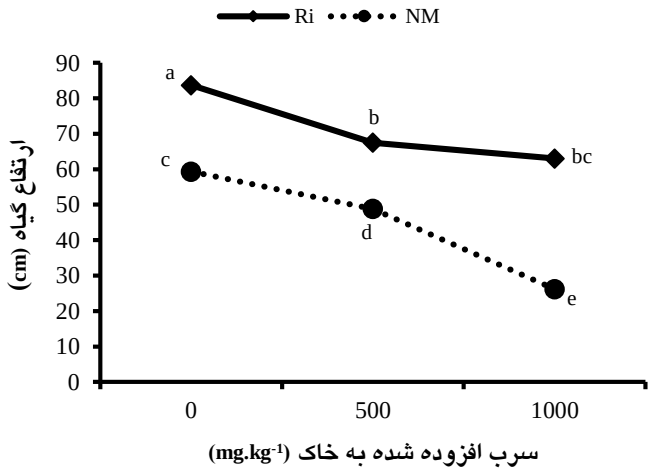
برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

فسفر قابل جذب (mg.kg^{-1})	پتاسیم قابل جذب (mg.kg^{-1})	کربن آلی٪	EC (dS.m^{-1})	pH	جرم مخصوص ظاهری (g.cm^{-3})	کلاس بافت خاک
٤/٤	١٨٢/٦	٠/٢٢١	١/٤	٧/٨١	١/٤	شن لومی

پارامترهای گیاهی

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و گونه قارچی بر ارتفاع، وزن مرطوب و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت معنی‌دار بود ($p<0.01$). با افزایش غلظت سرب خاک، پارامترهای فوق کاهش یافت به طوری که این کاهش بین سطوح سرب کاملاً معنی‌دار بود. در تمام سطوح سرب، گیاهان میکوریزی به طور معنی‌داری مقادیر بیش‌تری از نظر این پارامترها نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی دارا بودند. ارتفاع گیاهان میکوریزی ۳۷/۳ درصد بیش‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود (شکل ۱).



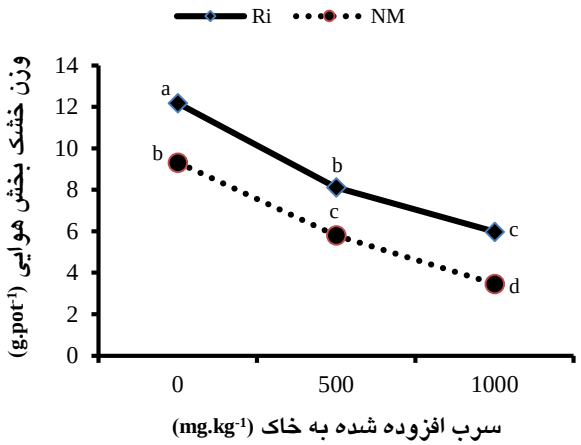
شکل ۱- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر ارتفاع گیاه

در مطالعه انجام شده توسط یاسین و همکاران (۲۰۱۲) بر روی نخود، مشاهده کردند که گیاهان میکوریزی به طور معنی‌داری بلندتر از گیاهان غیرمیکوریزی می‌باشند. نتایج نشان می‌دهد که عموماً کاهش طول ریشه و ساقه در گیاهان میکوریزایی کم‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی تحت آلودگی سرب است. بنابراین می‌توان رشد بهتر گیاهان میکوریزی را مربوط به بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و دسترسی آن به عناصر غذایی دانست، چون فسفر موجب رشد بیش‌تر گیاه میزبان می‌شود. از طرفی در گیاهان میکوریزی، هیف‌های قارچی قادرند با نگهداری سرب در خود و عدم انتقال آن به داخل سیستم گیاه باعث کاهش سمیت سرب شوند (هورست ۲۰۰٤).

وزن خشک بخش هوایی

اثر اصلی سطوح سرب و گونه قارچی بر وزن خشک بخش هوایی معنی‌دار بود ولی اثر متقابل سطوح سرب و قارچ میکوریزی بر وزن خشک بخش هوایی غیرمعنی‌دار بود ($p<0.05$). با افزایش غلظت سرب

خاک، وزن خشک بخش هوایی کاهش یافت. در سطوح Pb1 و Pb2، نسبت به شاهد بدون سرب، به ترتیب ۳۵/۲۲ و ٥٦/۰۷ درصد کاهش در وزن خشک بخش هوایی مشاهده شد. در تمام سطوح سرب، وزن خشک بخش هوایی گیاهان میکوریزی به طور معنی‌داری بیش‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود. وزن خشک بخش هوایی گیاهان میکوریزی ۲۹/۳٤ درصد بیش‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود (شکل ۲).

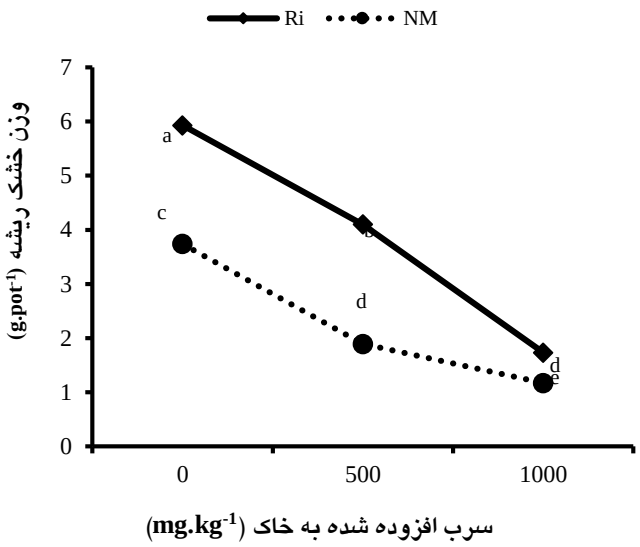


شکل ۲- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر وزن خشک بخش هوایی

تأثیر مثبت همزیستی قارچ *R. irregularis* با گیاه ذرت در خاک آلوده به سرب بر وزن خشک بخش هوایی توسط سودا و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شد. رایت و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که وزن خشک گیاه شبدر میکوریزایی در یک دوره رشد ۸۰ روزه دارای افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد غیرمیکوریزایی بود.

وزن خشک ریشه

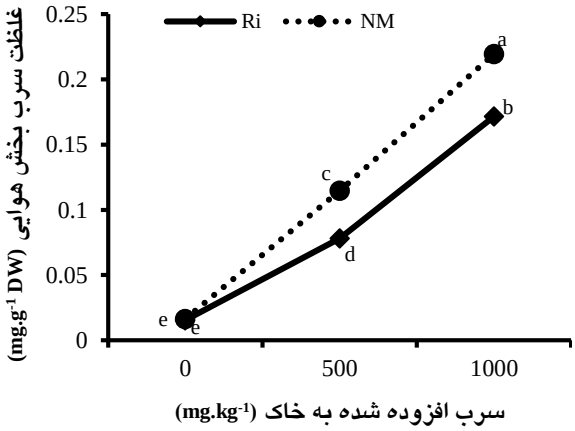
اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و گونه قارچی بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود ($p<0.05$). با افزایش غلظت سرب در خاک، در مقایسه با تیمار شاهد بدون سرب، وزن خشک ریشه کاهش معنی‌داری داشت. همچنین بین وزن خشک ریشه گیاهان در سطوح Pb_1 و Pb_2 اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. در سطوح Pb_1 و Pb_2، نسبت به شاهد بدون سرب، به ترتیب ۳۸/۰۵ و ۷۰/۰۱ درصد کاهش در وزن خشک ریشه مشاهده شد. در تمام سطوح سرب، وزن خشک ریشه گیاهان میکوریزی به طور معنی‌داری بیش‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود. وزن خشک ریشه گیاهان میکوریزی ٤۲/۱۷ درصد بیش‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود (شکل ۳).



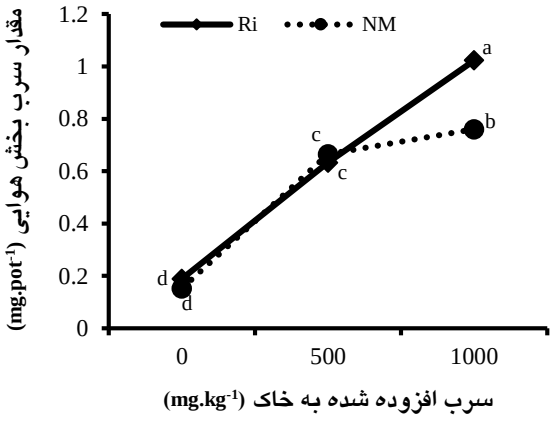
شکل ۳- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر وزن خشک ریشه

غلظت و مقدار سرب بخش هوایی

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و قارچ میکوریز بر مقدار سرب بخش هوایی معنی‌دار بود ($p<0.05$). با افزایش غلظت سرب خاک، غلظت سرب بخش هوایی افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری بین هر سه سطح مشاهده شد. کلونیزاسیون میکوریزی با قارچ Ri در سطوح Pb1 و Pb2، سبب کاهش معنی‌دار غلظت سرب بخش هوایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی گردید ولی در سطح Pb0 تفاوت معنی‌داری بین گیاهان میکوریزی و شاهد غیرمیکوریزی مشاهده نشد (شکل ٤). در بخش هوایی بیش‌ترین مقدار سرب در سطح Pb2 مشاهده شد و تفاوت بین هر سه سطح معنی‌دار بود. همچنین مقدار سرب بخش هوایی در سطح Pb2 در گیاهان میکوریزی، به طور معنی‌داری بیش‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود. در سطوح Pb0 و Pb1، تفاوت معنی‌داری بین گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی مشاهده نشد (شکل ٥).



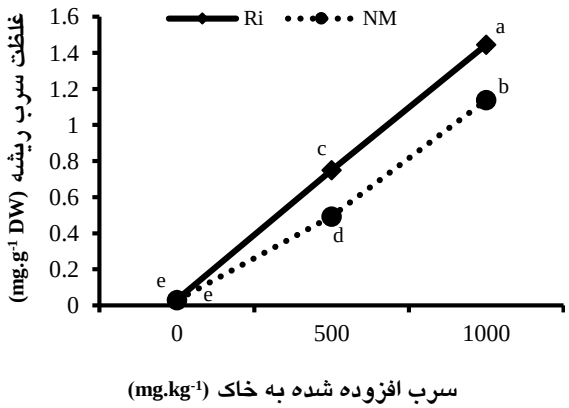
شکل ۴- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر غلظت سرب بخش هوایی



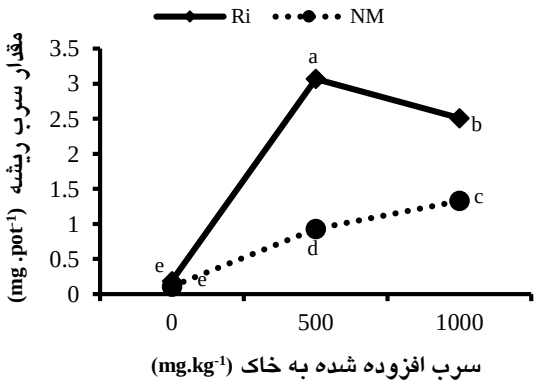
شکل ۵- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر مقدار سرب بخش هوایی

غلظت و مقدار سرب ریشه

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و قارچ میکوریز بر غلظت و مقدار سرب ریشه معنی‌دار بود ($p<0.05$). با افزایش غلظت سرب خاک، غلظت سرب ریشه افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری بین هر سه سطح مشاهده شد. کلونیزاسیون با قارچ Ri در سطوح Pb1 و Pb2، سبب افزایش معنی‌دار غلظت سرب ریشه شد ولی در سطح Pb0 تفاوت معنی‌داری بین گیاهان میکوریزی و شاهد غیرمیکوریزی مشاهده نشد (شکل ٦). بیش‌ترین مقدار سرب در ریشه، در سطح Pb1 مشاهده شد ولی تفاوت بین سطوح Pb1 و Pb2 معنی‌دار نبود. مقدار سرب ریشه در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز، به طور معنی‌داری بیش‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود ولی در سطح Pb0 تفاوت معنی‌داری بین گیاهان میکوریزی و شاهد غیرمیکوریزی مشاهده نشد (شکل ۷).



شکل ۶- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر غلظت سرب ریشه

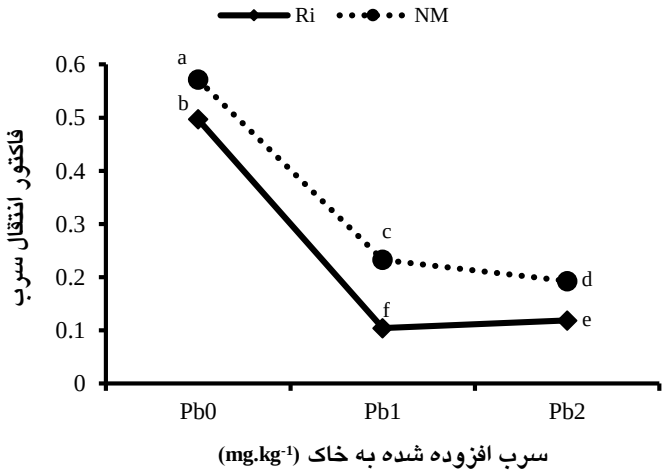


شکل ۷- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر مقدار سرب ریشه

مالکووا و همکاران (۲۰۰۳) مشاهده کردند، هنگامی که گیاهان ذرت در معرض محلول ۰/۰۱ میلی‌مولار سرب قرار می‌گیرند، تلقیح گیاهان با گونه قارچ *R. irregularis* سبب کاهش غلظت سرب در بخش هوایی و ریشه می‌شود. نتایج مشابه در گیاه ذرت در خاک آلوده به سرب توسط برنان و شِلی (۱۹۹۹) گزارش شده است.

فاکتور انتقال سرب از ریشه به بخش هوایی

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و گونه قارچی بر فاکتور انتقال سرب معنی‌دار بود ($p<0.05$). با افزایش غلظت سرب در خاک، فاکتور انتقال کاهش یافت و تفاوت بین سطوح سرب معنی‌دار بود. در تمام سطوح سرب، تلقیح گیاهان با قارچ میکوریز منجر به کاهش معنی‌دار فاکتور انتقال سرب، نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی شد. فاکتور انتقال سرب در گیاهان میکوریزی ۲۷/۸۱ درصد کم‌تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود (شکل ۸).

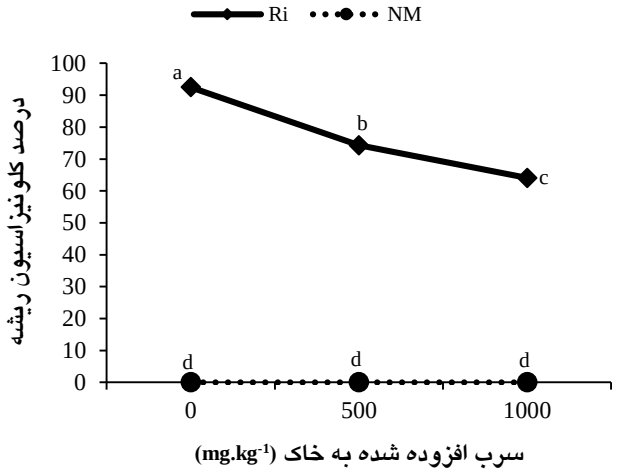


شکل ۸- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر فاکتور انتقال سرب از ریشه به بخش هوایی

نتایج ویسنهورن و همکاران (۱۹۹۵) در یک خاک آلوده به مس، سرب، روی، کادمیوم و منگنز بر گیاه ذرت نشان داد که انتقال مس و روی از ریشه به اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده با قارچ *R. irregularis* افزایش یافت ولی انتقال سرب و کادمیوم در گیاهان میکوریزی کاهش یافت.

کلونیزاسیون ریشه

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و گونه قارچ بر کلونیزاسیون ریشه معنی‌دار بود ($p<0.05$). با افزایش غلظت سرب خاک، درصد کلونیزاسیون ریشه کاهش یافت. کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه بین کلیه سطوح سرب معنی‌دار بود. که این کاهش در سطوح Pb1 و Pb2، نسبت به شاهد بدون سرب، به ترتیب ۱۹/۶۸و ۳۰/۷۷ درصد بود. در گیاهان غیرمیکوریزی هیچ کلونیزاسیونی مشاهده نشد (شکل ۹).



شکل ۹-- اثر برهمکنش سطوح سرب و گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بردرصد کلونیزاسیون ریشه.

بیرو و همکاران (۲۰۰۵) کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه جو را در خاک آلوده به ۱۳ فلز سنگین از جمله سرب گزارش کردند.

بحث

ارتفاع گیاهان با افزایش غلظت سرب خاک کاهش یافت. همچنین با افزایش غلظت سرب، کاهش معنی‌دار در وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه مشاهده گردید. این کاهش در وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه، ناشی از آسیب سرب به متابولیسم گیاهان، عمدتاً از طریق اختلال در فتوسنتز، عملکرد آنزیم‌ها، ایجاد تنش‌های اکسیداتیو و اختلال در جذب عناصر غذایی کم مصرف می‌باشد (کوپر و کرونگ ۲۰۰۵). شدت فتوسنتز گیاهان در شرایط آلودگی خاک با سرب کاهش می‌یابد، که این مسأله می‌تواند در نتیجه اختلال در انتقال الکترون، ممانعت از فعالیت آنزیم‌های چرخه کلوین و نیز جایگزینی سرب به جای اتم مرکزی کلروفیل (منیزیم) باشد (شارما و دوبای ۲۰۰۵). کاهش غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه گیاهان میکوریزی، با افزایش غلظت سرب خاک می‌تواند در ارتباط با کاهش همزیستی و نیز کاهش توسعه هیف‌های خارج ریشه‌ای و یا اختلال در انتقال فسفر به گیاه میزبان در اثر سمیت سرب باشد. پایین بودن مقدار سرب بخش هوایی گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی به این دلیل است که گیاهان میکوریزی دارای ماده خشک زیادی بوده و سرب در آن رقیق شده است (اثر رقت[۳]). دلایل احتمالی دیگر در این ارتباط، نگه‌داری فلز سنگین در ساختارهای قارچی اعم از وزیکول، آربوسکول و هیف در خاک و داخل ریشه است. همچنین تصور می‌شود، فلز سنگین توسط گرانول‌های پلی‌فسفات تثبیت می‌شود (چن و همکاران ۲۰۰۵) و یا توسط ترکیبات دیواره قارچ مثل کیتین، ملانین و گلومالین کمپلکس می‌شود (وگل و همکاران ۲۰۰۵). گنزالز-چاوز و همکاران (۲۰۰٤) مشاهده کردند که میسلیوم‌های خارج ریشه‌ای قارچ‌های AM قادر به جذب و تجمع سرب هستند. آنان دلایل را این گونه مطرح کردند:

[3] Dilution effect

۱-میسلیوم‌های خارج ریشه‌ای قارچ‌های AM خاک-های آلوده به سرب، سرب را در مواد موسیلاژی دیواره خارجی هیف‌ها و همچنین در سیتوپلاسم هیف انباشته می‌کنند.

۲- تجمع سرب اساساً با آهن موجود در مواد موسیلاژی دیواره خارجی هیف‌ها در ارتباط است. همچنین مشاهده شد که با افزایش غلظت سرب در خاک تولید گلومالین در خاک و ریشه تیمارهای میکوریزی و غیرمیکوریزی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که استفاده از *R. irregularis* نسبت به شاهد بدون میکوریز، از لحاظ تأثیر بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده مثبت ارزیابی شد. تلقیح ریشه گیاهان با قارچ میکوریز می‌تواند تحمل آن‌ها را به سمیت سرب بهبود بخشد، زیرا رشد و عملکرد گیاهان میکوریزی در سطوح سرب متناظر بهتر از گیاهان غیرمیکوریزی بود. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک، در تیمارهای میکوریزی نسبت به تیمارهای غیرمیکوریزی، مقدار سرب غیرمتحرک شده توسط *R. irregularis* در خاک و ریشه افزایش یافت. به نظر می رسد همزیستی این گیاه با قارچ *R. irregularis* سبب غیر متحرک شدن سرب شده است، در نتیجه انتقال به بخش هوایی که بخش خوراکی گیاه آفتابگردان است کمتر شده است. لذا کشت این گیاه در مناطق آلوده به فلزات سنگین همراه با میکورایزایی کردن آن به بهبود کیفیت بخش هوایی می‌انجامد.

منابع مورد استفاده

Aliasgharzad N, Molaei A and Oustan S. 2011. Pollution Induced Community Tolerance (PICT) of Microorganisms in Soil Incubated with Different Levels of PB. World Academy of Science, Engineering and Technology, 60:1189-1193.

Alloway BJ. 1997. Heavy metal in soils. Blackie and Son, Ltd. Glasgow and London. 339 Pages.

Biro I and Takacs T. 2007. Effects of *Glomus mosseae* strains of different origin on plant macro- and micronutrient uptake in Cd-polluted and unpolluted soils. Acta Agronomica Hungarica, 55: 183-192.

Biró B, Posta K, Füzy A, Kádár I and Németh T. 2005. Mycorrhizal functioning as part of the survival mechanisms of barley (*Hordeum vulgare* L) at long-term heavy metal stress. Acta Biologica Szegediensis, 49: 65-67.

Brennan MA and Shelley ML. 1999. A model of the uptake, translocation, and accumulation of lead (Pb) by maize for the purpose of phytoextraction. Ecological Engineering, 12: 271-297.

Campbell GS, Jackson RD, Mortland MM, Nielsen DR and Klute A. 1986. Methods of Soil Analysis, Part 1 (Physical and Mineralogical Methods). Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin USA.

Chen X, Wu C, Tang J and Hu S. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. Chemosphere, 60: 665-671.

Dai J, Becquer T, Rouiller H, Reversat G, Bernhard-Reversat F and Lavelle P. 2004. Influence of heavy metals on C and N mineralization and microbial biomass in Zn-, Pb-, Cu-, and Cd-contaminated soils. Applied Soil Ecology, 25: 99-109.

Del Val C, Barea JM and Azcón-Aguilar C. 1999. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. Applied and Environmental Microbiology, 65: 718-723.

Díaz G, Azcón-Aguilar C and Honrubia M. 1996. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of Lygeum spartum and Anthyllis cytisoides. Plant and Soil, 180: 241-249.

Gee GW and Bauder JW. 1986. Particle-size analysis. Pp. 383-411. In: Klute A (eds). Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical Methods. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.

Gildon A and Tinker PB. 1983. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants, The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytologist, 95: 247-261.

González-Chávez MC, Carrillo-González R, Wright SF and Nichols KA. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. Environmental Pollution, 130: 317-323.

Gupta PK. 2000. Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis. Agrobios, New Delhi, India.

Hildebrandt U, Regvar M and Bothe H. 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. Phytochemistry, 68: 139-146.

Horst V. 2004. Further root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in already mycorrhizal plants in suppressed after a critical level of root colonization. Journal of Plant Physiology, 161: 339-341.

Jansa J, Smith FA and Sally E. 2008. Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi, New Phytologist, 177: 779-789.

Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, Turnau K and Barea JM. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils, 37: 1-16.

Kabata-Pendias A and Pendias H, 2001. Trace Elements in Soils and Plants. 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Koomen I, McGrath SP and Giller KE. 1990. Mycorrizal infection of clover is delayed in soils contaminated with heavy metals from past sewage sludge applications. Soil Biology and Biochemistry, 22: 871-873.

Küpper H and Kroneck PMH. 2005. Heavy metal uptake by plants and cyanobacteria. Pp. 97-142. In: Sigel A, Sigel H, Sigel RKO (eds). Metal ions in biological systems. Marcel Dekker Inc., New York.

Malakoti M J. 2000. Optimum use of fertilizers recommendation for crops and horticulture. Technical Publication No. 200, Soil and Water Research Institute, publication of agricultural education.

Malcová R, Vosátka M and Gryndler M. 2003. Effects of inoculation with *Glomus intraradices* on lead uptake by *Zea mays* L. and *Agrostis capillaris* L. Applied Soil Ecology, 23: 55-67.

Nelson DW and Sommers LE. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. Pp. 539-579. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR (eds). Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA.

Olsen SR and Sommers LE. 1982. Phsphorus. Pp. 403-430. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR (eds). Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA.

Purin S and Rillig MC. 2008. Immuno-cytolocalization of glomalin in the mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. Soil Biology and Biochemistry, 40: 1000-1003.

Shaabani ZV, Aliasgharzad N and Oustan S. 2013. Glomalin production by two glomeral fungi in symbiosis with corn plant under different Pb levels. International Journal of Agriculture: Research and Review, 3: 854-863.

Sharma P and Dubey RS. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, 17: 35-52.

Shen ZG, Li XD, Wang CC, Chen HM and Chua H. 2002. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. Journal of Environmental Quality, 31: 1893-1900.

Sudová R and Vosátka M. 2007. Differences in the effects of three arbuscular mycorrhizal fungal strains on P and Pb accumulation by maize plants. Plant and Soil, 296: 77-83.

Tabatabai SJ. 2014. Principles of Plants Mineral Nutrition. Tabriz University Press.

Treseder KK and Cross A. 2006. Global distributions of arbuscular mycorrhizal fungi. Ecosystems, 9: 305-316.

Vogel-Mikuš K, Drobne D and Regvar M. 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress Thlaspi praecox Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. Environmental Pollution, 133: 233-242.

Waling I, Vark WV, Houba VJG and Vanderlee JJ. 1989. Soil and Plant Analysis, a series of syllabi. Part 7. Plant Analysis Procedures. Wageningen Agriculture University, The Netherland.

Weissenhorn I, Leyval C, Belgy G and Berthelin J. 1995. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. Mycorrhiza, 5: 245-251.

Wong CC, Wu SC, Kuek C, Khan AG and Wong MH. 2007. The role of mycorrhizae associated with vetiver grown in Pb-/Zn-contaminated soils: Greenhouse study. Restoration Ecology, 15: 60-67.

Wright SF, Starr JL and Paltineanu, IC. 1999. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. Soil Science Society of America Journal, 63: 1825-1829.

Yaseen T, Burni T and Hussain F. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on nutrient uptake, growth and productivity of chickpea (*Cicer arietinum*) varieties. International Journal of Agronomy and Plant Production, 3: 334-345.