Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 48, No 3, Autumn 2017 (685-693)
DOI: 10.22059/ijfcs.2017.214411.654166

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۶ (ص ۶۹۳-۶۸۵)

ارزیابی تأثیر قارچ *Glomus intraradices* بر ویژگی‌های کمی، کیفی گندم در شرایط تنش نیکل

علی حیدریان[۱]، حمیدرضا توحیدی مقدم[۲*] و پورنگ کسرائی[۲]
۱ و ۲. کارشناسی ارشد و استادیار، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، ورامین، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱)

چکیده

به منظور بررسی نقش قارچ قارچریشه (میکوریز) در کاهش خطر آلودگی فلز سنگین نیکل آزمایشی در سال ۱۳۹٤ در گلخانه‌ای در شهر ورامین روی گندم رقم SW انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با چهار سطح نیکل (۰، ٦۰، ۱۲۰و ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و دو سطح قارچ قارچریشه شامل (کاربرد و بدون کاربرد قارچ قارچریشه *Glomus intraradices*) در سه تکرار اجراء شد. نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد، تأثیر کاربرد نیکل بر همهٔ صفات مورد بررسی معنی‌دار است. افزایش غلظت نیکل سبب کاهش ارتفاع گیاه، وزن خشک بوته، وزن خشک ریشه و محتوای سبزینهٔ (کلروفیل) کل شد. درحالی‌که نیکل سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوای نیکل در اندام‌های هوایی و ریشه‌های گندم شد. همچنین کاربرد قارچریشه سبب افزایش ارتفاع گیاه، وزن خشک بوته، وزن خشک ریشه، محتوای سبزینهٔ کل و محتوای نیکل ریشه شد و همچنین سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوای نیکل در اندام‌های هوایی بوته‌های گندم شد. به‌طور کلی این آزمایش نشان داد، کاربرد قارچ قارچریشه می‌تواند تأثیر مثبتی بر رفع تنش ناشی از فلز سنگین نیکل داشته باشد و می‌تواند سبب کاهش آسیب تنش اکسایشی (اکسیداتیو) در گندم شود.

واژه‌های کلیدی: کاتالاز، گندم، قارچ قارچریشه، نیکل.

Effect of *Glomus intraradices* fungus on quantitative, qualitative traits of wheat under nickel stress

Ali Heydarian[1], Hamid Reza Tohidi Moghadam[2*] and Pourang Kasraie[3]
1, 2. M. Sc. Student and Assistant Professor, Department of Agronomy, Islamic Azad University, Varamin, Varamin-Pishva Branch, Iran
(Received: Sep. 19, 2016 - Accepted: Nov. 21, 2016)

ABSTRACT

In order to study effect of mycorrhiza fungi application to mitigate adverse effects of nickel (Ni), a greenhouse experiment was conducted in Varamin, Iran during 2015 growing season on wheat. The experiment was conducted as factorial based on a completely randomized design, with four levels of nickel (0, 60, 120 and 180 mg per kg of soil) and two levels of mycorrhiza fungi application (with and without mycorrhiza fungi application), in three replications. The results showed that the effect of nickel treatment was significant for all measured experimental traits. The increase of nickel contamination caused a significant decrease of plant height, total dry weight per plant, root dry weight per plant and total chlorophyll content whereas, increased catalase enzyme activity and the accumulation of nickel in leaves and roots. Also mycorrhiza fungi application increased plant height, total dry weight per plant, root dry weight per plant, total chlorophyll content and the accumulation of nickel in roots whereas, decreased catalase enzyme activity and the accumulation of nickel in shoots. Generally the results of the present study indicated that mycorrhiza fungi application reduces the harmful effects of nickel stress and decreased oxidative stress damage in wheat plant.

Keywords: Catalase enzyme, mycorrhiza fungi, nickel, wheat.

* Corresponding author E-mail: hamid_tohidi2008@yahoo.com

مقدمه

نیکل به‌عنوان یکی از ریز مغذی‌های ضروری گیاهان نقش مهمی در سوخت‌وساز (متابولیسم) اوره، تثبیت نیتروژن و نمو دانه ایفا می‌کند (Yusuf *et al*., 2011). در سال‌های اخیر آلودگی خاک به نیکل در سراسر جهان گزارش شده است (Nagajyoti *et al*., 2010). فزونی نیکل یکی از مهم‌ترین عامل‌هایی است که سبب کاهش رشد در خاک‌های آلوده به این فلز سنگین می‌شود. سمیت نیکل به صورت عمومی و اختصاصی است. سمیت عمومی آن همسان سمیت دیگر فلزهای سنگین است و بر گستره‌ای از فرآیندهای سوخت‌وسازی گیاه تأثیر می‌گذارد (Maksymiec, 1997). از بارزترین اثر مسمومیت گیاه با این فلزها می توان به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن اشاره کرد که در آسیب رسانی به غشاهای پلاسمایی، اسیدهای نوکلئیک و رنگدانه‌های کلروپلاستی نقش به سزایی دارند (Juknys *et al*., 2012; Agrawal *et al*., 2013). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن ممکن است در نتیجه نبود تعادل بین تولید آن‌ها و فعالیت سامانهٔ پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان) ایجاد شود. سامانهٔ پاداکسندهٔ یاخته شامل ترکیب‌های آنزیمی مانند کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و ترکیب های غیر آنزیمی از جمله گلوتاتیون[1] و کاروتنوئیدها[2] است (Srivastava *et al*., 2004; Zhao *et al*., 2011).

زدودن فلزهای سنگین از خاک‌های آلوده با روش های سنتی فیزیکی و شیمیایی ناکارآمد و بسیار پرهزینه است. بنابراین تلاش‌هایی برای ایجاد فناوری های مؤثر و ارزان برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزهای سنگین انجام شده است.

همزیستی بین گیاهان و قارچریشه (میکوریز) یکی از گسترده‌ترین همزیستی‌های دو سویه بین گیاهان و ریزسازواره‌های[3] خاک است. همزیستی این قارچها با گیاهان منجر به بهبود جذب مواد غذایی از جمله فسفر ، نیتروژن و ریز مغذی‌ها می‌شود (Javaid, 2009). قارچ‌های قارچریشه نه تنها برای جذب مواد غذایی به میزبان کمک می‌کند بلکه تحمل گیاه به عامل‌های محیطی غیر زیستی مانند تنش فلزهای سنگین را بهبود می‌بخشند (Jahromi *et al*., 2008). این قارچها از راه اتصال فلز سنگین به کیتین[4] دیوارهٔ یاخته (Hildebrandt *et al*., 2007) و ترشح گلومالین[5] (Gonzalez-Chavez *et al*., 2004) غلظت فلز سنگین را در محل کاهش می‌دهند و از راه همزیستی با گیاهان برای انباشت فلزهای سنگین در ریشهٔ گیاهان به شکل غیر سمی شرکت می‌کنند (Joner & Leyval, 1997). بنابراین بررسی تأثیر فلزهای سنگین بر گیاهان از یک سو برای شناسایی گیاهان مقاوم و کاربرد آن‌ها در پاکسازی خاک‌های آلوده و از سوی دیگر به منظور ایجاد نژادگان (ژنوتیپ)های مقاوم ضروری به نظر می‌رسد. به همین منظور در این تحقیق تأثیر قارچ‌های قارچریشه در شرایط غلظت‌های مختلف نیکل بر برخی از شاخص‌های کمی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گندم بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۴ در شرایط گلخانه‌ای در شهر ورامین به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با چهار سطح نیکل (۰، ۶۰، ۱۲۰و ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و دو سطح قارچ قارچریشه شامل (کاربرد و بدون کاربرد قارچ قارچریشه *Glomus intraradices*) در سه تکرار اجراء شد. در آغاز خاک مورد استفاده در این آزمایش برای حذف همهٔ اسپورها[6] و یا زادمایه (پروپاگول)های[7] قارچی با کاربرد اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجهٔ سلسیوس و فشار ۲۰ اتمسفر توسط بخار آب به مدت یک ساعت ضد عفونی شد. آن‌گاه نسبت به آلوده کردن خاک تیمارهای مختلف با فلز سنگین نیکل اقدام به عمل آمد. بدین صورت که کلرید نیکل به میزان یادشده کامل با مقدار خاک لازم برای هر گلدان (۱۰ کیلوگرم) مخلوط شد.

1. Glutathione
2. Carotenoids
3. Microorganisms
4. Chitin
5. Glomalin
6. Spores
7. Propagules

به عنوان مثال برای تیمار ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۰/۶ گرم کلرید نیکل با ۱۰ کیلوگرم خاک مخلوط شد. پس از این مرحله نسبت به اعمال تیمار دوم یعنی قارچ قارچریشه اقدام شد. بدین منظور از مایهٔ تلقیح قارچ *Glomus intraradices* (تهیه‌شده از شرکت زیست فناور توران، سمنان) استفاده شد. میزان ۱۰۰ گرم مایهٔ تلقیح قارچی با غلظت حدود ۲۵۰ زادمایه در سانتی‌متر مکعب به صورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی ۲ سانتی‌متر در سطح خاک قرار داده شد و سپس ۱۵ عدد بذر گندم رقم SW که به صورت سطحی ضدعفونی شده بودند در سطح آن قرار داده شدند و آن‌گاه با خاک پوشانده شدند. آبیاری گلدان‌ها تا انتهای فصل رشد به‌طور مرتب تا رسیدن رطوبت خاک به ظرفیت زراعی صورت گرفت. در مرحلهٔ استقرار کامل تنها پنج گیاه در هر گلدان نگه داشته شد. در انتهای فصل رشد سه بوته به‌صورت تصادفی از هر گلدان برداشت شد و ارتفاع کل این بوته‌ها اندازه‌گیری و میانگین سه بوته به عنوان ارتفاع بوته‌های آن گلدان ثبت شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه، در آغاز اندام‌های هوایی از محل طوقه از ریشه‌ها جدا شدند. ریشه‌ها با آب به‌کلی شسستو داده شدند و پس از قرار دادن آن‌ها در پاکت کاغذی به‌طور جداگانه، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجهٔ سلسیوس در آون خشک شدند. وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه‌های خشک‌شده بر حسب گرم ثبت شد. میزان سبزینهٔ (کلروفیل) برگ نیز با دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) به روش Arnon (1949) اندازه‌گیری شد. به منظور محاسبهٔ فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ، نمونه‌های برگی پس از شستشو با آب مقطر بی‌درنگ در محلول بافر فسفات- تریس ۰/۱۶ مول (اسیدیتهٔ ۷/۵) عصاره‌گیری شدند. سپس هم حجم بافر استفاده‌شده آنزیم هضم‌کنندهٔ دیواره[1] اضافه شد تا فرآیند هضم غشای و دیواره‌های یاخته‌ای صورت گیرد. در انتها ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره برای سنجش پروتئین برداشته شد و میزان پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. در باقی‌ماندهٔ محلول استخراجی بالا فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Paglia (1997) تعیین شد. در این روش شدت حذف آب اکسیژنه به عنوان بستره (سوبسترا) ارزیابی شد. بافر زمینه برای انجام کار حاوی ۰/۱۷ میلی‌مول فسفات دی سدیک با اسیدیته ۷/۵ به همراه ۰/۱۵ مول EDTA، ۰/۱۱ میلی‌مول کلرید منیزیم در نظر گرفته شد (Lawlor & Leach, 1985). به‌منظور تعیین و اندازه‌گیری میزان تجمع نیکل در بخش‌های هوایی و ریشهٔ گیاه، مواد خشک گیاهی در اسید نیتریک ۷۰ درصد تجزیه شد و پس از آن به مدت سه ساعت در حمام شنی با دمای ۹۰ درجهٔ سلسیوس قرار داده شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها، ۱ تا ۲ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۳۷ درصد در دمای اتاق به نمونه‌ها اضافه شد و دوباره در دمای ۹۰ درجهٔ سلسیوس قرار گرفت تا اینکه محلول شفافی به دست آمد. حجم هر نمونه، با آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و غلظت نیکل موجود در این محلول‌ها، توسط دستگاه طیف‌سنج اتمی تعیین شد (Ghasemi *et al.*, 2009).

داده‌های آزمایشی با کاربرد نرم‌افزار SAS تجزیهٔ واریانس شد (SAS Institute, 2002). به‌منظور مقایسهٔ میانگین‌ها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر نیکل بر همهٔ صفات مورد بررسی در سطح ۱ درصد و تأثیر قارچ قارچریشه بر ارتفاع گیاه و وزن خشک ریشه در سطح ۵ درصد بر دیگر صفات مورد بررسی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). همچنین اثر متقابل نیکل و قارچریشه بر فعالیت آنزیم کاتالاز، محتوای نیکل ریشه و اندام‌های هوایی معنی‌دار شد، اما روی دیگر صفات مورد بررسی معنی‌دار نشد (جدول ۱).

ارتفاع گیاه

با توجه به جدول مقایسهٔ میانگین‌های اثر ساده (جدول۲) مشاهده می‌شود که بالاترین ارتفاع گیاه متعلق به تیمار بدون کاربرد نیکل بود. کاربرد سطوح مختلف نیکل سبب کاهش ارتفاع گیاه شد به‌طوری‌که

1. Digitonin

کمترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار کاربرد نیکل با غلظت ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به دست آمد (جدول ۲). فلزهای سنگین بر فرآیندهای هم‌ایستایی[1] مانند جذب آب، انتقال، تعرق و سوخت‌وساز مواد غذایی (Poschenrieder & Barcelo, 2004) و جذب کلسیم، منیزیم، پتاسیم و فسفر تأثیر می‌گذارند و از این طریق رشد و زیست‌تودهٔ[2] گیاه را کاهش می‌دهند (Benavides *et al*., 2005). در پژوهشی مهار رشد ساقه در گندم تحت تیمار غلظت ۰/۲ میلی‌مولار نیکل توسط Gajewska *et al.* (2006) مشاهده شد. همچنین با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که بالاترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار کاربرد قارچریشه است. در این پژوهش افزایش ارتفاع گیاه در تیمار کاربرد قارچریشه می‌تواند ناشی از تأثیر بیشتر این قارچ در توسعهٔ سطح پشتی نوک ریشه که جایگاه اصلی طویل شدن یاخته و جذب عنصرهای غذایی است و در نهایت افزایش فراهمی آب و عنصرهای غذایی به منظور افزایش تقسیم یاخته‌ای ساقه و افزایش ارتفاع گیاه باشد (Neumann & George, 2005).

وزن خشک اندام‌های هوایی

بیشترین وزن خشک اندام‌های هوایی متعلق به تیمار بدون کاربرد نیکل بود (جدول ۲). کاربرد سطوح مختلف نیکل سبب کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی شد به‌طورکه کمترین وزن خشک اندام‌های هوایی مربوط به تیمار کاربرد نیکل با غلظت ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به دست آمد (جدول ۲). به نظر می‌رسد محتوای پایین سبزینهٔ گیاهچه‌های گندم باعث کاهش زیست‌تودهٔ گیاه در شرایط تنش ناشی از فلز سنگین نیکل شده است. نتایج تحقیقات دیگر محققان نشان داده است، فلزهای سنگین با کاهش میزان سبزینه در برگ‌ها و کاهش نورساخت (فتوسنتز) موجب کاهش رشد و زیست‌تودهٔ گیاهان می‌شود (Ghassemi *et al*., 2009; Pakdaman *et al*., 2013). اگرچه کاربرد قارچ قارچریشه سبب افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی شد، اختلاف آن از لحاظ آماری با تیمار بدون کاربرد قارچریشه از لحاظ آماری معنی‌دار نشد (جدول ۲). قارچ‌های قارچریشه می توانند سرعت و میزان نورساخت را در گیاه همزیست افزایش دهند. این افزایش به‌احتمال در نتیجهٔ بهبود شرایط تغذیه‌ای و افزایش جذب آب در گیاه میزبان است (Demir, 2004). بنابراین‌شرایط با فراهمی آب و عنصرهای غذایی و افزایش تولید مواد نورساختی افزایش زیست‌توده قابل انتظار خواهد شد. نتایج تحقیقات Goussous & Mohammad (2009) نشان داد، قارچ *G. Intraradices* بر جذب مواد غذایی پیاز اثر داشته و باعث افزایش رشد پیاز می‌شود. دلیل بدون تفاوت معنی‌دار بین سطوح کاربرد و بدون کاربرد قارچریشه می‌تواند ناشی از این واقعیت باشد که بخشی از افزایش کربن تثبیت‌شدهٔ به‌دست‌آمده از کاربرد قارچریشه توسط گیاه صرف تأمین کربن مورد نیاز قارچ قارچریشه می‌شود. بنابراین گیاه همزیست با قارچریشه انرژی بیشتری نسبت به شاهد مصرف می‌کند.

جدول ۱. جدول تجزیهٔ واریانس ویژگی‌های مورد بررسی گندم در شرایط تنش نیکل و قارچ قارچریشه

Table 1. Analysis of variance on wheat attributes affected by nickel stress condition and mycorrhiza fungi

S.O.V	d.f	MS						
		Plant height	Shoot Dry weight	Root Dry weight	Total chlorophyll	Catalase enzyme activity	Shoot Ni concentration	Root Ni concentration
Nickel	3	8.24^{**}	144.78^{**}	0.672^{**}	0.259^{**}	16030.35^{**}	45.03^{**}	373.99^{**}
Mycorrhiza	1	3.37^{*}	166.84^{**}	0.170^{*}	0.069^{**}	2338.20^{**}	0.456^{**}	3.88^{**}
Nickel* Mycorrhiza	3	0.04^{ns}	3.75^{ns}	0.004^{ns}	0.0002^{ns}	280.25^{*}	0.054^{**}	0.478^{**}
Error	16	0.41	11.56	0.027	0.0007	53.98	0.0002	0.002
C.V (%)		1.03	14.03	21.66	1.46	5.35	0.435	0.392

*, **, ns: significant at 0.05, 0.01 percentage and no significant. ٭، ٭٭ و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵، ۱ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار.

1. Hemostasis
2. Biomass

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین‌های اثر اصلی تنش نیکل و قارچ قارچریشه روی برخی از ویژگی‌های گندم

Table 2. Mean comparison of main effects of nickel stress and mycorrhiza fungi on some attributes of wheat

Treatment	Plant height (cm)	Shoot Dry weight (g)	Root Dry weight (g)	Total Chlorophyll (mg. g.$^{-1}$FW)	Catalase enzyme activity (ΔA mg pro.min^{-1})	Shoot Ni concentration (mg.g-^{1}DW)	Root Ni concentration (mg.g-^{1}DW)
Nickel concentration							
0	63.65a	29.81a	1.22a	2.118a	74.22d	0.008d	0.011d
60	62.10b	26.58a	0.801b	1.868b	116.63c	3.135c	13.32c
120	61.65bc	21.67b	0.576c	1.721c	170.59b	5.45b	15.86b
180	60.86c	18.83b	0.473c	1.646d	187.30a	6.04a	17.22a
Mycorrhiza							
-	61.69b	21.58b	0.685b	1.785b	147.06a	3.79a	11.20b
+	62.44a	26.86a	0.854a	1.892a	127.31b	3.52b	12.00a

میانگین‌های ارائه‌شده در هر ستون که حرف‌های مشترک دارند، از نظر آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Treatment means followed by the same letter within each column are not significantly different ($P < 0.05$) according to Duncan's Multiple Range test.

وزن خشک ریشه

بیشترین وزن خشک ریشه متعلق به تیمار بدون کاربرد نیکل بود (جدول ۲). کاربرد سطوح مختلف نیکل سبب کاهش وزن خشک ریشه شد به‌طوری‌که کمترین آن مربوط به تیمار کاربرد نیکل با غلظت ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود هر چند که اختلاف آن از لحاظ آماری با تیمار کاربرد نیکل با غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم خاک از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج تحقیقات محققان نشان می‌دهد، وزن خشک ریشه‌ها به سمیت فلزهای سنگین حساس‌تر از اندام‌های هوایی است. در همین رابطه نتایج تحقیقات نشان داده است، فلز سنگین کادمیوم باعث کاهش زیست‌تودهٔ ساقه و ریشه در گیاه *Pisum sativum* می‌شود (Rivera Beceerril, 2002). بالاترین وزن خشک ریشه مربوط به سطح کاربرد قارچریشه بود (جدول۲). همزیستی قارچریشه‌ای به عنوان کلید رشد و بهبود گیاه در محیط‌های در شرایط تنش شناخته شده است (Koves-Pechy *et al*., 1999). قارچ‌های قارچریشه با بهبود تغذیه، در دسترس قرار دادن آب و کاهش تراکم خاک، پایداری و رشد گیاه را افزایش می‌دهند (Gaur & Adholeya, 2004). بنابر نتایج این تحقیق Abdel Latef (2011) گزارش کرده است که همزیستی گیاه فلفل با قارچ *G. mosseae* باعث افزایش وزن خشک ریشه در گیاهان قارچریشه‌ای در مقایسه با گیاهان غیر قارچریشه‌ای می‌شود که این موضوع را به افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول و میزان الکترولیت‌ها در ریشه‌ها نسبت داد. جدول مقایسهٔ میانگین‌های اثر متقابل (جدول۳) نشان می‌دهد که افزایش مصرف سطوح کاربرد نیکل سبب کاهش وزن خشک ریشه خواهد شد. کاربرد قارچریشه در این شرایط سبب افزایش وزن خشک ریشه می‌شود، هر چند که اختلاف آن با تیمار بدون کاربرد قارچریشه در همین شرایط از لحاظ آماری معنی‌دار نشد. افزایش غیر معنی‌دار وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح‌شده با قارچ قارچریشه احتمال دارد به دلایلی اعم از تجمع نیکل در ریشه‌ها و اختلال در جذب عنصرهای غذایی کم مصرف و بروز جنبهٔ منفی همزیستی به دلیل نامناسب نبودن شرایط رشد گیاه باشد. نتایج همسانی توسط Citterio *et al.* (2005) در گیاه شاهدانه همزیست با قارچ *G. mosseae* در خاک آلوده به نیکل، کروم و کادمیوم گزارش شده است. سمیت فلزهای سنگین گسترش ریسه (هیف)های درون ریشه‌ای را محدود می‌کند و غلظت‌های بالای فلزها بر گسترش هیف‌های خارج ریشه‌ای نیز اثر می‌گذارد. کاهش همزیستی قارچ قارچریشهٔ آربوسکولار[1] به واسطه سمیت فلزهای سنگین و کاهش وزن ریشه توسط محققان دیگری نیز گزارش شده است (Vogel-Mikus *et al*., 2006).

سبزینهٔ کل

بیشترین محتوای سبزینهٔ کل متعلق به تیمار بدون کاربرد نیکل بود (جدول ۲). کاربرد سطوح مختلف نیکل سبب کاهش محتوای سبزینهٔ کل شد به‌طوری که کمترین میزان این صفت مربوط به تیمار کاربرد نیکل با غلظت ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود

1. Arbuscular mycorrhiza

(جدول ۲). فلزهای سنگین به علت افزایش تجزیهٔ رنگدانهٔ سبزینه باعث کاهش میزان سبزینه در بافت های تیمارشده با فلز می‌شوند (Gajewska *et al.*, 2006). همچنین در نتایج بررسی‌ها گزارش شده است، کاهش سبزینهٔ بافت برگ می‌تواند به دلیل کاهش محتوای آهن، کاهش کارایی آنزیم‌های درگیر در زیست‌ساخت (بیوسنتز) سبزینه و جایگزینی مولکول مرکزی منیزیم توسط فلزهای سنگین باشد (Dhir *et al.*, 2009). بیشترین محتوای سبزینهٔ کل مربوط به تیمار کاربرد قارچریشه بود (جدول ۲). نتایج تحقیقات Pereira *et al.* (2012) نشان داد که میزان سبزینهٔ *a* و *b* به ترتیب ۲۳ و ۳۸ درصد در شاه‌بلوط تلقیح‌شده در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافته است. محتوای بالای سبزینه در برگ گیاهان تلقیح‌شده با قارچریشهٔ ناشی از بهبود تغذیهٔ گیاه میزبان به‌ویژه فراهمی بیشتر فسفر و نیتروژن است، چرا که نیتروژن عنصری ضروری برای تشکیل سبزینه بوده و فسفر نقش مهمی را به عنوان حامل انرژی در فرآیند نورساخت ایفا می کند. همچنین با توجه به جدول مقایسهٔ میانگین‌های اثر متقابل (جدول۳) مشاهده می‌شود که افزایش در سطوح کاربرد نیکل سبب کاهش میزان سبزینهٔ کل خواهد شد. در حالی‌که کاربرد قارچریشه در این شرایط سبب افزایش میزان سبزینهٔ کل می‌شود و اختلاف آن با تیمار بدون کاربرد قارچریشه در همین شرایط از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد نیز معنی‌دار است. قارچ‌های قارچریشهٔ آربوسکولار جذب فعال بیش از حد فلزهای سنگین را از طریق ریشه‌ها کاهش می‌دهند، درصورتی‌که جذب فعال دیگر فلزها مانند نیتروژن و فسفر را حفظ می‌کنند (Joner & Leyval, 1997).

فعالیت آنزیم کاتالاز

کاتالاز آنزیم مهم دیگری است که در شرایط تنش اکسیدی فعال می‌شود. این آنزیم قادر به هضم و حذف H_2O_2 است (Khatun *et al.*, 2008). بدین ترتیب که پراکسید هیدروژن که محصول سمی ناشی از عملکرد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است، توسط این آنزیم استفاده می‌شود (Garnczarska & Ratajczak, 2000). بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ متعلق به تیمار کاربرد نیکل با غلظت ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به دست آمد. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ نیز متعلق به تیمار بدون کاربرد نیکل بود (جدول۲). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می تواند ناشی از این واقعیت باشد که این آنزیم در سامانهٔ دفاع پاداکسندگی گیاهان در شرایط تنش اکسایشی (اکسیداتیو) ناشی از فلزهای سنگین مشارکت دارد. دیگر پژوهشگران نیز در نتایج بررسی‌های خود افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش فلزهای سنگین مانند کادمیوم، جیوه، نیکل و سرب را گزارش کرده‌اند (Pang *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2001). بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ نیز مربوط به تیمار بدون کاربرد قارچریشه است (جدول۲). قارچ‌های قارچریشهٔ آربسکولار نه تنها برای جذب مواد مغذی به میزبان کمک می‌کنند بلکه تحمل گیاه به عامل‌های محیطی غیر زیستی را نیز بهبود می‌بخشند (Jahromi *et al.*, 2008).

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین‌های اثر متقابل تنش نیکل و قارچ قارچریشه روی برخی از ویژگی‌های گندم

Table 3. Interaction between nickel stress and mycorrhiza fungi on some attributes of wheat

Nickel concentration	Mycorrhiza	Total chlorophyll (mg. g. $^{-1}$FW)	Catalase enzyme activity (ΔA mg pro.min^{-1})	Shoot Ni concentration (mg.g-^{1}DW)	Root Ni concentration (mg.g-^{1}DW)
0	-	2.070b	75.01g	0.010g	0.006g
	+	2.166a	73.42g	0.013g	0.010g
60	-	1.806d	125.08e	12.78f	3.29e
	+	1.930c	108.19f	13.86e	2.97f
120	-	1.666e	186.29b	15.44d	5.65c
	+	1.776d	154.90d	16.28c	5.24d
180	-	1.596f	201.84a	16.57b	6.23a
	+	1.696e	172.76c	17.86a	5.85b

میانگین‌های ارائه‌شده در هر ستون که حرف‌های مشترک دارند، از نظر آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Treatment means followed by the same letter within each common are not significantly different ($P < 0.05$) according to Duncan's Multiple Range test.

همانطور که بیان شد این قارچها سبب اتصال فلز سنگین به دیوارهٔ یاخته شده (Hildebrandt *et al*., 2007) و با ترشح گلومالین (Gonzalez-Chavez *et al*., 2004) سبب کاهش غلظت آن‌ها در محیط ریشه می‌شوند همچنین از طریق همزیستی با گیاهان سبب انباشت فلزهای سنگین در ریشه به صورت غیر سمی می‌شوند (Joner & Leyval, 1997). بنابراین به نظر می‌رسد که قارچهای قارچریشه از راه کاهش جذب فلزهای سنگین و کاهش تنش اکسایشی ناشی از جذب فلزهای سنگین سبب کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شوند. افزایش غلظت نیکل سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ شد (جدول۲). در حالی‌که مشاهده شد که کاربرد قارچ قارچریشه در این شرایط سبب کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ می‌شود.

محتوای نیکل اندام‌های هوایی و ریشه

بیشترین محتوای نیکل اندام‌های هوایی و ریشه متعلق به تیمار نیکل با غلظت ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به دست آمد (جدول ۲). کمترین محتوای نیکل اندام‌های هوایی و ریشه نیز متعلق به تیمار بدون کاربرد نیکل بود (جدول ۲). این نتایج نشان می‌دهد، گونه‌های گیاهی در محیط‌های آلوده به فلزهای سنگین می‌توانند بخشی از آن‌ها را جذب کنند و با افزایش میزان آلودگی این فلزها در خاک میزان جذب آن‌ها نیز افزایش خواهد یافت و به این طریق تا حدی از آلودگی محیط می‌کاهند و دوم اینکه قابلیت و توانایی انباشت فلزهای سنگین در گونه‌های گیاهی مختلف می‌تواند متفاوت باشد (Burken *et al*., 2011) که این پدیده به‌احتمال زیاد به صفات فیزیولوژیک گونه‌ها مربوط است، به‌طوری‌که برخی از گونه‌های گیاهی به عنوان گیاهان جاذب تا حد زیادی می‌توانند فلزهای سنگین را از محیط جذب کنند بدون آنکه خودشان دچار آسیب جدی شوند، در حالی‌که بعضی از گونه‌های گیاهی توانایی جذب پائین‌تری داشته و ممکن است در محیط‌های آلوده به فلزهای سنگین، در نتیجهٔ مسمومیت آسیب‌دیده و از بین بروند (Gosh & Singh, 2005; Baycu *et al*., 2006). بیشترین محتوای نیکل اندام‌های هوایی مربوط به تیمار بدون کاربرد قارچریشه بود (جدول ۲). در حالی‌که بالاترین محتوای نیکل ریشه مربوط به تیمار کاربرد قارچریشه است (جدول ۲). در نتایج بررسی‌هایی گزارش شده است که قارچهای قارچریشه سبب کاهش جذب فعال فلزهای سنگین شده، در حالی‌که منجر به افزایش جذب نیتروژن و فسفر نیز می‌شوند (Joner & Leyval, 1997). کاهش محتوای نیکل اندام‌های هوایی در تیمار کاربرد قارچریشه می‌تواند به دلیل ته‌نشینی فلزهای سنگین در یاخته‌های پارانشیم درونی، یعنی مکانی که ساختارهای قارچی (ریسه‌های درون ریشه ای، آربسکول‌ها و وزیکول‌ها) مستقر شده‌اند، باشد (Gonzalez-Guerrero *et al*., 2008). همین امر سبب انباشت فلزهای سنگین در ریشهٔ گیاهان به شکل غیر سمی و افزایش محتوای نیکل ریشه در حضور قارچ قارچریشه می‌شود. افزایش غلظت نیکل سبب افزایش محتوای نیکل اندام‌های هوایی و ریشه‌ها شد. کاربرد قارچ قارچریشه در این شرایط سبب کاهش محتوای نیکل اندام‌های هوایی و سبب افزایش محتوای نیکل ریشه‌ها می‌شود. نتایج تحقیقات نشان داده است، یک گلیکوپروتئین غیر محلول به نام گلومالین توسط ریسه‌های قارچ قارچریشه به عنصرهای سمی از جمله فلزهای سنگین متصل شده و آن‌ها را از گیاه دور نگه می‌دارد (Gonzalez-Chavez *et al*., 2004). در همین رابطه نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش Vivas *et al*. (2006) نشان داد که در شرایط تنش نیکل، تلقیح با قارچ *G. mosseae* گیاه را در مقابل اثر سمی غلظت‌های بالای نیکل از طریق کاهش اکتساب نیکل و کاهش غلظت نیکل در بافت گیاه حمایت می‌کند. کمتر بودن میزان نیکل در اندام‌های هوایی گیاه گندم حاوی قارچ در مقایسه با گیاه گندم بدون قارچ بیانگر انتقال کمتر نیکل از ریشه به اندام‌های هوایی در گیاهان حاوی قارچ است که می‌تواند به عنوان یک سازوکار دفاعی مهم تلقی شود. در حالی‌که کاربرد قارچریشه در این شرایط سبب افزایش محتوای نیکل ریشه می‌شود. به‌طور کلی نتایج نشان می‌دهند، انتقال نیکل از خاک به ریشه بیشتر از انتقال نیکل از ریشه به اندام‌های هوایی است و بخش اعظم نیکل در ریشه‌های گیاه و در ریسه‌های قارچ ذخیره می‌شود و از انتقال آن به اندام‌های هوایی تا حدود زیادی

جلوگیری به عمل می‌آید که نوعی سازوکار ویژه برای کاهش اثر سمی نیکل در اندام‌های هوایی بوده و در دست‌یابی به هدف گیاه پالایی نیکل و تثبیت در ریشه‌های گیاه مؤثر است.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد، تلقیح قارچ *Glomus intraradices* سبب افزایش ارتفاع گیاه، وزن خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه، افزایش محتوای سبزینهٔ برگ‌ها و افزایش نیکل ریشه می‌شود در حالی‌که سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و نیکل اندام‌های هوایی می‌شود. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت کاربرد قارچ قارچریشه در شرایط تنش نیکل سبب بهبود رشد گیاه می‌شود. بنابراین در این شرایط گیاه از یک سو فعالیت آنزیم پاداکسندهٔ کاتالاز را کاهش داده و انرژی لازم برای تولید این آنزیم را صرف بهبود رشد و عملکرد کرده و از سویی دیگر از آنجایی‌که اندام‌های هوایی بخش قابل توجه در گیاهانی مانند گندم است که به مصرف تغذیهٔ انسان و دام می‌رسد، سبب کاهش غلظت نیکل در اندام‌های هوایی می‌شود. بنابراین کاربرد قارچ قارچریشه در بوم نظام‌های آلوده به فلزهای سنگین راهکاری به منظور بهبود رشد و کاهش غلظت فلزهای سنگین در اندام‌های هوایی گیاهان به شمار می‌آید.

REFERENCES

1. Abdel Latef, A. A. H. (2011). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and copper on growth, accumulation of osmolyte, mineral nutrition and antioxidant enzyme activity of pepper (*Capsicumannuum* L.). *Mycorrhiza*, 21, 495-503.
2. Agrawal, B., Czymmek, K. J., Sparks, D. L & and Bais, H. P. (2013). Transient influx of nickel in root mitochondria modulates organic acid and reactive oxygen species production in ckelhyperaccumulator *Alyssum murale*. *Journal of Biology Chemistry*, 288, 735-736.
3. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphennoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-150.
4. Baycu, G., Ozden, H., Tolunay, D. & Gunebakan, S. (2006). Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn, and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul. *Environmental Pollution*, 143, 545-554.
5. Benavides, M. P., Gallego, S. M. & Tomaro, M. L. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 21-34.
6. Burken, J., Vroblesky, D. & Balouet, J. C. (2011). Phytoforensics, Dendrochemistry and Phytoscreening: New Green Tools for Delineating Contaminants from Past and Present. *Environmental Science & Technology*, 45(15), 6218-6226.
7. Gajewska, E., Słaba, M., Andrzejewska, R. & Skłodowska, M. (2006). Nickel-induced inhibition of wheat root growth is related to H_2O_2 production, but not to lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation*, 49, 95-103.
8. Garnczarska, M. & Ratajczak. L. (2000). Metabolic responses of Lemna minor to lead ions, II. Induction of antioxidant enzymes in roots. *Acta physiologiae plantarum*, 22, 429-432.
9. Citterio, S., Prato, N., Fumagalli, P., Aina, R., Massa, N., Santagostina, A., Sgorbati, S. & Berta, G. (2005). The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* induces growth and metal accumulation changes in *Cannabis sativa* L. *Chemosphere*, 59, 21-29.
10. Demir, S. (2004). Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper.*Turkish Journal of Biologi*, 28, 85-90.
11. Dhir, B., Sharmila, P., Saradhi, P. P. & Nasim, S. A. (2009). Physiological and antioxidantresponses of Salvinia natans exposed to chromium-rich wastewater, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1790-1797.
12. Gaur, A. & Adholeya, A. (2004). Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, 86, 528-534.
13. Ghasemi, R., Ghaderian, S. M. & Krämer, U. (2009). Interference of nickel with copper and iron homeostasis contributes to metal toxicity symptoms in the nickel hyper accumulator plant *Alyssum inflatum*. *New Phytologist*, 184, 566-580.
14. Gonzalez-Chavez, M., Carrillo-Gonzalez, R., Wright, S. & Nichols, K. (2004). The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution*, 130, 317-323.
15. Gonzalez-Guerrero, M., Melville, L. H., Ferrol, N., Lott, J. N., Azcon-Aguilar, C. & Peterson, R. L. (2008). Ultra structural localization of heavy metals in the extra radical mycelium and spores of the arbuscularmycorrhizal fungus *Glomus intraradices*, *Canadian Journal of Microbiology*, 54, 103-110.

16. Gosh, M. & Singh, S. P. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its hypoducts. *Applied ecology and environmental research*, 3(1), 1-18.
17. Goussous, S. & Mohammad, M. (2009). Comparative effect of two arbuscular mycorrhizae and N and P fertilizers on growth and nutrient uptake of onions. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 463-467.
18. Hildebrandt, U., Regvar, M. & Bothe, H. (2007). Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry*, 68, 139-146.
19. Jahromi, F., Aroca, R., Porcel, R. & Ruiz-Lozano, J. M. (2008). Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. *Microbial Ecology*, 55, 45-53.
20. Javaid, A. (2009). Arbuscular mycorrhizal mediated nutrition in plants. *Journal of Plant Nutrition*, 32, 1595-1618.
21. Joner, E. & Leyval, C. (1997). Uptake of 109Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytologist*, 135, 353-360.
22. Juknys, R., Vitkauskaite, G., Racaite, M. & Vencloviene, J. (2012). The impacts of heavy metals on oxidative stress and growth of spring barley. *Central European Journal of Biology*, 7, 299-306.
23. Khatun, S., Ali, M. B., Hahn, E. J. & Paek, K. Y. (2008). Cooper toxicity in *Withania somnifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Environmental and Experimental Botany*, 64, 279-285.
24. Koves-Pechy, K., Biro, B., Voros, I., Takacs, T., Osztoics, E. & Strasser, R. (1999). Enhanced activity of microsymbiont-host systems probed by the OJIP test. In: *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*, (Ed. G. Garab) Pp. 2765-2770. Kluyver Academic Publishers.
25. Lawlor, D. W. & Leach, E. (1985). Leaf growth and water deficits: Biochemistry in relations to biophysics. In: BAKER, N. R., W. J. DAVIS, and C. K. ONG (eds.). Control of Leaf Growth, 77-91, *Cambridge University Press, Cambridge.*
26. Maksymiec, W. (1997). Effect of copper on cellular processes in higher plants. *Photosynthetica*, 34, 321-342.
27. Nagajyoti, P., Lee, K. & Sreekanth, T. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants. *Environmental Chemistry Letters*, 8, 199-216.
28. Neumann, E. & George, E. (2005). Does the presence of arbuscular mycorrhizal fungi influence growth and nutrient uptake of a wild-type tomato cultivar and a mycorrhiza-defective mutant, cultivated with roots sharing the same soil volume. *New Phytologist*, 166, 601-609.
29. Paglia, D. (1997). Studies on the quantitive trait Dase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70, 158-165.
30. 28-Pakdaman, N., Ghaderian, S. M., Ghasemi, R. & Asemaneh, T. (2013). Effects of calcium/magnesium quotients and nickel in the growth medium on growth and nickel accumulation in *Pistacia atlantica*. *Journal of Plant Nutrition*, 36, 1708-1718.
31. Pang, X., Wang, D. & Peng, A. (2001). Effect of lead stress on the activity of antioxidant enzymes in wheat seedling. *Environmental Science, Beijing*, 22(5), 108-112.
32. Pereira, E., Coelho, V., Tavares, R. M., Lino-Neto, T. & Baptista, P. (2012). Effect of competitive interactions between ectomycorrhizal and saprotrophic fungi on Castanea sativa performance. *Mycorrhiza*, 22, 41-49.
33. Poschenrieder, C. & Barcelo, J. (2004). Water relations in heavy metal stressed plants. In: Heavy Metal Stress in Plants (ed. Prasad, M. N. V.). *Springer, Berlin*, 207-229
34. Rivera-Becerril, F., Calantzis, C., Turnau, K., Caussanel, J. P., Belimov, A. A., Gianinazzi, S., Strasser, J. R. and Gianinazzi-Pearson, V. (2002).Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes, *Journal of Experimental Botany*, 53, 1177-1185.
35. SAS Institute Inc. (2002). *The SAS System for Windows*, Release 9.0. Statistical Analysi Systems Institute, Cary, NC, USA.
36. Srivastava, S., Tripathi, R. D. & Dwivedi, U.N. (2004). Synthesis of phytochelatins and modulation of antioxidants in response to cadmium stress in *Cuscuta reflexa* an angiospermic parasite. *Plant Physiology*, 161, 665-674.
37. Vivas, A., Biro, B., Nemeth, T., Barea, J. M. & Azcon, R. (2006). Nickel-tolerant *Brevibacillus brevis* and arbuscular mycorrhizal funguscan reduce metal acquisition and nickel toxicity effects in plant growing in nickel supplemented soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 2694-2704.
38. Vogel-Mikus, K., Pongrac, P., Kump, P., Necemer, M. & Regvar, M. (2006). Colonization of Zn, Cd and Pb hyper accumulator *Thlaspi praecox Wulfen* with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. *Environmental Pollution*, 139, 362-371.

39. Yang, D., Shi, G. & Song, D. (2001). The resistance reaction of *Brasenia schreberi* winter-bud to Cr^{6+} pollution. *Journal of Lake Sciences, Beijing*, 13(2), 169-174.
40. Yusuf, M., Fariduddin, Q., Hayat, S. & Ahmad, A. (2011). Nickel: an overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86, 1-17.
41. Zhao, Y., Peralta-Videa, J.R., Lopez-Moreno, M. L., Ren, M., Saupe, G. & Gardea-Torresdey, J. L. (2011). Kinetin increases chromium absorption, modulates iths distribution, and changes the activity of catalase and ascorbate peroxidase in Mexican Palo Verde. *Environmental Science and Technology*, 45, 1082-1087.