



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی"
دوره چهارم، شماره اول، فروردین و اردیبهشت ۹۶
<http://arpe.gonbad.ac.ir>

تأثیر قارچ‌های میکوریزا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی آویشن دنايي در خاک آلوده به فلزات سنگین

زینب محکمی^{۱*}، فاطمه بیدرنامنی^۲، حسن قربانی قوژدی^۳، زهرا غفاری مقدم^۴

^{۱،۲،۴} مربي گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

^۳ دانشکده تولیدات گیاهی و منابع طبیعی، مجتمع آموزش عالی گناباد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۵

چکیده

مقدمه: یکی از روش‌های نوین و کم‌هزینه برای پالایش خاک‌های آلوده، استفاده از گیاهان (Phytoremediation) می‌باشد. گیاه‌پالایی یک تکنولوژی در حال ظهور است که با بهره‌گیری از گیاهان و سپس ریزجانداران موجود در ریزوسفر برای حذف کردن، تغییر دادن یا محدود کردن مواد شیمیایی سمی در خاک، رسوبات، آب‌های زیرزمینی، آب‌های سطحی و حتی اتمسفر استفاده می‌شود. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثر گیاه‌پالایی گیاه دارویی آویشن دنايي همزیست با قارچ‌های میکوریزا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در خاک آلوده به سرب و کادمیم بود.

مواد و روش‌ها: این تحقیق به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا گردید. فاکتور اول شامل چهار سطح از فلزات سنگین (شاهد (خاک عاری از فلزات سنگین)، سرب (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، کادمیم (۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سرب+کادمیم) و فاکتور دوم تیمار قارچ میکوریزا در پنج سطح (*G. fasciculatum*, *G. mosseae*, *G. intraradices*)، ترکیب هر سه سوبه و شاهد (عدم تلقیح)) بودند.

نتایج: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که، اثرات ساده فلزات سنگین سرب و کادمیم، قارچ‌های میکوریزا و اثرات متقابل آن‌ها بر مقادیر کلروفیل a، شاخص کلروفیل و کارتنوئید معنی‌دار بودند؛ در حالی که بر میزان

*نویسنده مسئول: zeynabmohkami@gmail.com

کلروفیل b اثر معنی‌دار نداشتند. براساس نتایج، بیشترین میزان کلروفیل a (۰/۳۵۴ میلی‌گرم/گرم وزن‌تر) در تیمار شاهد (عدم استعمال فلزات سنگین در بستر و عدم همزیستی با مایکوریزا)، بالاترین شاخص کلروفیل (۰/۳۹ میلی‌گرم/گرم وزن‌تر) در تیمار همزیست با قارچ *G. fasciculatum* و در حضور فلز سنگین کادمیم در بستر و بیشترین مقدار کارتنوئید (۱/۹۵ میلی‌گرم/گرم وزن‌تر) در تیمار همزیست با هر سه سوبه قارچ و حضور فلز سنگین سرب در بستر مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که، قارچ‌های میکوریزا اثر معنی‌داری بر غلظت سرب و کادمیم در شاخساره و ریشه گیاه آویشن دناپی داشتند. به‌طور کلی می‌توان ادعان نمود که همزیستی با قارچ‌های میکوریزا اثرات مخرب فلزات سنگین بر رنگیزه‌های فتوسنتزی را بهبود می‌بخشد و باعث کاهش سمیت آن‌ها می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلزات سنگین، قارچ میکوریزا، گیاه‌پالایی

مقدمه

فلزات سنگین از منابع آلاینده محیط‌زیست از جمله خاک می‌باشند که در صورت انباشت در خاک و جذب توسط گیاه به زنجیره غذایی وارد شده و منجر به بروز مسمومیت در گیاهان و افراد تغذیه‌کننده از آن‌ها می‌گردند (Antoniadis and Alloway, 2001). فلزات سنگین باعث تولید اکسیژن فعال و در نتیجه اکسیداسیون بافت‌های گیاهی می‌گردد. اولین علامت ظهور سمیت در بیش‌تر گونه‌ها، کلروز عمومی برگ‌های جوان در اثر تغییر در ساختار کلروفیل می‌باشد. در پی آن نشانه‌های مسمومیت مثل عدم رشد، زردی، پوسیدگی ریشه‌ها، کاهش فتوسنتز و توقف تنفس سلولی ظاهر می‌شوند (Sadraei and Gharacheh, 2013). هم‌چنین سمیت فلزات سنگین باعث کاهش رشد برگ می‌گردد (Poirier and Bertrand, 2005).

اثرات مستقیم فلزات سنگین بر واکنش‌های نوری فتوسنتز شامل تأثیر بر احیاء NADP و فسفریلاسیون نوری و اثرات غیرمستقیم آن بر فرآیند سنتز و تجزیه کلروفیل، تغییر در نسبت کلروفیل a به b و رقابت با سایر فلزات ضروری، می‌باشد (Aggarwal et al., 2011). برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که، فلزات سنگین می‌توانند در غلظت‌های پائین سبب افزایش میزان کلروفیل a و b (John et al., 2008; Ghorbanli and Kiapour, 2012) و در غلظت‌های بالا موجب کاهش این رنگدانه‌ها شوند (John et al., 2009). گروهی از محققان گزارش نمودند، با افزایش غلظت روی در بستر کشت، میزان پروتئین و پروتئین در دو بخش هوایی و زیرزمینی گیاه گندم افزایش، اما مقدار کلروفیل a و b و a+b کاهش یافت (Lari Yazdi et al., 2011). هم‌چنین کاهش کلروفیل در گیاهانی نظیر گندم

وارپته ویرجینیا^۱ تحت تنش مس و کلم گل^۲ تحت تنش مس، کبالت و کروم و گیاه هندوانه تحت تنش آنتیموان (Sb^{3+}) گزارش شده است (Araghi Shahri *et al.*, 2014; Lanaras *et al.*, 1993; Chatterjee and Chatterjee, 2000).

زنگین و مانزوروگلو (Zengin and Munzuroglu, 2005) گزارش نمودند که، در غلظت‌های بالای فلزات سنگین، میزان شاخص کلروفیل در گیاه سویا کاهش می‌یابد؛ درحالی که پرولین، اسیدآسکوربیک و آلفاتوکوفرول افزایش می‌یابند. پوراکبر و ابراهیم‌زاده (Pourakbar and Ebrahim zadeh, 2014) گزارش نمودند که، تحت تنش مس و نیکل محتوای رنگیزه‌ای کلروفیل a، ۱۴ تا ۶۷ درصد، کلروفیل b، ۳۲ تا ۷۹ درصد و کارتنوئیدها ۲۵ تا ۷۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. خاوری‌نژاد و همکاران (Kavarinejhad *et al.*, 2010) اثرات برهم‌کنش سلیوم و مولیبدن بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ گوجه فرنگی بررسی نمودند و دریافتند که، سلیوم موجب افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید؛ در حالی که مولیبدن در غلظت‌های به کار رفته کاهش معنی‌دار محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ را به دنبال داشت.

گیاه‌پالایی^۳ یک تکنیک پایدار و کم‌هزینه برای حذف آلودگی‌های زیست محیطی توسط گیاهان است. اگرچه سرعت پالایش محیط از آلودگی‌ها در این روش کند است، اما می‌توان سرعت این فرآیند را به کمک قارچ‌های همزیست افزایش داد (Abdul, 2005). قارچ‌های آریاسکولار با ترکیب مواد موجود در دیواره سلولی، مانند کیتین با فلزات سنگین موجود در خاک مانند روی، کادمیم و سرب باعث تثبیت و بی‌اثر شدن این عناصر در خاک می‌گردند (Vogel Mikus *et al.*, 2006). گروه وسیعی از محققان گزارش نمودند که، تأثیر قارچ‌های AM بر جذب فلزات سنگین بستگی به غلظت فلز سنگین دارد؛ به طوری که در سطوح پایین فلزات سنگین، قارچ‌های AM میزان جذب این فلزات را نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش می‌دهند. با این حال مشخص شده است که، در سطوح بالای حضور فلزات سنگین، غلظت روی (Zn)، مس (Cu)، سرب (Pb) و کادمیم (Cd) در شاخساره به واسطه همزیستی با AM کاهش می‌یابد (El- Kherbawy *et al.*, 1989; Leyval *et al.*, 1991; Schüep *et al.*, 1987). در برخی شرایط مشاهده شده که، AM اثر سوء بر رشد گیاه داشته است. محققان علت این امر را به افزایش جذب مس، نیکل، سرب و روی با افزایش غلظت فلز و کاهش pH در شرایط همزیستی با قارچ AM نسبت داده‌اند (Firestone, 1983). همزیستی گیاه سورگوم با *G. mosseae* سبب کاهش معنی‌دار وزن تر، وزن خشک، سطح برگ و شاخص کلروفیل برگ‌ها در مقایسه

- 1- *Triticum aestivum* cv. Vergina
- 2- *Brassica oleracea* var. Botrytis cv. Maghi
- 3- Phytoremediation

با بوته‌های غیرهمزیست در خاک آلوده به سرب گردید. هدف از این تحقیق بررسی اثر قارچ‌های میکوریزا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه دارویی آویشن دناپی تحت تنش فلزات سنگین سرب و کادمیم بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. فاکتور اول فلزات سنگین شامل چهار سطح: سرب (از منبع نیترات سرب ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، کادمیم (از منبع کلرید کادمیم ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، کاربرد همزمان کادمیم + سرب و شاهد (عدم کاربرد فلزات سنگین) و فاکتور دوم شامل تیمار قارچی در پنج سطح: شاهد (عدم تلقیح)، *G. intraradices*، *G. mosseae*، *G. fasciculatum* و کاربرد همزمان هر سه گونه بودند. خاک مورد استفاده از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل و از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری تهیه و پس از هوا خشک نمودن و عبور از الک ۲ میلی‌متری، توسط بخار آب و در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ اتمسفر به مدت یک ساعت) ضدعفونی گردید (Aghababaei et al., 2015) (جدول ۱). به منظور آلوده‌سازی خاک از کلرید کادمیم ($CdCl_2$) با غلظت ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و سرب از نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) با غلظت ۱۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم استفاده شد. این نمک‌ها به صورت محلول در آب بر سطح خاک اسپری شدند و به مدت ۱۴ روز در دمای معمولی اتاق نگهداری گردیدند تا برهم‌کنش آلاینده و خاک تکوین یافته و شرایط آلودگی طبیعی‌تر باشد. سپس خاک آماده شده به گلدان‌های ۳ کیلوگرمی اضافه شد.

جهت سترون کردن بذور آویشن دناپی به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد قرار داده شد، پس از شستشوی بذرها با آب مقطر، درون گلدان کشت شدند. روی بذرها به وسیله مایه تلقیح قارچ‌ها به میزان ۲۵ گرم در کیلوگرم خاک، محتوی ۲۵۰ اسپور در هر ۵۰ گرم خاک که از شرکت زیست فناوری سمنان خریداری شده، پوشانده شد و بلافاصله بعد از کشت آبیاری صورت گرفت. آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر به منظور حفظ رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه انجام شد. پس از سبز شدن و در مرحله ۶ برگی، عملیات تنک کردن انجام شد؛ به طوری که در هر گلدان تعداد ۳ گیاه حفظ گردید. دو ماه بعد از کشت، شاخساره گیاهان از سطح طوقه برداشت گردید. ریشه گیاه جهت ارزیابی اثر همزیستی با میکوریزا به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شد و سپس طبق پروتوکل رنگ‌آمیزی و زیر میکروسکوپ مشاهده گردید (Zubek et al., 2010) (شکل ۱).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (عمق ۰-۳۰ سانتی‌متر)
 Table 1- Physical and chemical characteristics of the soil (0-30 cm)

بافت Texture	شکل Sand (%)			سیلت Silt (%)			نیترژن N (mg/kg)			سرب Pb (mg/kg)			کادمیوم Cd (mg/kg)			پتاسیم K (mg/kg)			فسفر P (mg/kg)			pH			هدایت الکتریکی EC (ds/m)		
	Sand	Clay	Clay	Silt	Silt	Silt	N	N	N	Pb	Pb	Pb	Cd	Cd	Cd	K	K	K	P	P	P	pH	pH	pH	EC	EC	EC
شنی لومی Sandy loam	77	8	15	15	15	15	0.17	0.17	0.17	0.25	0.25	0.25	0.05	0.05	0.05	538	538	538	10	10	10	7.53	7.53	7.53	3.25	3.25	3.25



شکل ۱- ریشه آویشن دناهی همزیست شده با قارچ میکوریزا به ترتیب از راست به چپ
G. intraradices و *G. mossae*، *G. fasciculatum*
 Figure 1- Root of *Thymus daenensis* Celak symbiosed with mycorrhizae fungi (*G. fasciculatum*, *G. mossae* and *G. intraradices*) right to left, respectively.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر میکوریزا و فلزات سنگین روی برخی از صفات آویشن دناهی

برای تعیین مقادیر کلروفیل a و b و کاروتنوئید مقدار ۰/۵ گرم از بافت سبز برگ‌های جوان به همراه ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند و پس از آن به طور جداگانه مقادیر کلروفیل a در طیف جذبی ۶۶۳، کلروفیل b در ۶۴۵ نانومتر و کاروتنوئید با طول موج ۴۸۰ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Unic, UV, 2100) قرائت شد. جهت تنظیم دستگاه، استون ۸۰ درصد مورد استفاده قرار گرفت. شاخص کلروفیل نیز با دستگاه اسپد (مدل KONICA MINOLTA-502) اندازه‌گیری شد. غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه گردید. در رابطه‌های ذیل A مقادیر قرائت شده در طول موج معین توسط دستگاه است (Arnon, 1967).

$$\text{Chlorophyll a} = (12.25 \times A_{663} - 2.798)$$

$$\text{Chlorophyll b} = (21.50 \times A_{645} - 5.10)$$

$$C = [7.6 (A_{480}) + 1.49 (A_{663})] \times V/W$$

V = حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A = جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۸۰ نانومتر

W = وزن تر نمونه بر حسب گرم

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که، اثرات ساده فلزات سنگین سرب و کادمیم، قارچ‌های میکوریزا و اثرات متقابل آن‌ها بر مقادیر کلروفیل a، شاخص کلروفیل و کاروتنوئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود؛ اما بر میزان کلروفیل b معنی‌داری نبود (جدول ۲). نتایج این تحقیق نشان داد که، قارچ‌های میکوریزا اثر معنی‌داری بر غلظت سرب و کادمیم در شاخساره و ریشه گیاه آویشن دنایی داشتند. طبق نتایج در خاک آلوده به کادمیم (سطح ۱۵ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک)، بیشترین غلظت کادمیم در شاخساره گیاه (۱/۶۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه) در بستر آلوده به کادمیم و همزیست با *G. mosseae* و در ریشه (۱/۵۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه) در تیمار *G. fassiculatum* بدست آمد (جدول ۳). در خاک آلوده به سرب (سطح ۱۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک)، بیشترین غلظت سرب در ریشه گیاه (۹/۱۰۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه) در تیمار *G. fassiculatum* بدست آمد و در شاخساره (۶/۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه)، در تیمار *G. fassiculatum* حاصل شد (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر میکوریزا و فلزات سنگین روی برخی از صفات آویشن دناهی
 Table 2- Analyses of variance (ANOVA) effect of mycorrhizae and heavy metals on some of properties of *Thymus daenensis* Celak

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	کارتوتیند Carotenoids	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	کلروفیل ب Chlorophyll b	کلروفیل ا Chlorophyll a
فارچ میکوریزا Mycorrhizae	4	9.68**	0.434**	20.76 ^{ns}	0.0097**
فلزات سنگین Heavy metals	3	34.82**	0.289**	4.72 ^{ns}	0.0064**
میکوریزا × فلزات سنگین Mycorrhizae × Heavy metals	12	5.007**	0.169**	13.92 ^{ns}	0.0136**
خطای آزمایش Test error		0.192	0.0014	3.67	0.0002
ضریب تغییرات CV (%)		17.27	4.13	11.117	22.44

ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.

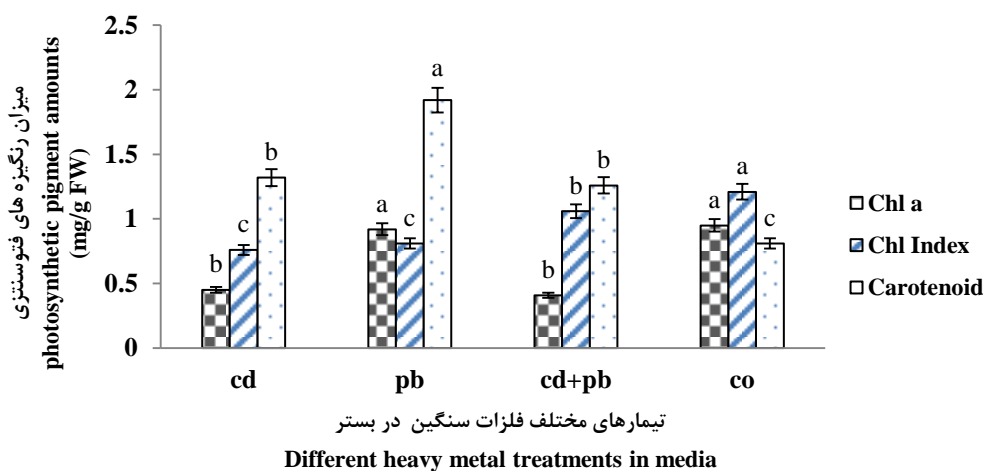
ns, * and **: به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۳- اثر برهمکنش قارچ میکوریزا و فلزات سنگین بر غلظت سرب و کادمیم در ریشه و شاخسار آویشن دانیایی
 Table 3- Effect of interaction of mycorrhizal fungi and Heavy metals on cadmium and Lead concentration in root and shoot of *Thymus daenensis* Celak

Mycorrhizal treatments	تیمار فلزات سنگین Heavy metal treatments	غلظت سرب		غلظت کادمیم	
		ریشه	شاخسار	ریشه	شاخسار
شاهد Control	Cd0	1 f	0.93 d	0.62 f	1.03 c-f
	Cd15	2.23 b-f	1.06 d	0.92 a-f	1.165 c-g
<i>G. intraradices</i>	Cd 15+Pb100	1.33 ef	1.28 cd	0.64 ef	1.123 efg
	Cd0	2.8 b-f	0.66 d	1.32 a-d	1.12 c-g
	Cd15	4.65 b	1.42 cd	0.71 efd	1.46 ab
	Cd 15+Pb100	3.9 bcd	2.003 bcd	0.716 efd	1.25 c-f
<i>G. mosseae</i>	Cd0	1.05 f	0.71 d	1.39 abc	1.15 c-g
	Cd15	1.68 efd	3.85 ab	0.74 c-f	1.62 a
	Cd 15+Pb100	2.46 b-f	3.37 ab	0.77 c-f	1.22 c-g
<i>G. fasciculatum</i>	Cd0	2.16 c-f	1.52 cd	1.56 a	1.262 c-f
	Cd15	9.103 a	6.36 a	0.82 c-f	1.277 cde
	Cd 15+Pb100	2.85 b-f	2.41 bcd	0.83 b-f	1.46 ab
	Cd0	4.47 b-f	1.4 cd	1.03 a-f	1.141 c-g
کاربرد همزمان هر سه سویه use of three species	Cd15	4.25 bc	3.7 ab	1.08 a-f	1.157 c-g
	Cd 15+Pb100	4.407 bc	4.017 ab	1.3 a-e	1.156 c-g

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.
 Means in each column followed by similar letters are not significantly different at the 5% probability level (Duncan Test).

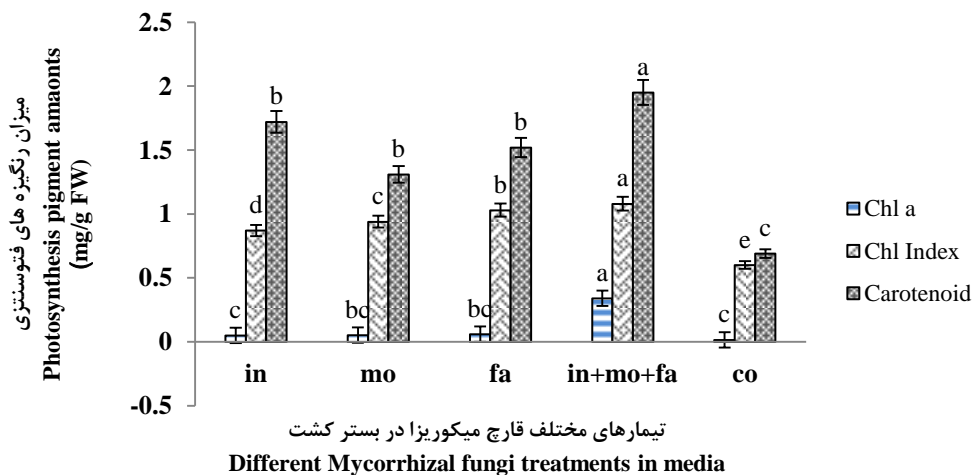
همان گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد، وجود تیمارهای مختلف فلزات سنگین در بستر کشت آویشن دناپی اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a داشت. به طوری که بالاترین میزان کلروفیل a در تیمار شاهد (عدم استعمال فلزات سنگین در بستر) (۰/۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) و کمترین میزان کلروفیل a در تیمار کادمیم+سرب در بستر کشت (۰/۴۰۸ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) مشاهده گردید. تأثیر فلزات سنگین بر میزان کلروفیل b در شاخساره آویشن دناپی معنی‌دار نبود (جدول ۱). بالاترین میزان شاخص کلروفیل در تیمار شاهد (عدم استعمال فلزات سنگین در بستر) (۱/۲۱ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) و کمترین شاخص کلروفیل در تیمارهای اعمال فلزات سنگین کادمیم (۰/۸۱ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) و سرب (۰/۷۶ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) در بستر کشت مشاهده گردید. افزایش سرب در بستر کشت محرک تولید بالاترین میزان کارتنوئید (۱/۹۲ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) بود و کمترین میزان کارتنوئید در تیمار شاهد (۰/۸۱ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) مشاهده گردید. به عبارتی حضور فلزات سنگین سرب و کادمیم باعث افزایش کارتنوئید گردید که، با نتایج سایر محققان مطابقت داشت (Ghorbanli and Kiapour, 2011).



شکل ۲- تأثیر فلزات سنگین بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در آویشن دناپی
 Figure 2- Effect of heavy metal on photosynthesis pigment amounts in *Thymus daenensis*
 (Cd: Cademium, Pb: Lead, Cd+Pb: Cademium+Lead and Co: Control)

قارچ‌های میکوریزا جنس گلوموس اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح قارچ میکوریزا در بستر) داشته‌اند؛ به طوری که بالاترین میزان کلروفیل a (۰/۳۴ میلی‌گرم در

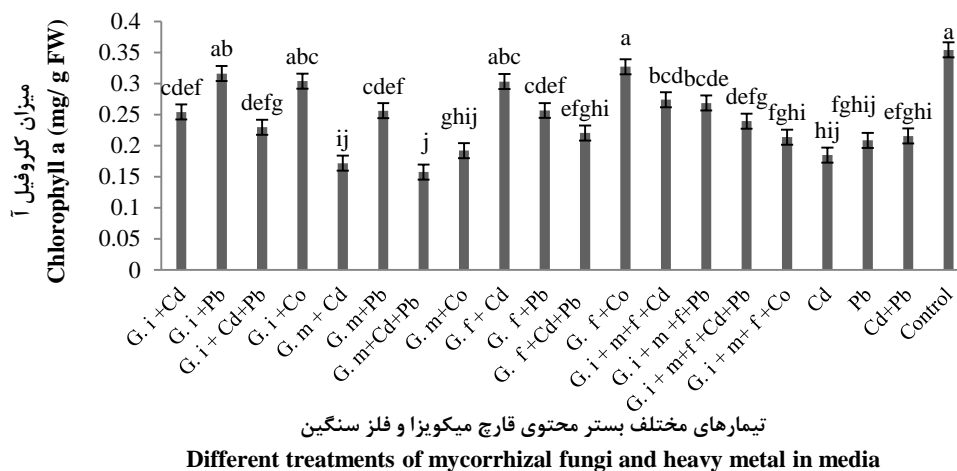
گرم وزن تر) در تیمار کاربرد توأم هر سه گونه قارچ مشاهده گردید و پایین‌ترین سطح کلروفیل a در تیمار شاهد (۰/۱۴۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) وجود داشت (شکل ۳). هم‌چنین بالاترین میزان کارتنوئید (۱/۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار کاربرد توأم هر سه گونه قارچ مشاهده گردید و پایین‌ترین سطح کارتنوئید در تیمار شاهد (۰/۶۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) وجود داشت. اگرچه بین سه جنس *G. fasciculatum* و *G. mosseae*، *G. intradicese* در کاربرد مجزا اختلاف معنی‌داری از نظر آماری وجود نداشت. همان‌گونه که در جدول ۱ مشخص است تیمارهای مختلف قارچ میکوریزا اثر معنی‌داری بر کلروفیل b نداشتند؛ اما بالاترین میزان کلروفیل b (۰/۲۰۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار همزیستی با *G. fasciculatum* مشاهده گردید (شکل ۳).



شکل ۳- تأثیر قارچ میکوریزا بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در آویشن دناپی

Figure 3- Effects of mycorrhizal fungi on photosynthesis pigment amounts in *Tymus daenensis* (Mo: *G. mosseae*, in: *G. intradicese*, fa: *G. fasciculatu* and in-mo-fa: three specie)

همان‌گونه که در شکل ۴ مشاهده می‌گردد، اثرات متقابل قارچ میکوریزا و فلزات سنگین در بستر کشت اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a در شاخساره آویشن دناپی داشت؛ به طوری که بالاترین میزان کلروفیل a در تیمار شاهد (عدم استعمال فلزات سنگین در بستر و عدم همزیستی با قارچ میکوریزا) (۰/۳۵۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کمترین میزان کلروفیل a در تیمار کادمیم+سرب و همزیستی با *G. mosseae* (۰/۱۵۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر) وجود داشت (شکل ۴).



Different treatments of mycorrhizal fungi and heavy metal in media

شکل ۴- اثرات متقابل قارچ میکوریزا و فلزات سنگین بر کلروفیل a در آویشن دنیایی

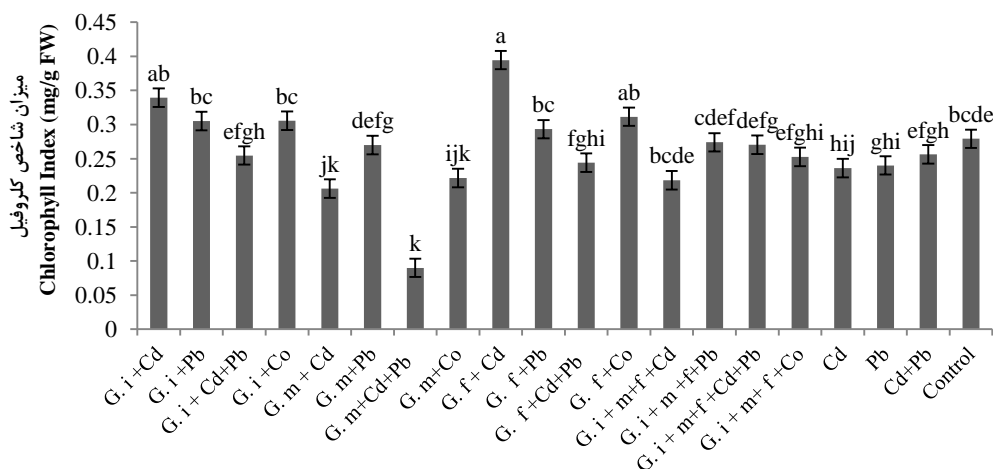
Figure 4- Interaction mycorrhizal fungi and heavy metals on chlorophyll a in *Tymus daenensis* (Mo: *G. mosseae*, in: *G. intradicese*, fa: *G. fasciculatu* and in-mo-fa: three specie) (Cd: Cademium, Pb: Lead, Cd+Pb: Cademium+Lead, Control: don't use of heavy metal and mycorrehezal fungi in media)

اثرات متقابل قارچ میکوریزا و فلز سنگین در بستر کشت آویشن دنیایی اثر معنی‌داری بر میزان شاخص کلروفیل در شاخساره داشت؛ به طوری که بالاترین میزان شاخص کلروفیل در تیمار همزیست با قارچ *G. fasciculatum* و در حضور فلز سنگین کادمیم در بستر (۰/۳۹ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) مشاهده گردید. هم‌چنین کمترین میزان شاخص کلروفیل در تیمار وجود همزمان کادمیم+سرب در بستر کشت و همزیستی ریشه آویشن دنیایی با *G. mosseae* (۰/۰۹ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) وجود داشت (شکل ۵). اثرات متقابل قارچ میکوریزا و فلز سنگین در بستر کشت آویشن دنیایی اثر معنی‌داری بر میزان کارتنوئید در شاخساره داشت. بالاترین میزان کارتنوئید در تیمار همزیست با هر سه سویه قارچ و حضور فلز سنگین سرب در بستر (۱/۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) مشاهده گردید. هم‌چنین کمترین میزان کارتنوئید در تیمار شاهد (۰/۷ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) وجود داشت (شکل ۶). این رنگیزه در سمیت‌زدایی کلروفیل و کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد نقش دارد (Sanitata and Gabbriella, 1999).

فتوسنتز، به‌عنوان مهم‌ترین فاکتور موثر بر رشد و تولید بیومس در گیاهان به واسطه افزایش سطوح فلزات سنگین در جو یا محیط خاکی تحت تأثیر منفی قرار می‌گیرد (Masarovicova et al., 1999). کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a, b و رنگدانه‌های فرعی مانند کاروتنوئیدها در اثر

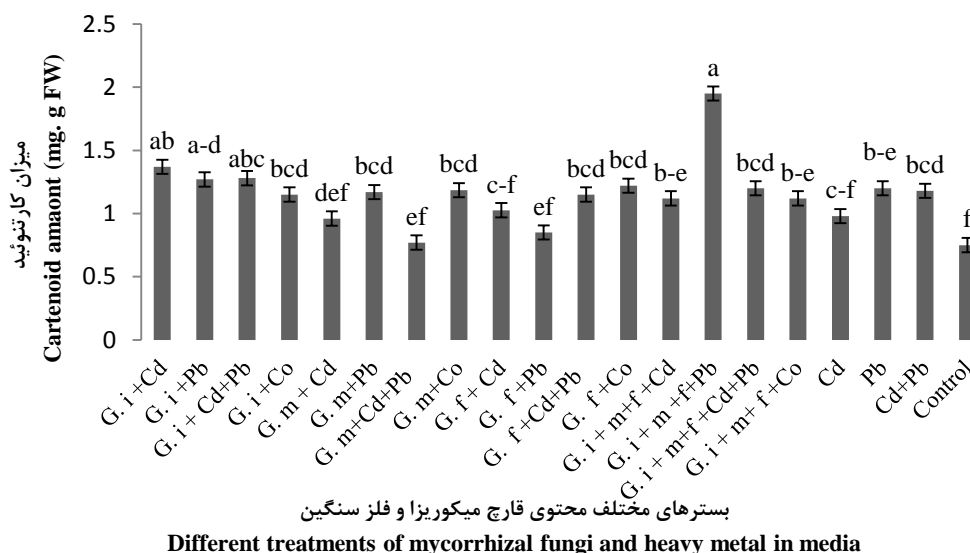
اعمال فلزات سنگین مانند مس، روی و سرب در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Vanassche and Clijsters, 1990). جایگزین شدن یون منیزیم مرکزی کلروفیل به وسیله فلزات سنگین صدمه دیگری است که باعث جلوگیری از به دام انداختن نور فتوسنتزی و در نتیجه از بین رفتن کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌شود (Prasad and Strazalka, 1999). بیوسنتز عناصر سنگین از طریق مهار دو آنزیم دلتا آمینولولولینیک اسید دهیدراتاز و پروتوکلروفیلید ردوکتاز، باعث کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌گردد (Moustakas *et al.*, 1997; Backor *et al.*, 2004).

با مقایسه نتایج این آزمایش می‌توان ادعان نمود که تنش کادمیم و سرب میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه دارویی آویشن دنایی را کاهش می‌دهد. از میان رنگیزه‌های فتوسنتزی کارتنوئید کمتر تحت تأثیر تنش فلزات سنگین قرار گرفت. کلروفیل a نسبت به کلروفیل b بیشتر تحت تأثیر تنش فلزات سنگین قرار گرفته است (جدول ۱). کاهش میزان کلروفیل و دیگر رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش فلزات سنگین به اثبات رسیده است (Manios *et al.*, 2003). علت کاهش کلروفیل، بازدارندگی بیوسنتز کلروفیل تحت تأثیر فلزات سنگین می‌باشد. فلزات سنگین با تأثیر بر غشای زیستی و ممانعت از فعالیت آنزیم‌ها، بیوسنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی را مختل می‌کند (Krantev *et al.*, 2006).



بسترهای مختلف محتوی قارچ میکوریزا و فلز سنگین
Different treatments of mycorrhizal fungi and heavy metal in media

شکل ۵- اثر متقابل قارچ مایکوریزا و فلزات سنگین بر شاخص کلروفیل در گیاه دارویی آویشن دنایی
Figure 5- Interaction of mycorrhizal fungi and heavy metal on chlorophyll index in *Tymus daenensis* (Mo: *G. mosseae*, in: *G. intradicese*, fa: *G. fasciculatu* and in-mo-fa: three specie) (Cd: Cademium, Pb: Lead, Cd+Pb: Cademium+Lead, Control: don't use of heavy metal and mycorrehezal fungi in media)



شکل ۶- اثرات متقابل قارچ میکوریزا و فلزات سنگین بر میزان کارتنوئید آویشن دناهی
Figure 5- Interaction of mycorrhizal fungi and heavy metal on carotenoid in *Tymus daenensis* (Mo: *G. mosseae*, in: *G. intradicese*, fa: *G. fasciculatu* and in-mo-fa: three specie)
(Cd: Cademium, Pb: Lead, Cd+Pb: Cademium+Lead, Control: don't use of heavy metal and mycorreghizal fungi in media)

هم‌چنین تغییرات تراوایی غشاء و فراساختار کلروپلاست به‌علت پراکسیداسیون لیپیدها، که در واکنش به فلزات سنگین القا می‌شود، نیز می‌تواند در کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی دخیل باشد (Macfarlane and Burchett, 2001). مکانیسم تأثیر فلزات سنگین روی رنگیزه‌های فتوسنتزی ممکن است به سه دلیل باشد: (۱) با ورود فلزات سنگین به داخل کلروپلاست‌ها و تجمع بالای آن‌ها در این اندامک ممکن است تنش‌های اکسیداتیو رخ دهد که موجب آسیب‌هایی از قبیل پراکسیداسیون کلروپلاست‌ها می‌شوند. هم‌چنین آن‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم ساختار و عملکرد کلروپلاست‌ها را با اتصال به گروه‌های سولفید هیدریل آنزیم‌ها از هم گسیخته و روی هم رفته بیوسنتز کلروفیل را تحت تأثیر قرار دهند. (۲) فلزات سنگین جذب و انتقال سایر عناصر ضروری از قبیل Fe^{2+} ، Mn^{2+} و Zn^{2+} را به‌وسیله تأثیرات ضدیت مهار می‌نمایند و بنابراین از این طریق ظرفیت سنتز پیگمان‌ها در برگ‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرند. (۳) مشخص شده است که فلزات سنگین در یکی از مراحل آنزیمی تأثیرات مهارکنندگی مستقیمی دارند که منجر به پراکسیداتیو شدن رنگیزه‌ها و لیپیدهای غشا و کاهش محتوای رنگیزه‌ها می‌گردد (Pourakbar and Ebrahim zadeh, 2014).

به‌طور کلی می‌توان ادعان نمود که تنش فلزات سنگین، بیوسنتز و عملکرد رنگیزه‌های فتوسنتزی خصوصاً کلروفیل را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد. از میان این رنگیزه‌ها کلروفیل بیشترین حساسیت را به تنش اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین نشان داد. به نظر می‌رسد سمیت کادمیم و سرب و تولید انواع مختلف اکسیژن واکنشگر (ROS) سبب کاهش این رنگیزه فتوسنتزی شده است که، با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Norani Azad and Kafilzadeh, 2011). همزیستی ریشه آویشن دناپی با قارچ‌های میکوریزا جنس *Glomus* فرآیند تحمل گیاهان به فلزات سنگین سرب و کادمیم را بهبود می‌بخشند.

در مورد محتوای کلروفیل a و شاخص کلروفیل تحت شرایط سمیت کادمیم *G. fasciculatum*، سمیت سرب *G. intradicese* و حضور همزمان سرب+کادمیم در بستر، ترکیب هر سه سویه قارچ آثار مخرب فلزات سنگین را به میزان قابل توجهی کاهش دادند؛ در حالی که در مورد محتوای کارتنوئید، آثار سمیت کادمیم و کادمیم+سرب در بستر را بهبود بخشید و تحت شرایط سمیت سرب بهترین تیمار همزیستی با هر سه سویه قارچ بود. به نظر می‌رسد در فرآیند تحمل گیاهان به فلزات سنگین، مهم‌ترین سازوکار بازدارنده از ورود فلزات به داخل ریشه گیاه میزبان، جذب آن‌ها توسط پوشش ریشه‌ای قارچ و کاهش دستیابی آپوپلاست به فلزات به دلیل آب‌گریز بودن پوشش قارچی، کلاته شدن توسط ترشحات قارچ و جذب آن‌ها در داخل میسیلیوم خارجی قارچ باشد (Khan, 2006; Hall, 2002).

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی به شماره ۱۰۰۱۸۱ با عنوان "بررسی اثر همزیستی قارچ‌های ویزیکولار - آریاسکولار بر مقاومت گیاه آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak.) نسبت به فلزات سنگین" است که در سال ۹۵-۱۳۹۴ با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه زابل در پژوهشکده کشاورزی به اجرا درآمده است. نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از همه افرادی که در اجرای این طرح سهیم بودند به عمل می‌آورند.

منابع

- Abdul G.K. 2005. Role of soil microbes in rhizospheres of plant growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Trace Element Medicine*, 7: 355-364.
- Aggarwal A., Sharma I., Tripathi B.N., Munjal A.K., Baunthiyal M., Sharma V. 2011. Photosynthesis: Overviews on Recent Progress and Future Perspective.

- Metal Toxicity and Photosynthesis. New Delhi: IK International Publishing House.
- Aghababaei F., Raisi F., Hoseinpour A.R. 2015. Effects of worm and mycorrhizal fungi on chemical forms of cadmium in soil with sunflower culture. *Agriculture Journal*, 108: 153-159 (In Persian).
- Alizadeh A. 2002. Water and Soil and Plant Relationship. Razavi Publication Center, Mashhad, Iran. (In Persian).
- Alizadeh oskoei M.S., Asgharzad N.A., Shariatmadari H., Asgharzadeh A., Baghban sirous Sh. 2003. Effects of two different mycorrhizal arbuscular fungi in cadmium toxicity in *lycopersicom esculentum* cultured in different phosphorus levels. *Soil Researches*, 23:1-12 (In Persian).
- Amanifar S., Asgharzad N.A., Najafi N., Oustan Sh., Bolandnazar S. 2012. Effects of mycorrhizal arbuscular fungi on Pb phytoremediation by sorghum bicolor. *Water and Soil Science*, 22:1-16 (In Persian).
- Antoniadis N., Alloway B.J. 2001. Availability of Cd, Ni and Zn to Rye grass in sewage sludge treated soils at different temperatures. *Water, Air and Soil Pollution*, 132: 201-204.
- Araghishahri M.S., Lahooti M., Ghasemzadeh F., Ejtehadi H. 2014. Evaluation of different concentration of Sb³⁺ on biochemical and physiological characters in *citrullus lantus* plant. *Journal of Horticultural Science*, 28 (1): 54-61. (In Persian).
- Backor M., Fahselt D., Wu C.T. 2004. Free proline content is positively correlated with copper tolerance of the lichen photobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta). *Plant Science*, 167: 151-157.
- Bertrand M., Poirier I. 2005. Photosynthetic organisms and excess of metals. *Photosynthetica*, 43: 345-353.
- Chatterjee J., Chatterjee C. 2000. Phototoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environmental Pollution*, 109: 69-74.
- Cheng S. 2003. Effect of heavy metal on plants and resistance mechanism. *Environmental and Pollution Research*, 10: 256-264.
- De Filippis L.F., Hampp R., Ziegler H. 1981. The effect of sub-lethal concentration of zinc, cadmium and mercury on euglena II. Respiration, photosynthesis and photochemical activities. *Archives of Microbiology*, 128: 407-411.
- E1-Kherbawy M., Angle J.S., Heggo A., Chaney R.L. 1989. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biology and Fertility of Soils*, 8: 61-65.
- Ghorbanli M., Kiapour A. 2012. Copper-induced changes on pigments and activity of non-enzymatic and enzymatic defence systems in *Portulaca oleracea* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 28 (2): 235-247. (In Persian).
- Hall J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53:1-11.

- John R., Ahmad P., Gadgil K., Sharma S. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. *Plant Soil and Environment*, 54 (6): 262-270.
- Khan A.G. 2006. Mycorrhizae remediation an enhanced form of phytoremediation. *Journal of Zhejiang University*, 7: 503-514. (In Persian).
- Khavarinejad R.A., Goshehger Z., Saadatmand S. 2010. Interaction effects of Se and Mo on photosynthetic pigments content in leaf of *lycopersicom esculentum*. *Plant Sciences Researches*, 17 (5): 14-23. (In Persian).
- Killham K., Firestone M.K. 1983. Vesicular-arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy metal deposition. *Plant Soil*, 72: 39- 48.
- Krantev A., Yordanova R., Popova L. 2006. Salicylic acid decreases Cd toxicity in maize plants. *Plant Physiology, Special Issue*, Pp: 45-52.
- Lanaras T., Moustakas M., Symeonidis L., Diomantoglou S., Karataglis S. 1993. Plant metal content, growth responses and some photosynthetic measurements of field-cultivated wheat growing on ore bodies enriched in Cu. *Physiologia Plantarum*, 88: 307-314.
- Lari Yazdi H., Ghorbanli M., Hashemi A.R., Mirzaei A. 2011. Evaluation of hipper Zinc concentration on photosynthetic pigments, proline and protein in *Triticum aestivum* spring cultivar in hydroponic medium. First National Congress of New Conclusions in Agriculture, Saveh, Iran. (In Persian).
- Leyval C., Berthelin J., Schontz D., Weissenhorn I., Morel J.L. 1991. Influence of endomycorrhizas on maize uptake of Pb, Cu, Zn and Cd applied as mineral salts or sewage sludges. In: Farmer J.G. (Ed.) *Heavy metals in the environment*. CEP Consultants, Edinburgh, Pp: 204-207.
- Macfarlane G.R. Burchett M.D. 2001. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* Forck. *Vierh. Marine Pollution Bulletin*, 42: 233-240.
- Manios T., Stentiford E.I., Millner P.A. 2003. The effect of heavy metal accumulation on the chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in a substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferous water. *Ecological Engineering*, 20: 65-74.
- Masarovicova E., Cicak A., Stefanick I. 1999. Plant responses to air pollution and heavy metal stresses. In: Pessaraki M. (Ed). *Handbook of Plant and Crop Stress*, New York: Marcel Dekker, Pp: 569-598.
- Middepogu A.R. 2016. Impact of heavy metal poisoning on cyanobacterial photosynthesis and its detoxification. *International Journal of Sciences*, 3 (4): 18-23.
- Moustakas M., Eleftheriou E.P., Ouzounidou G. 1997. Short-term effects of aluminium at alkaline pH on the structure and function of the photosynthetic apparatus. *Photosynthetically*, 34: 169-177.

- Noorani Azad H., Kafilzadeh F. 2011. The effect of cadmium toxicity on growth, soluble sugars, photosynthetic pigments and some of enzymes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Journal of Biology of Iran, 24 (6): 858- 867.
- Paul C. Tam F. 1995. Heavy metal tolerance by ectomycorrhizal fungi and metal amelioration by *Pisolithus tinctorius*. Mycorrhiza, 5: 181-187.
- Pour Akbar L., Ebrahim Zadeh N. 2014. Growth and physiological answer of *Zea mays* L. to Cu and Ni. Agriculture journal, 103: 147-157. (In Persian).
- Prasad M.N.V. Strzalka K. 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis. Heavy Metal Stress in Plants, Pp: 117-138.
- Sadravi M., Gharcheh N. 2013. The role of mycorrhizal fungi in restoring lands contaminated with toxic substances. Plant Pathology Science, 2 (2): 45-60. (In Persian).
- Sanitata di topi L., Gabbriella, R. 1999. Response to Cd in higher plant Review. Environmental and Experimental Botany, 45: 105-130.
- Schüepf H., Dehn B., Sticher H. 1987. Interaktionen zwischen VA-Mykorrhizen und Schwermetallbelastungen. Angewandte Botanik, 61: 85-95.
- Van Assche F.V. Clijsters H. 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. Plant Cell Environment, 13: 195-206.
- Vangronsveld J., Clijsters H. 1994. Toxic Effects of Metals. In: Plants and the Chemical Elements.
- Vogel-Mikus K., Pongrac P., Necemer M., Regvar M. 2006. Colonization of Zn, Cd and Pb hyper accumulator *Thlaspi praecox* indigenous *arbuscular mycorrhizal* fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. Environmental Pollution, 139: 362-371.
- Weissenhorn I., Leyval C., Belgy G., 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.
- Zengin F.K. Munzuroglu O. 2005. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 47 (2): 157-164.
- Zubek S., Stojakowska A., Anielska T., Turnau K. 2010. *Arbuscular* mycorrhizal fungi alter thymol derivative contents of *Inula ensifolia* L. Mycorrhiza, 20 (7): 497-504.

