نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، خرداد – تیر ۱۳۹۹، ص. ۴۰۸-۳۹۳

Journal of Water and Soil
Vol. 34, No. 2, May-June 2020, p. 393-408

مقاله علمی-پژوهشی

پیامد کاربرد قارچ مایکوریزا بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی ارقام گندم در خاک آلوده به سرب

کاوه کیانی جم[۱]- محمدرضا بی‌همتا[۲*]- داود حبیبی[۳]- احمد اصغرزاده[۴]- علی صارمی‌راد[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲

چکیده

افزایش آلودگی خاک با فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین موضوعات در سراسر جهان به شمار می‌رود که امروزه در کانون توجهات قرار گرفته است. سرب به‌عنوان یکی از خطرناک‌ترین فلزات سنگین و آلاینده‌های شیمیایی پایدار، بر محیط‌زیست به‌خصوص فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی موجودات زنده تأثیر می‌گذارد و در نهایت به‌سلامت محیط‌زیست و انسان آسیب‌های جدی وارد می‌کند. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر کاربرد و عدم کاربرد قارچ مایکوریزا (*Rhizophagus irregularis*) بر میزان فعالیت برخی خصوصیات بیوشیمیایی ۱۰ ژنوتیپ گندم در سه غلظت مختلف سرب (۰، ۲۱۸ و ۴۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در خاک انجام گردید. با افزایش غلظت سرب، میزان مالون دی آلدهید نیز افزایش یافت که در نتیجه‌ی تخریب سلول‌های گیاهی می‌باشد. مقادیر پرولین رقم پارس در هر دو تیمار عدم کاربرد و کاربرد قارچ مایکوریزا در غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و نیز رقم سیروان در تیمار عدم کاربرد قارچ و غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب به ترتیب در بالاترین مقدار قرار داشت. فعالیت کاتالاز رقم بهار در تیمار عدم کاربرد قارچ با غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در بیشترین سطح بود. رقم روشن در غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بالایی بود. پس از این رقم، ارقام بک کراس روشن و پیشتاز در همین غلظت میزان بیش‌تری از فعالیت این آنزیم را به خود اختصاص دادند. مقدار پراکسید هیدروژن با تغییر غلظت سرب از ۰ به ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش نشان داد، درحالی‌که در غلظت ۴۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقدار آن افزایش داشت. با افزایش غلظت سرب میزان کلروفیل a کاهش و میزان کلروفیل b افزایش یافت. کاربرد قارچ مایکوریزا بر آنزیم‌های مالون دی آلدئید، پرولین، کاتالاز و پراکسید هیدروژن تأثیرگذار بود و سبب کاهش مقدار این آنزیم‌ها در مقایسه با شاهد شد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آلاینده شیمیایی، پرولین، کاتالاز، سلول

مقدمه

در سراسر جهان، آلاینده‌های آلی و غیر آلی (فلزات و شبه فلزات با غلظت‌های معمول ۱۰۰< میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک در موجودات زنده) سبب آلودگی شدید و پراکنده خاک می‌شوند، سپس این آلودگی به سایر اجزای محیط‌زیست انتقال می‌یابد و موجب از دست رفتن تعادل و توازن زیست‌بوم می‌شود (۱، ۹، ۶۲، ۳۸ و ۵۹).

فلزات سنگین از پراهمیت‌ترین آلاینده‌های غیر آلی زیست‌محیطی به شمار می‌روند (۶۳) منابع عمده‌ای که مسبب آلودگی خاک به فلزات سنگین می‌باشند شامل منابع آنتروپوژنیک (انسان‌زاد) و لیتوژنیک (زمین‌زاد) هستند (۳ و ۵۶). دراین‌ارتباط، آلودگی خاک به‌وسیله فلزات سنگین نه‌تنها بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک تأثیر دارد و سبب کاهش فعالیت‌های بیولوژیکی و کاهش فراهمی مواد غذایی در خاک می‌شود بلکه خطر انتقال این فلزات سمی به انسان، حیوانات و محصولات کشاورزی را نیز در پی خواهد داشت (۴۰ و ۱۸).

از مسائل مهمی که در خصوص فلزات سنگین مطرح می‌باشد، تجزیه‌ناپذیری آن‌ها است و همین موضوع باعث می‌شود که مدت‌زمان زیادی در طبیعت به‌صورت پایدار باقی بمانند و در نهایت به آب‌های زیرزمینی نفوذ و یا توسط محصولات کشاورزی جذب (۱۷) و وارد زنجیره غذایی شوند. برخی از این فلزات سنگین نظیر نیکل، روی، مس و کبالت در مقادیر بهینه برای سیستم‌های

۱ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران
۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mrghanad@ut.ac.ir)
۴- دانشیار پژوهشی، مؤسسه تحقیقاتی آب خاک، کرج، ایران
۵- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، کرج، ایران
DOI: 10.22067/jsw.v34i2.81215

بیولوژیکی به‌خصوص در رشد بدن انسان ضرورت دارند اما در غلظت‌های بالا اثرات سمی در پی خواهند داشت (۱ و ۳۴)؛ در مقابل برخی دیگر از آن‌ها همچون کادمیوم، سرب و آرسنیک برای انسان، گیاهان و حیوانات ایجاد سمیت می‌نمایند (۲۷ و ۳۴).

سرب در آب، خاک و هوا پراکنش زیاد و توزیع وسیعی داشته و یکی از فلزات سنگین بسیار سمی و مهم است که نه‌تنها در بدن انسان انباشته می‌شود، بلکه قادر است تمام زنجیره غذایی را تحت تأثیر قرار دهد و سیستم سلامت انسان‌ها، حیوانات و فیتوپلانکتون‌ها را مختل کند (۴۸ و ۱۵). خاک آلوده با غلظت ۵۰۰–۱۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، سبب آسیب‌های جدی با جذب از طریق ریشه‌ها و تغییر در برخی فرایندهای متابولیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و اختلال بر رشد و نمو گیاهان می‌شود (۲۶، ۴۸، ۴۱، ۴۷، ۲۲، ۲۱ و ۲۳). ازاین‌رو، پالایش خاک‌ها و فاضلاب‌های صنعتی آلوده به سرب بسیار حائز اهمیت است. از چند روش معمول برای حذف سرب از فاضلاب‌های صنعتی استفاده می‌شود که شامل رسوب شیمیایی، مبادله یون و اسمز معکوس است، اما مشکلات عمده این روش‌ها تولید مقادیر زیاد لجن و بعضاً بی‌اثر یا پرهزینه بودن آن‌ها است (۵۰). گیاه‌پالایی یکی از فن‌آوری‌های مؤثر برای رفع آلودگی از خاک و آب با استفاده از گونه‌های مختلف گیاهی است. در این رویکرد، آلاینده‌ها به‌وسیله گیاهان جذب و سپس وارد اندام هوایی می‌شوند و در نهایت برداشت شده و از محیط خارج می‌شوند. این روش به‌منظور حذف، جابجایی و یا غیرفعال نمودن فلزات سنگین و آلاینده‌های زیست‌محیطی ارائه شده است (۵۲ و ۴۲). از مزایای عمده این روش می‌توان به سهولت در انجام و هزینه پایین آن در قیاس با سایر روش‌ها اشاره نمود. مشکل اصلی که در رابطه با گیاه‌پالایی مطرح است، بحث مدت‌زمان نسبتاً طولانی این فن‌آوری در پالایش خاک‌های آلوده می‌باشد.

گیاهان بر اساس قابلیت رشد در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین در دو گروه حساس و مقاوم طبقه‌بندی می‌شوند. گیاهان حساس در این شرایط آسیب دیده و از بین می‌روند، در مقابل گیاهان مقاوم همچنان به رشد و تولیدمثل خود ادامه می‌دهند (۷). گونه‌های گیاهی از نظر سازوکارهای تحمل غلظت‌های بالای عناصر فلزی سنگین در خاک، به‌صورت متفاوت عمل می‌کنند. در تعدادی از گونه‌ها از جذب فلزات سنگین ممانعت می‌شود که آن‌ها را اجتناب‌گر می‌نامند، دومین گروه از گیاهان شامل بیش انباشتگرها هستند که فلزات را در غلظت‌های بالا جذب می‌کنند و سازوکارهایی برای از بین بردن سمیت آن‌ها به کار می‌برند. این مکانیسم‌های زیستی جذب مقادیر بالای فلزات سنگین را ممکن می‌سازد، سومین گروه گونه‌های معرف می‌باشند که ممانعت اندکی بر جذب فلزات سنگین و فرآیندهای انتقال دارند، در این گیاهان میزان فلز انباشته‌شده، غلظت آن را (فلز) در خاک اطراف ریشه نشان می‌دهد که برای شناسایی محل معادن فلزی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۴).

همزیستی برخی میکروارگانسیم‌ها با گیاهان می‌تواند در کاهش تنش ناشی از فلزات سنگین در گیاهان مؤثر باشد. قارچ مایکوریزا آربسکولار به دلیل داشتن شبکه‌ای از هیف‌ها باعث افزایش دسترسی ریشه گیاه به مواد غذایی می‌شود. این قارچ نقش اکولوژیکی قابل توجهی در تثبیت فلزات سنگین توسط گیاه در خاک‌های آلوده به این فلزات با ایجاد کمپلکس، ایفا می‌کند و به نوبه خود به بقای گیاهان مایکوریزا کمک می‌نماید. از طرفی برخی گزارش‌ها حاکی از افزایش جذب فلزات سنگین توسط گیاهان میکوریزی است که در این صورت جهت استخراج فلزات سنگین از خاک توسط گیاه حائز اهمیت ویژه‌ای بوده و برای اصلاح خاک‌های آلوده مفید خواهد بود (۳۱). به‌طور کلی اگرچه نتایج آزمایش‌های انجام‌شده در زمینه همزیستی قارچ مایکوریزا وابسته به شرایط آزمایش و محیط می‌تواند متغیر باشد اما قارچ مایکوریزا سمیت ایجاد شده توسط فلز سنگین برای گیاه را می‌تواند تعدیل بخشد (۱۰).

در مطالعه‌ای که با هدف بررسی تأثیر قارچ مایکوریزای آربوسکولار بر تنش اکسیداتیو و برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی در گندم تحت سمیت کادمیوم (Cd) انجام شد، اذعان گردید که قارچ مایکوریزا آربوسکولار می‌تواند در تحمل سمیت کادمیوم به گندم کمک نماید (۳۰). در پژوهشی دیگر به مطالعه نقش قارچ مایکوریزا آربوسکولار در گیاه‌پالایی فلزات سنگین و تأثیر آن بر خصوصیات رشدی و فعالیت‌های بیوشیمیایی گندم در خاک‌های آلوده به روی (Zn) پرداخته شد و در نهایت نتایج مبین وجود همزیستی مؤثر میان قارچ مایکوریزا و گیاه گندم بود و از طرفی گزارش شد که این همزیستی می‌تواند جهت پاک‌سازی خاک‌های آلوده به روی مفید باشد و نقش مهمی را در افزایش بهره‌وری و امنیت غذایی ایفا نماید (۲۸). خان و همکاران (۳۲) نیز پتانسیل قارچ مایکوریزا آربوسکولار را در گیاه‌پالایی فلزات سنگین و تأثیر آن بر گندم را تحت ارزیابی قرار دادند و نتیجه‌گیری نمودند که با مایه‌زنی گیاهان به‌وسیله قارچ مایکوریزا پتانسیل گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بهبود می‌یابد.

علی‌رغم اهمیت محصول گندم در کشاورزی و نقش حیاتی آن در تغذیه جوامع بشری به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم، هیچ‌گونه اطلاعات دقیق در مورد تغییرات بیوشیمیایی ناشی از فلز سنگین سرب در گندم در دسترس نیست. علاوه بر این، اطلاعات کمی در ارتباط با همزیستی قارچ مایکوریزا با گیاه گندم تحت غلظت‌های سمی سرب و تأثیر میکوریزی شدن بر فعالیت‌های بیوشیمیایی این گیاه وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر قارچ مایکوریزا در سه غلظت پایین، متوسط و بالای سرب بر فعالیت‌های بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های گندم بود.

جدول ۱- نتایج برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1- Results of some of physical and chemical properties of the soil

عمق Depth (cm)	بافت خاک Soil texture	پتاسیم K (ppm)	فسفر P (ppm)	نیتروژن کل Total N (%)	هدایت الکتریکی EC (dS.m-1)	آهک TNV (%)	pH	کربن آلی OC (%)
0-25	Sandy Loam	150	7.65	0.102	1.63	4.3	7.49	1.02

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

مواد گیاهی مورد بررسی در پژوهش حاضر شامل ۱۰ رقم گندم با نام‌های شیراز، سپاهان، سیروان، بک کراس روشن، مرودشت، سیوند، بهار، پارس، روشن و پیشتاز بود که از بخش تحقیقات غلات موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج دریافت شد.

آماده‌سازی خاک

مقادیر خاک مورد استفاده در این آزمایش از عمق ۲۵-۰ سانتی‌متری مزرعه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج تهیه شد و بعد از هوا خشک‌کردن و عبور از الک دو میلی‌متری، نمونه‌هایی به‌صورت تصادفی برداشت شده و پیش از شروع آزمایش جهت مشخص‌شدن برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به آزمایشگاه خاکشناسی انتقال یافت. نتایج حاصل از آزمون خاک در جدول ۱ ارائه گردید.

آماده‌سازی تیمارها و کشت گلدانی

خاک مورد استفاده با توجه به نوع تیمار و سطح سرب به ۳ قسمت تقسیم شد. پس از آماده‌سازی خاک، سرب در سه غلظت ۰، ۲۱۸ و ۴۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم به روش افشانه به خاک افزوده شد و برای رسیدن به تعادل دو هفته در کیسه‌های از قبل تعبیه‌شده با حفظ رطوبت ۶۰ درصد (دمای ۵ ±۲۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید تا مخلوط عناصر و خاک به حالت تعادل رسیده و شرایط حتی‌الامکان به شرایط مزرعه شبیه‌تر گردد. با توجه به نقشه کاشت و تیمارهای مشخص‌شده، گلدان‌های با ظرفیت ۷ کیلوگرم، ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۲۶ سانتی‌متر از خاک آلوده به سرب پر شدند و سپس به گلخانه مزرعه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انتقال یافتند. برای تیمارهای دارای قارچ مایکوریزا، پس از برداشته شدن ۴-۳ سانتی‌متر از سطح خاک، قارچ *Glomus intraradices* با نام جدید *Rhizophagus irregularis* (۵۱) که از موسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شده بود، به میزان ۳۵ گرم وزن و روی سطح خاک اضافه گردید، سپس ۳۰ الی ۴۰ بذر روی سطح خاک قرار داده شد و بذور توسط خاک پوشش یافت. مقدار مشخصی از زادمایه قارچ مایکوریزا با هدف یکسان نمودن شرایط میان تیمار کاربرد و عدم کاربرد قارچ (شاهد) در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا قارچ‌ها کشته شوند و سپس به گلدان‌های تیمار شاهد اضافه گردید. آبیاری به‌وسیله تایمر انجام پذیرفت، با توجه به ظرفیت اشباع ۱ لیتری گلدان‌ها، بازه زمانی ۱۵ دقیقه‌ای به دلیل میزان آب خروجی قطره‌چکان‌ها (معادل ۴ لیتر در ساعت) انتخاب شد. پس از سبز شدن گیاهان و رسیدن به مرحله دو برگی عمل تنک‌کردن صورت گرفت و در هر گلدان ۲۰ گیاه نگه داشته شد.

اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی

با توجه به طول دوره رویشی و نشانه‌های ظاهری بلوغ فیزیولوژیکی قبل از مرحله گل‌دهی، تعداد ۳ برگ جوان با قیچی باغبانی از گیاه اصلی جدا شد و در فویل آلومینیومی درون ازت مایع قرار گرفت و به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری برخی از صفات بیوشیمیایی شامل مالون دی‌آلدئید ($\mu mol.\ g^{-1}\ FW$)، پرولین آزاد برگ ($\mu mol.\ g^{-1}\ FW$)، کاتالاز ($OD.g^{-1}\ F.W.min^{-1}$)، آسکوربات پراکسیداز ($OD.gr^{-1}\ F.W.min^{-1}$)، پراکسید هیدروژن ($nmol.g^{-1}\ F.W$) و کلروفیل برگ ($mg.g^{-1}\ FW$) منتقل گردید. جهت اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA) از روش هیث و پاکر (۲۵)، پرولین آزاد برگ از روش باتس و همکاران (۸)، کاتالاز از روش چنس و مهلی (۱۳)، کلروفیل از روش آرنون (۵) و برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (۳۹) استفاده گردید.

طرح آزمایشی و تجزیه آماری

پژوهش حاضر به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه غلظت سرب (۰، ۲۱۸ و ۴۳۷ میلی-گرم بر کیلوگرم)، دو سطح قارچ مایکوریزا (استفاده و عدم استفاده از قارچ) و ۱۰ ژنوتیپ گندم با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج واقع در ماهدشت کرج در سال ۱۳۹۲ انجام گردید. آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها و سپس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از

نرم‌افزار SAS انجام شد. نمودارها با استفاده از محیط Excel و بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها ترسم شد.

نتایج و بحث

غلظت مالون دی‌آلدئید

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس، غلظت‌های مختلف سرب و اثر قارچ مایکوریزا تغییرات قابل ملاحظه‌ای را در سطح احتمال یک درصد در مقدار مالون دی آلدئید سبب شد اما رقم گندم و اثرات برهم‌کنش میان عوامل، تأثیری بر آن نداشت (جدول ۲). یکی از نشانه‌های پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، تشکیل مالون دی آلدئید می‌باشد که یکی از محصولات حاصل از تجزیه اسیدهای چرب اشباع نشده به‌حساب می‌آید (۳۷) و شاخصی برای سنجش میزان آسیب واردشده به گیاهان تحت شرایط تنش است. با توجه به شکل ۱ با افزایش غلظت سرب خاک، میزان مالون دی آلدئید افزایش یافت به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان مالون دی آلدئید مربوط به غلظت ۴۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و کم‌ترین میزان آن مربوط به تیمار عاری از سرب (شاهد) بود. وجود فلزات سنگین می‌تواند کاهش رشد و اختلال در سوخت‌وساز گیاهان را در پی داشته باشد. زمانی‌که گیاه تحت شرایط تنش قرار می‌گیرد میزان آنزیم لیپوکسی‌ژناز بیشتر می‌شود و سبب پراکسداسیون لیپیدهای غشای سلول می‌گردد و در نتیجه باعث افزایش مقدار مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن می‌شود (۵۷).

بر اساس شکل ۲ با مصرف قارچ مایکوریزا میزان مالون دی آلدئید کاهش پیدا کرده است. استفاده از قارچ مایکوریزا با توجه به بهبود جذب عناصر غذایی در گیاهان تحت شرایط تنش و کاهش پیامدهای منفی ناشی از آن و در کل حفاظت گیاه در برابر تنش سبب کاهش مقدار مالون دی آلدئید می‌شود. در تحقیقات وو و زیا (۵۸)، سندیا و همکاران (۴۴)، احمد و همکاران (۲) و بورد و همکاران (۱۲) به تأثیری که قارچ مایکوریزا بر کاهش نشت‌پذیری غشای سلول و در نهایت محافظت گیاه در برابر تنش دارد، اشاره شده است.

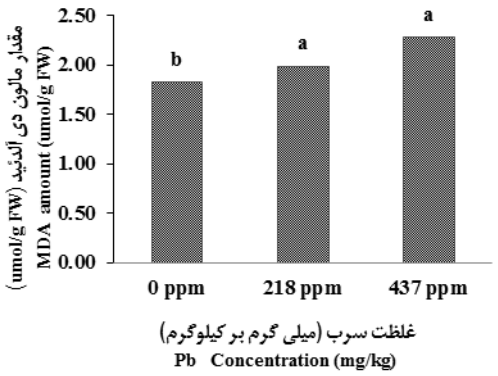
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف سرب، اثر قارچ مایکوریزا و ارقام گندم بر ویژگی‌های بیوشیمیایی مورد مطالعه

Table 2- Analysis of variance of biochemical traits influenced by different concentrations of lead, effect of Mycorrhizal fungus and studied cultivars

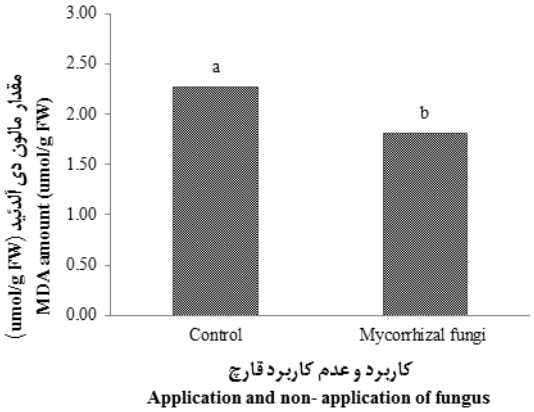
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی dF	مالون دی آلدهید MDA	پرولین Proline	کاتالاز Catalase	آسکوربات پراکسیداز APX	پراکسید هیدروژن H_2O_2	کلروفیل Chlorophyll a	کلروفیل Chlorophyll b
بلوک Block	2	11.2315^{**}	0^{ns}	0.00003^{ns}	0.0037^{ns}	0.2429^{ns}	0.0301^{ns}	0.0521^{ns}
سرب Lead	2	3.1182^{**}	2173.4622^{**}	0.11438^{**}	0.0417^{**}	4.1995^{**}	4.1896^{**}	64.3197^{**}
قارچ مایکوریزا Mycorrhizal fungus	1	9.5119^{**}	31.9834^{**}	0.02738^{**}	0.0003^{ns}	6.4483^{**}	0.0024^{ns}	0.1198^{ns}
رقم Cultivar	9	0.5676^{ns}	968.5293^{**}	1.75043^{**}	0.0999^{**}	5.5712^{**}	5.9709^{**}	102.8802^{**}
قارچ×سرب fungus×Lead	2	0.8710^{ns}	0.0976^{ns}	0.00095^{ns}	0.0043^{ns}	0.0099^{ns}	0.0032^{ns}	0.3203^{ns}
رقم×سرب Cultivar×Lead	18	0.3410^{ns}	769.7602^{**}	1.07133^{**}	0.0336^{**}	0.1954^{ns}	0.0818^{ns}	0.4436^{ns}
رقم×قارچ Cultivar×Fungus	9	0.3880^{ns}	0.5373^{ns}	0.00026^{ns}	0.0043^{ns}	0.2995^{ns}	0.013^{ns}	0.1191^{ns}
رقم×قارچ×سرب Cultivar×Fungus×Lead	18	0.3573^{ns}	1.0099^{**}	0.00066^{**}	0.004^{ns}	0.1213^{ns}	0.0154^{ns}	0.2291^{ns}
خطا Error	118	0.4198	0.31182	0.00025	0.0043	0.1333	0.02548	0.1961
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		31.83	1.93	1.92	29.92	9.10	0.74	2.67

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار.

*, ** and ns: Significant at 5 and 1 percent and non- significant, respectively



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف سرب بر مقدار مالون دی آلدئید
Figure 1- Effect of different concentrations of lead on malondialdehyde amount



شکل ۲- تأثیر قارچ مایکوریزا بر مقدار مالون دی آلدئید
Figure 2- Effect of mycorrhizal fungus on malondialdehyde amount

غلظت پرولین

غلظت سرب، اثر قارچ مایکوریزا، تنوع ژنوتیپی میان ارقام گندم، اثر برهم‌کنش رقم با سرب و اثر برهمکنش سه‌جانبه قارچ×سرب×رقم بر مقدار پرولین تأثیر معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد به دنبال داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین قارچ×سرب×رقم نشان می‌دهد که ترکیبات تیماری مختلف اثرات متفاوتی بر میزان پرولین داشتند (جدول ۳). رقم پارس در هر دو تیمار عدم کاربرد و کاربرد قارچ مایکوریزا و در غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و نیز رقم سیروان در تیمار عدم کاربرد قارچ و غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب از بالاترین مقدار پرولین برخوردار بودند (جدول ۳). همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش میزان سرب خاک به ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان پرولین افزایش و در غلظت ۴۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، میزان پرولین کاهش نشان داد که به دلیل افزایش میزان کاتالاز در این غلظت و تغییر واکنش گیاه به تنش می‌باشد. در شرایط تنش به‌خصوص تنش فلزات سنگین مقدار پرولین افزایش می‌یابد تا گیاه در برابر تنش ایجادشده از طریق سازوکارهایی نظیر تنظیم فشار اسمزی، محافظت از آنزیم‌ها و تثبیت سنتز پروتئین مقاومت نشان دهد. از طرفی تجمع پرولین اثرات تنش و اسیدیته سلول را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث تولید $NADP^+$ و تسهیل در مسیر اکسیداتیو پنتوز فسفات می‌گردد (۲۹). گندم نیز مانند سایر گیاهان به‌منظور دفاع در برابر تنش حاصل از فلز سنگین سرب، میزان پرولین آزاد را با تحریک تولید آن از اسید گلوتامیک افزایش می‌دهد (۴۶، ۴، ۶۲ و ۳۳). به‌طورکلی می‌توان گفت با مصرف قارچ مایکوریزا میزان پرولین کاهش پیدا کرده است اگرچه این کاهش قابل ملاحظه نبوده است. علت کاهش پرولین با به کاربرد بردن قارچ را می‌توان ناشی از کاهش شرایط تنش در گیاه با به‌کارگیری آن عنوان کرد؛ به بیان بهتر زمانی که قارچ مایکوریزا به محیط اضافه می‌شود تنش حاصل از سرب را می‌کاهد؛ زیرا همان‌گونه که گفته شد پرولین از اسیدآمینه‌های مهم است که در شرایط تنش تجمع می‌یابد. در نتیجه پایین آمدن مقدار آن در تیمار کاربرد قارچ را می‌توان به پایین آمدن شدت تنش نسبت

داد. این احتمال وجود دارد که قارچ به‌عنوان یک فیلتر با کلاته کردن فلزات در داخل خود و ترشح ترکیبات مختلف آلی عمل کند (۳۲) و مانع از ایجاد تنش با شدت بالاتر در گیاه شود. اسرار و همکاران (۶) اعلام داشتند که در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ مایکوریزا فعالیت پرولین افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهد این در حالی است که در پژوهش حاضر خلاف آن مشاهده شد. در مطالعه‌ای که توسط لاری‌یزدی و همکاران (۳۲) به‌منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف سرب بر صفات بیوشیمیایی گندم انجام شد، مشاهده گردید که همراه با افزایش غلظت سرب مقادیر پرولین، قندهای محلول، پراکسیداز و کاتالاز نیز افزایش و میزان نشاسته کاهش پیدا می‌کند.

فعالیت کاتالاز

تجزیه‌وتحلیل آماری نشان داد که اثر قارچ مایکوریزا، غلظت‌های مورد بررسی سرب، تنوع ژنوتیپی میان ارقام، اثر برهمکنش سرب با رقم و نیز اثر برهمکنش سه‌جانبه قارچ× سرب×رقم تفاوت معنی‌داری را از لحاظ میزان فعالیت کاتالاز در گیاهان ایجاد می‌کنند (جدول ۲). با مقایسه میانگین تیمارهای مختلف قارچ× سرب×رقم مشاهده شد که بیش‌ترین میزان فعالیت کاتالاز در رقم بهار و تیمار عدم کاربرد قارچ با غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب حاصل شده است. تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و تنش اکسیداتیو در گیاه از پیامدهای پر اهمیت سرب می‌باشد که در نتیجه آن فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های کاتالاز، سوپر اکسیداز دیسموتاز و پراکسید بیشتر می‌شود (۴۸ و ۶۲) و ممانعت از تنش اکسیداتیو و از سلول‌ها و غشا در برابر آسیب سوپراکسیدها محافظت می‌نمایند (۶۱).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر برهمکنش سه‌جانبه قارچ مایکوریزا× سرب×رقم بر میزان فعلیت پرولین و کاتالاز

Table 3- Mean comparison of triple interaction of mycorrhizal fungus×lead× cultivar on proline and catalase activity

قارچ مایکوریزا Mycorrhizal fungus	سرب Lead	رقم Cultivar	پرولین Proline (µmol. g^{-1} FW)	کاتالاز Catalase (OD.g^{-1} F.W.min^{-1})	قارچ مایکوریزا Mycorrhizal fungus	سرب Lead	رقم Cultivar	پرولین Proline (µmol. g^{-1} FW)	کاتالاز Catalase (OD.g^{-1} F.W.min^{-1})
عدم کاربرد قارچ مایکوریزا Non- application of mycorrhizal fungus	0 ppm	Shiraz	42.53^{F}	0.86^{T}	کاربرد قارچ مایکوریزا Application of mycorrhizal fungus	0 ppm	Shiraz	41.44^{G}	0.81^{U}
		Sepahan	30.61^{LM}	0.46^{Z}			Sepahan	29.52^{N}	0.42^{Za}
		Sirvan	16.18^{Y}	1.08^{NO}			Sirvan	15.64^{YZ}	1.06^{OP}
		BC Roshan	14.95^{Za}	0.20^{cb}			BC Roshan	14.73^{Za}	0.20^{bc}
		Marvdasht	18.18^{V-X}	1.20^{HI}			Marvdasht	17.66^{X}	1.20^{IJ}
		Sivand	29.9^{MN}	0.17^{c}			Sivand	29.89^{MN}	0.16^{c}
		Bahar	29.21^{NO}	1.26^{F}			Bahar	28.43^{O}	1.24^{FG}
		Pars	43.85^{E}	1.57^{C}			Pars	40.43^{H}	1.49^{E}
		Roshan	43.92^{E}	0.27^{ab}			Roshan	43.5^{E}	0.26^{ab}
		Pishtaz	9.96^{b}	0.90^{S}			Pishtaz	9.19^{b}	0.89^{S}
	218 ppm	Shiraz	43.54^{E}	0.77^{VW}		218 ppm	Shiraz	42.07^{FG}	0.74^{W}
		Sepahan	18.16^{V-X}	0.24^{bc}			Sepahan	17.72^{WX}	0.23^{bc}
		Sirvan	52.12^{A}	0.89^{S}			Sirvan	49.29^{B}	0.88^{ST}
		BC Roshan	14.13^{a}	1.04^{PQ}			BC Roshan	12.93^{a}	1.00^{R}
		Marvdasht	19.73^{TU}	1.17^{K}			Marvdasht	18.51^{V-X}	1.12^{LM}
		Sivand	25.44^{Q}	0.62^{X}			Sivand	25.28^{Q}	0.60^{X}
		Bahar	46.82^{D}	1.69^{A}			Bahar	46.68^{D}	1.65^{B}
		Pars	52.94^{A}	0.02^{d}			Pars	52.47^{A}	0.02^{d}
		Roshan	37.84^{I}	1.10^{MN}			Roshan	36.97^{I}	1.09^{MN}
		Pishtaz	48.21^{C}	0.51^{Y}			Pishtaz	48.1^{C}	0.48^{Z}
	437 ppm	Shiraz	15.44^{YZ}	1.17^{IJK}		437 ppm	Shiraz	14.97^{Za}	1.14^{L}
		Sepahan	25.74^{Q}	0.35^{a}			Sepahan	24.99^{QR}	0.31^{ab}
		Sirvan	21.87^{S}	1.22^{GH}			Sirvan	21.53^{S}	1.17^{JK}
		BC Roshan	18.71^{VW}	0.82^{U}			BC Roshan	17.8^{WX}	0.78^{V}
		Marvdasht	32.41^{K}	1.52^{D}			Marvdasht	31.23^{L}	1.53^{D}
		Sivand	18.99^{UV}	1.11^{LM}			Sivand	17.98^{V-X}	1.09^{MN}
		Bahar	20.33^{T}	0.88^{ST}			Bahar	19.91^{TU}	0.85^{T}
		Pars	24.93^{QR}	0.37^{a}			Pars	24.29^{R}	0.35^{a}
		Roshan	33.46^{J}	1.05^{PQ}			Roshan	32.68^{JK}	1.02^{QR}
		Pishtaz	28.38^{O}	0.27^{ab}			Pishtaz	27.32^{P}	0.25^{b}

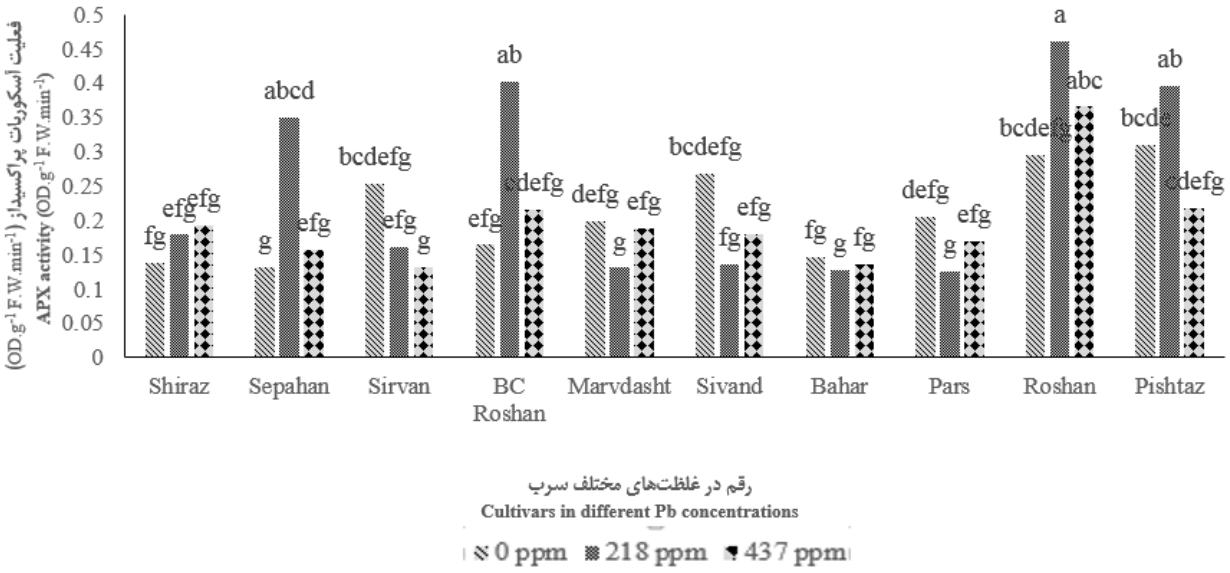
در هر ستون اعداد دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند. ترتیب گروه‌بندی میانگین‌ها از حروف بزرگ به حروف کوچک است.

In each column, means with at least one common letter are not significantly different based on Duncan's multiple range test. The order of averages grouping is from uppercase to lowercase.

گونه‌های اکسیژن فعال با تأثیری بر روی بیان ژن‌ها ایجاد می‌کنند سبب تغییر در بسیاری از فرآیندهای رشد، چرخه سلولی، مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول و پاسخ به تنش‌های غیرزنده می‌گردند (۴۹) و در نتیجه با توجه به تنوع ژنوتیپی میان گندم‌های تحت بررسی باعث ایجاد واکنش‌های متفاوت در برابر تنش فلز سنگین سرب می‌شود. تیمار عدم استفاده از قارچ سبب بالا رفتن قابل ملاحظه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به تیمار استفاده از قارچ در گیاهان شده است. به بیان شیواتر، با مصرف قارچ مایکوریزا میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا کرده است. هنگامی‌که تنش ناشی از سرب اتفاق افتد گونه‌های اکسیژن فعال همچون پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، از طریق اتصال سرب به برخی آنزیم‌های موجود در انتقال الکترون، غشا پلاسمایی و یا با متصل شدن به اسیدهای نوکلئیک به مقدار زیادی تولید می‌گردند (۱۵ و ۴۸). پراکسید هیدروژن تولیدی با پراکسیداسیون لیپیدها، باعث تخریب غشا می‌شود؛ آنزیم کاتالاز و یا پراکسیداز با تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن، مانع از فعالیت آن می‌شوند و از غشا محافظت می‌کنند (۲۰ و ۳۶)؛ لذا چنین استنباط می‌شود که میزان فعالیت کاتالاز زمانی افزایش می‌یابد که غلظت گونه‌های اکسیژن فعال بالا باشد (۲۰). بنا به آنچه گفته شد چنین نتیجه‌گیری می‌شود که با بکار بردن قارچ مایکوریزا، تنش فلز سنگین سرب برای گیاه کم‌تر شده است و به همین دلیل میزان فعالیت کاتالاز با به‌کارگیری قارچ تا حدودی روند کاهش داشته است. طی آزمایش‌های انجام‌شده، بیان گردیده است که همگام با افزایش غلظت سرب بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، آنزیم کاتالاز و مقدار پرولین نیز افزوده می‌شود (۳۷ و ۳۳).

فعالیت آسکوربات پراکسیداز

غلظت‌های تحت بررسی سرب، اثر رقم و اثر برهمکنش رقم× سرب تغییرات قابل ملاحظه‌ای را در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز سبب شدند (جدول ۲). در ارتباط با اثر برهم‌کنش سرب× رقم، با مقایسات میانگین مشخص شد که رقم روشن در غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم از فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بالایی برخوردار است. پس‌ازاین رقم، ارقام بک کراس روشن و پیشتاز در همین غلظت میزان بیش‌تری از این آنزیم را به خود اختصاص دادند (شکل ۳). همان‌طور که در شکل ۳ مشهود است، هنگامی‌که غلظت سرب افزوده شد و به ۴۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم رسید و نیز در تیمار شاهد (عدم استفاده از سرب)، مقادیر فعالیت آسکوربات پراکسیداز در این ارقام که در غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم از میزان بالای این آنزیم برخوردار بودند، کاهش یافت. نتایج پژوهش گاجوسکا و اسکلودووسکا (۱۹) روی گندم مؤید این بود که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در غلظت‌های بالای فلزات سنگین در گیاه افزایش می‌یابد. کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از پر اهمیت‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به شمار می‌روند که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کنند (۶۰).



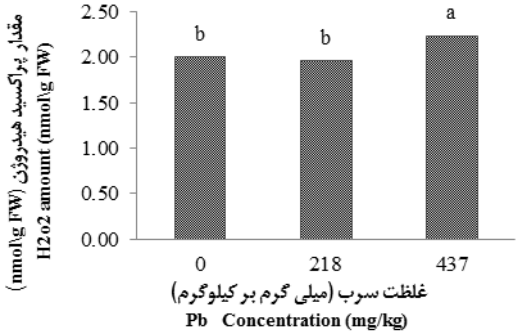
شکل ۳- اثر برهمکنش سرب و رقم بر میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز

Figure 3- Lead- cultivar interaction effect on APX activity

آسکوربات پراکسیداز یک متابولیت مهم در گیاهان است که به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان به همراه اجزا دیگر سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی فعالیت می‌کند و گیاه را در مقابل صدمات اکسیداتیو که از عوامل مختلفی از جمله متابولیسم هوازی، فتوسنتز و برخی آلودگی‌ها ناشی می‌شود، حمایت می‌کند (۱۱، ۵۳ و ۵۵).

غلظت پراکسید هیدروژن

غلظت‌های مورد بررسی سرب، اثر قارچ مایکوریزا و نیز تنوع ژنتیکی میان ارقام تغییرات معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد در مقدار آنزیم پراکسید هیدروژن گیاهان ایجاد نمودند (جدول ۲). بر اساس نتایج (شکل ۴) میزان آنزیم پراکسید هیدروژن در غلظت ۴۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بالاتر از غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تیمار شاهد بود. مقدار این آنزیم در تیمار شاهد از لحاظ عددی بیشتر از غلظت ۲۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم است اما تفاوت معنی‌داری میان آن‌ها ایجاد نشده است (شکل ۴). به‌طورکلی تنش‌های اکسیداتیو از یک عدم تعادل در تولید و متابولیسم گونه‌های فعال اکسیژن ناشی می‌شود و برای بقای سلول لازم است که تعادل میان گونه‌های فعال اکسیژن تولیدشده و متابولیسم آن وجود داشته باشد. گیاهان برای حذف یا کاهش گونه‌های اکسیژن فعال از سیستم‌های آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند (۴۱ و ۳۷). نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده ایجاد تنش اکسیداتیو ناشی از سرب و افزایش مقدار آنزیم پراکسیداز به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت آنزیمی مهم برای به حداقل رساندن آسیب‌های ناشی از افزایش میزان تولید پراکسید هیدروژن می‌باشد.

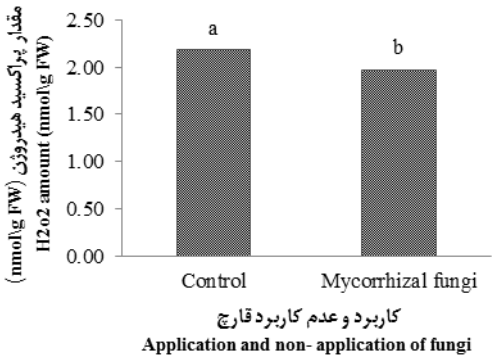


شکل ٤- تأثیر غلظت‌های مختلف سرب بر مقدار پراکسید هیدروژن

Figure 4- Effect of different concentrations of lead on H_2O_2 amount

با به‌کارگیری قارچ مایکوریزا، مقدار پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار شاهد کاهش قابل ملاحظه‌ای را در پی داشت (شکل ۵). در اثر تنش‌های زیستی و غیر زیستی گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شوند. در میان انواع فعال اکسیژن مولکول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) خطرناک‌تر است، زیرا می‌تواند از غشا عبور کرده و به اندامک‌های درون‌سلولی برسد. تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اثر تنش‌های مختلف منجر به تنش‌های اکسیداتیو می‌شود که به DNA، پروتئین، رنگدانه‌ها و همچنین چربی‌ها آسیب رسانده و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌گردد (۳۷)؛ بنابراین به کار بردن قارچ مایکوریزا به نحوی سبب کاهش تنش اکسیداتیو و تولید گونه‌های اکسیژن فعال به‌خصوص پراکسید هیدروژن شده است.

پراکسید هیدروژن نقش مهمی در ممانعت رشد گیاهان تحت تنش فلز سنگین ایفا می‌کند و به‌عنوان سوبسترا برای پراکسیدازها در سخت کردن دیواره‌های سلول شرکت می‌کند که منجر به محدودیت طویل شدن سلول می‌گردد. همچنین، H_2O_2 بر تکثیر سلول‌ها تأثیر منفی دارد (۴۵). افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و غلظت گونه‌های فعال اکسیژن در بسیاری از گونه‌های گیاهی در حضور غلظت‌های زیاد فلزات سنگین از جمله مس، سرب، روی، کادمیوم و نیکل گزارش شده است (۵۴). در تحقیق حاضر نیز با افزایش سطح سرب میزان H_2O_2 نیز افزایش یافته است ولی کاهش رشد در گیاه مشاهده نشد. نتیجه مقایسه میانگین اثر رقم بر میزان پراکسید هیدروژن در شکل ۶ قابل مشاهده است. در میان ارقام مورد مطالعه رقم پارس از بیش‌ترین و رقم شیراز از کم‌ترین مقدار پراکسید هیدروژن برخوردار بود. ارقام تحت مطالعه از نظر این آنزیم تنوع بالایی را نشان دادند، به‌نحوی‌که در ۹ گروه مقایسه میانگین طبقه‌بندی شدند. تنش‌های محیطی سبب القای ژن‌هایی با کارکردهای متفاوت در گیاهان حامل آن‌ها (ژن‌ها) می‌شوند و ماحصل بیان این ژن‌ها از طریق تحت تأثیر قرار دادن مسیرهای متابولیکی، واکنش‌های فیزیولوژیکی و در نهایت رشد و نمو به تنش ایجادشده، پاسخ می‌دهند. دلیل اصلی تنوع مشاهده‌شده میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نیز می‌تواند بیان این قبیل ژن‌ها باشد که باید در تحقیقات بعدی تحت بررسی قرار گیرد.



شکل ۵- تأثیر قارچ مایکوریزا بر مقدار پراکسید هیدروژن

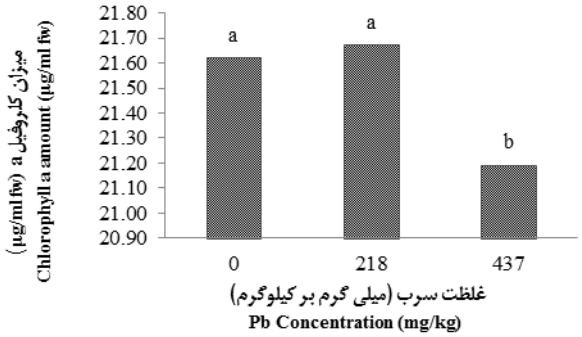
Figure 5- Effect of mycorrhizal fungus on H_2O_2 amount

شکل ٦- میانگین مقدار پراکسید هیدروژن در ارقام مختلف گندم نان

Figure 6- H_2O_2 amount mean in different bread wheat cultivars

میزان کلروفیل a و b

فلز سنگین سرب سبب کاهش معنی‌دار مقادیر کلروفیل a نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۷) که با یافته‌های دیگر محققین همسو بود (۳۵، ۱۴)؛ اما میزان کلروفیل b افزایش داشت (شکل ۹) که می‌تواند به دلیل کاهش میزان کلروفیل a و تلاش گیاه برای مقابله با اثرات تنش با افزایش میزان کلروفیل کمکی b باشد. اثر رقم بر میزان کلروفیل a و b در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲)، به‌نحوی‌که ارقام بهار و سیوند از بیش‌ترین میزان کلروفیل a (شکل ۸) و رقم پیشتاز از بیش‌ترین میزان کلروفیل b (شکل ۱۰) برخوردار بود. افزایش میزان سرب سبب کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید می‌شود (۴۳). تأثیر مستقیم فلزات سنگین به‌خصوص سرب بر هسته سلولی و برهم‌کنش فلزات سنگین با گروه‌های سولفیدریل غشا سلول‌ها و غیرفعال کردن آن‌ها یکی از علل کاهش مقدار کلروفیل و مهار بیوسنتز آن است. فلزات سنگین به‌وسیله مهار آنزیم‌های گاما آمینو لوالونیک اسید دهیدوژناز و پروتوکلروفیلد ردوکتاز سبب مهار بیوسنتز کلروفیل می‌شوند. برهم‌کنش فلز سنگین با گروه سولفیدریل آنزیم‌ها مهم‌ترین مکانیسم این مهارها عنوان شده است. علاوه بر مهار بیوسنتز کلروفیل به‌وسیله‌ی فلزات سنگین، این فلزات باعث تجزیه زیستی کلروفیل نیز می‌شوند. از اثرات دیگر فلزات سنگین بر بیوسنتز کلروفیل می‌توان به جانشین شدن آن‌ها به‌جای منیزیم مرکزی کلروفیل اشاره کرد که این جانشینی سبب کاهش دریافت نور به‌وسیله‌ی کلروفیل و منجر به کاهش فتوسنتز می‌شود (۴۸).

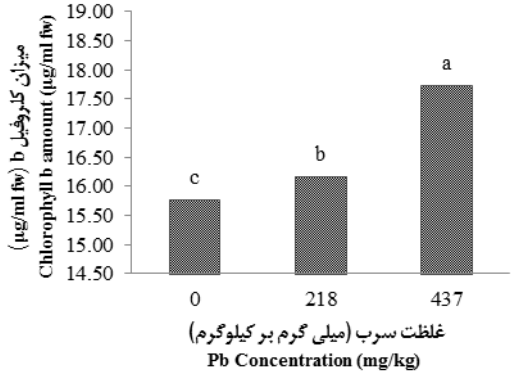


شکل ۷- تأثیر غلظت‌های مختلف سرب بر میزان کلروفیل a

Figure 7- Effect of different concentrations of lead on chlorophyll a amount

شکل ۸- میانگین میزان کلروفیل a در ارقام مختلف گندم

Figure 8- Chlorophyll a amount mean in different wheat cultivars



شکل ۹- تأثیر غلظت‌های مختلف سرب بر میزان کلروفیل b

Figure 9- Effect of different concentrations of lead on chlorophyll b amount

شکل ۱۰- میانگین میزان کلروفیل b در ارقام مختلف گندم

Figure 10- Chlorophyll b amount mean in different wheat cultivars

نتیجه‌گیری

با در نظر داشتن نتایج حاصل از پژوهش حاضر چنین استنباط می‌گردد که سرب با توجه به غلظت موجود در محیط منجر به القا تنش اکسیداتیو و ایجاد رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر در مقدار مالون دی آلدئید، پرولین، پراکسید هیدروژن و کلروفیل a و b و نیز میزان فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گندم شد. باید توجه داشت که ژنوتیپ گیاه در تحمل میزان سمیت ناشی از فلز سنگین سرب نیز بسیار حائز اهمیت بود و به‌وسیله مکانیسم‌های دفاعی مختلفی به مقابله با آسیب‌های ناشی از آن پرداخت. نه‌تنها ژنوتیپ گیاه بلکه سایر عوامل نظیر استفاده از قارچ مایکوریزا بر کاهش اثرات سوء ناشی از سرب نیز مؤثر واقع شد و به گیاهان در تحمل تنش ناشی از سمیت سرب کمک شایانی نمود. غلظت سرب در گیاه و درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه جزء ویژگی‌های مهم و ضروری می‌باشند که متأسفانه در پژوهش حاضر امکان اندازه‌گیری میسر نشد؛ لذا توصیه می‌گردد در آزمایش‌های با اهداف مشابه، مورد توجه قرار گیرند. پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آتی نسبت به تعیین میزان غلظت سرب و حتی سایر فلزات سنگین در محصول نهایی گندم اقدام گردد و با استانداردهای ملی ایران مقایسه شود تا نگرانی‌هایی که در خصوص واردشدن این فلزات به رژیم غذایی وجود دارد، برطرف گردد.

منابع

1- Adriano D.C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. New York: Springer-Verlag.
2- Ahmad P., Hakeem K.R., Kumar A., Ashraf M., and Akram N.A. 2012. Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.). African Journal of Biotechnology 11(11): 2694-2703.
3- Alloway B.J. 1995. Soil Processes and the Behaviour of Heavy Metals. p. 11-37. In: B. J. Alloway (ed) Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional, London.
4- Andrade S.A.L., Gratao P.L., Schiavinato M.A., Silveira A.P.D., Azevedo R.A., and Mazzafera P. 2009. Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations. Chemosphere 75: 1363-1370.
5- Arnon D. 1949. Estimation of Total chlorophyll. Plant Physiology 24(1): 1-15.
6- Asrar A.A., Abdel-Fattah G.M., and Elhindi K.M. 2012. Improving growth, flower yield, and water relations of snapdragon (*Antirhinum majus* L.) plants grown under well-watered and water stress conditions using arbuscular mycorrhizal fungi. Photosynthetica 50(2): 305-316.
7- Baker A.J.M., Mc-Grath S.P., Reeves R.D., and Smith J.A.C. 2001. Metal hyper accumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: Phytoremediation of contaminated soil and water (eds. Terry N., and Banuelos G.). CRC Press, Boca Raton, Florida, USA; 2000; 85-107.in *Zea mays* roots. Journal of Plant Nutrition 24(7): 1085-1097.

8- Bates L., Waldren R., and Teare I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil 39: 205-207.
9- Bhargava A., Carmona F.F., Bhargava M., and Srivastava S. 2012. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. Journal of Environmental Management 105: 103-120.
10- Biro I., and Takacs T. 2007. Effects of *Glomus mossea* strains of different origin on plant macro and micronutrient uptake in Cd polluted and unpolluted soils. Acta Agronomica Hungarica 55(2): 1-10.
11- Bonifacio A., Martins M.O., Ribeiro C.W., Fontenele A.V., Carvalho F.E., Margis-Pinheiro M., and Silveira J.A. 2011. Role of peroxidases in the compensation of cytosolic ascorbate peroxidase knockdown in rice plants under abiotic stress. Plant Cell Environment 34: 1705-1722.
12- Borde M., Dudhane M., and Jite P. 2012. Growth, water use efficiency and antioxidant defense responses of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Allium sativum* L. under drought stress condition. Annals of Plant Science 1: 6-11.
13- Chance B., and Maehly A. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in enzymology 2: 764-775.
14- Chehreganirad A., Farzan S., and Shirkhani Z. 2017. Effect of lead treatment on some morphological and physiological parameters of *Petunia hybrida* L. Journal of Plant Researches 30(1): 226-243.
15- Chin L. 2007. Investigations into Lead (Pb) Accumulation in *Symphytum officinale* L. A Phytoremediation Study 6(10): 1182-1192.
16- Dey U., and Mondal N.K. 2016. Ultrastructural deformation of plant cell under heavy metal stress in Gram seedlings. Cogent Environmental Science 2: 1196472. http://dx.doi.org/10.1080/23311843.2016.1196472
17- Ekmekyapar F., Sabudak T., and Seren G. 2012. Assessment of heavy metal contamination in soil and wheat (*Triticum Aestivum* L.) plant around the Çorlu Çerkezkoy highway in Thrace region. Global NEST Journal 14(4): 496-504.
18- Facchinelli A., Sacchi E., and Mallen L. 2001. Multivariate statistical and gis-based approach to identify heavy metal sources in soils. Environmental Pollution 114(3): 313-324.
19- Gajewska E., and Skłodowska M. 2008. Differential biochemical responses of wheat shoots and roots to nickel stress: antioxidative reactions and proline accumulation. Plant Growth Regulation 54(2): 179-188.
20- Gill S.S., and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48(12): 909-930.
21- Gupta D.K., Huang H.G., Yang X.E., Razafindrabe B.H.N., and Inouhe M. 2010. The detoxification of lead in *Sedum alfredii* H. is not related to phytochelatins but the glutathione. Journal of Hazardous Materials 177437-177444.
22- Gupta D.K., Nicoloso F.T., Schetinger M.R.C., Rossato L.V., Pereira L.B., and Castro G.Y. 2009. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. Journal of Hazardous Materials 172: 479-484.
23- Hadi F., Bano A., and Fuller M.P. 2010. The improved phytoextraction of lead (Pb^{2+}) and the growth of maize (*Zea mays* L.): the role of plant growth regulators (GA3 and IAA) and EDTA alone and in combinations. Chemosphere 80: 457-462.
24- Hajiboland R. 2007. Uptake, transport and tolerance to Mn and Cu in some species from flora of Iran. Iranian Journal of Biology 2: 174-190. (In Persian with English Abstract)
25- Heath R.L., and Packer L. 1968. Phyto Peroxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics 125(1): 189-198.
26- Kabata-Pendias A. 2004. Soil-Plant transfer of trace elements-an environmental issue. Geoderma 122:143-149.
27- Kabata-Pendias A. 2011. Trace elements in soils and plants. CRC Press Taylor & Francis Group, 534.
28- Kanwal S., Bano A., and Malik R.N. 2016. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metals and effects on growth and biochemical activities of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants in Zn contaminated soils. African Journal of Biotechnology 15(20): 872-883.
29- Kavi Kishor P.B., Sangam S., Amruth R.N., Sri-Laxmi P., Naidu K.R., Rao K., Sreenath R., Reddy K.J., Theriappan P., and Sreenivasulu N. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Current Science 88: 424-438.
30- Khalighi Jamal-Abad A., and Khara J. 2008. The effect of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus* intraradices on some growth and physiological parameters in wheat (cv. Azar 2) plants under cadmium toxicity. Iranian Journal of Biology 21(5): 1-15. (In Persian with English Abstract)
31- Khan A.G. 2006. Mycorrhizoremediation- an enhanced form of phytoremediation. Journal of Zhejiang University Science B 7: 503-514.
32- Khan A., Sharif M., Ali A., Shah S.N.M., Mian I.A., Wahid F., Jan B., Adnan M., Nawaz S., and Ali N. 2014. Potential of AM Fungi in Phytoremediation of Heavy Metals and Effect on Yield of Wheat Crop. American Journal of Plant Sciences 5: 1578-1586.
33- Lari Yazdi H., Ghorbanli M., Mirzaei M., and Hashemi A.R. 2011. Investigating the effects of different concentrations of lead on proline, soluble sugars, starch and antioxidant activity of catalase and peroxidase in

Triticum aestivum L. wheat. Pishtaz cultivar, the first national conference on topics Modern Agriculture, Saveh, Islamic Azad University Saveh Branch.
34- Li N., Kang Y., Pan W., Zeng L., Zhang Q., and Luo J. 2015. Concentration and transportation of heavy metals in vegetables and risk assessment of human exposure to bioaccessible heavy metals in soil near a waste-incinerator site, South China. Science of Total Environment 521-522: 144-151.
35- Mahdavian K., Ghaderian M., and Torkzade-Mahani M. 2016. The effect of different concentrations of lead on some physiological parameters in two populations of Harmal (*Peganum harmala* L.). Journal of Cell & Tissue 6(4): 543-555. (In Persian with English Abstract)
36- Malecka A., Piechalak A., Mensinger A., Hanc D., Baralkiewicz D., and Tomaszewska B. 2012. Antioxidative Defense System in *Pisum sativum* Roots Exposed to Heavy Metals (Pb, Cu, Cd, Zn). Polish Journal of Environmental Studies 21(6): 1721-1730.
37- Michalak A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal Stress. Polish Journal of Environmental Studies 15: 523-530.
38- Mico C., Recatala L., Peris M., and Sanchez J. 2006. Assessing heavy metal sources in agricultural soils of a European Mediterranean area by multivariate analysis. Chemosphere 65: 863-872.
39- Nakano Y., and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.
40- Parizanganeh A.H., Bijnavand V., Zamani A.A., and Hajabolfath A. 2012. Concentration, Distribution and Comparison of Total and Bioavailable Heavy Metals in Top Soils of Bonab District in Zanjan Province. Open Journal of Soil Science, 2: 123-132.
41- Pourcel L., Routaboul J., Cheynier V., Lepiniec L., and Debeaujon I. 2006. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. TRENDS in Plant Science 12: 29-36.
42- Rafati M., Khorasani N., Moattar F., Shirvany A., Moraghebi F., and Hosseinzadeh S. 2011. Phytoremediation Potential of Populus albaand Morus albafor Cadmium, Chromuim andNickel Absorption from Polluted Soil. International Journal of Environmental Research 5(4): 961-970.
43- Roberts A.E., Boylen C.W., and Nierzwicki-Bauer S.A. 2014. Effects of lead accumulation on the *Azolla caroliniana–Anabaena*association. Ecotoxicology and environmental safety 102: 100-110.
44- Sandhya V., Ali S.Z., Grover M., Reddy G., and Venkateswarlu B. 2010. Effect of plant growth promoting Pseudomonas spp. On compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. Plant Growth Regulation 62: 21-30.
45- Santoro A., Lioi M.B., Monfregola J., Salzano S., Barbieri R., and Ursini M.V. 2005. L-Carnitine protects mammalian cells from chromosome aberrations but not from inhibition of cell proliferation induced by hydrogen peroxide. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 587(1): 16-25.
46- Schaller H. 2003. The role of sterolsin plant growth and development. Progrss in Lipid Research Planta 42: 63-175.
47- Seregin I.V., and Kosevnikova A.D. 2008. Roles of root and shoot tissues in transport and accumulation of cadmium, lead, nickel, and strontium. Russian Journal Plant Physiology 55: 1-22.
48- Sharma P., and Dubey R.S. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal Plant Physiology 17: 35-52.
49- Singh Gill S., and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.
50- Singh D., Tiwari A., and Gupta R. 2012. Phytoremediation of lead from wastewater using aquatic plants. Journal of Agricultural Technology 8(1): 1-11.
51- Stockinger H., Walker C., and Schubler A. 2009. *Glomus intraradices* DAOM197198', a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*. New Phytologist 183(4): 1176–1187. doi*:*10.1111/j.1469-8137.2009.02874.x
52- Susarla S., Medina V.F., and McCutcheon S.C. 2002. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. Ecological Engineering 18: 647-58.
53- Tewari R.K., Hadacek F., Sassmann S., and Lang I. 2013. Iron deprivation-induced reactive oxygen species generation leads to non-autolytic PCD in *Brassica napus* leaves. Environmental and Experimental Botany 91: 74-83.
54- Vessey J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and soil 255(2): 571-586.
55- Wang J., Zeng Q., Zhu J., Liu G., and Tang H. 2013. Dissimilarity of ascorbate–glutathione (AsA–GSH) cycle mechanism in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under experimental free-air ozone exposure. Agriculture Ecosystems and Environment 165: 39-49.
56- Wei B., and Yang L. 2010. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. Micro chemical Journal 94(2): 99-107.
57- Wojdyla A.T. 2004. Chitosan (biochikol 020 PC) in the control of some ornamental foliage diseases. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences 69: 705-715.
58- Wu Q., and Xia R. 2004. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and osmotic adjustment matter

content of trifoliate orange seedlings under water stress. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 30: 583-588.
59- Yalcin M.G., Battaloglu R., and Ilhan S. 2007. Heavy metal sources in Sultan Marsh and its neighborhood, Kayseri, Turkey. Environmental Geology 53: 399-415.
60- Yong Z., Hao-Ru T., and Ya L. 2008. Variation in antioxidant enzyme activities of two strawberry cultivars with short term low temperature stress. Journal of Agricultural Sciences 4: 456-462.
61- Zhang H.H., Tang M., and Zheng C. 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. European Journal of Soil Biology 46: 306-311.
62- Zhang Q., Shi X.Z., Huang B., Yu D.S., Wang H.J., and Sinclair F.L. 2007. Surface water quality of factory based and vegetable based peri-urban areas in the Yangtze River Delta region. China Catena 69: 57-64.
63- Zhao Q., Wang Y., Cao Y., Chen A., Ren M., and Ge Y. 2014. Potential health risks of heavy metals in cultivated topsoil and grain, including correlations with human primary liver, lung and gastric cancer, in Anhui province, Eastern China. Science of the Total Environment 470-471: 340-347.

Journal of Water and Soil
Vol. 34, No. 2, May-June 2020, p. 393-408

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، خرداد – تیر ۱۳۹۹، ص. ۴۰۸-۳۹۳

Effect of Mycorrhizal Fungus Application on Some Biochemical Characters of Wheat Cultivars in Lead Contaminated Soil

K. Kiani Jam[1]- M.R. Bihamta[2*]- D. Habibi[3]- A. Asgharzadeh[4]- A. Saremirad[5]

Received: 23-06-2019
Accepted: 01-02-2020

Introduction: Nowadays, increasing soil contamination by heavy metals is one of the most important issues around the world, and is the focus of attention. Lead as the most dangerous heavy metal and persistent chemical pollutant affects the environment, especially the metabolic and physiological activities of organisms and ultimately cause serious damage to the environment and human health. The purpose of this study was to investigate the effect of mycorrhizal fungus (*Rhizophagus irregularis*) on some biochemical traits of 10 wheat genotypes in three different concentrations of lead heavy metal (0, 218 and 437 ppm) in soil.

Material and Methods: The present study was conducted as factorial experiment based on randomized complete block design with three replications. The factors included lead in three concentrations (0, 218 and 437 mg / kg), mycorrhizal inoculum (addition and no addition), and 10 wheat genotypes (Shiraz, Sepahan, Sirvan, Back Cross Roshan, Marvdasht, Sivand, Bahar, Pars, Roshan, and Pishtaz). Soil samples were prepared from a depth of 0-25 cm of the research farm of Islamic Azad University, Karaj Branch. Samples were taken randomly. After soil drying and passing through a 2 mm sieve, they were transferred to the soil science laboratory to determine some of the physical and chemical properties. According to the soil test results, the soil was sandy loam, a semi-light soil with 25% clay, 25% silt and 50% sand, with pH = 7.49 and salinity of 1.63 dS. m^{-1}, and also free of heavy metals. The soil was sterilized for four hours by an autoclave at the temperature of 121 °C and a pressure of 1.5 atm. After soil preparation, the lead was added to the soil at three concentrations of 0, 218 and 437 ppm, and stored in a pre-embedded bag with 60% moisture content to achieve a two-week equilibrium. In order to inoculate the mycorrhizal fungus, after removal of 3-4 cm from the soil surface, *Rhizophagus irregularis* (35 g) was added to the soil surface, then 30 to 40 seeds were placed on the soil surface and covered with soil. In the control samples without mycorrhizal fungus, a certain amount of mycorrhizal fungus placed at 105 ºC to kill the fungus and then added to the pots.

Results and Discussion: Malondialdehyde concentration increased by increasing the concentration of lead. The highest concentrations of proline were belonged to the level 218 ppm of lead, in Pars cultivar in both treatments of with and without mycorrhiza fungus as well as Sirvan cultivar in the treatment of without fungi, respectively. The activity of Catalase was highest in the treatment of 218 ppm of lead without fungus. Roshan cultivar also showed high levels of ascorbate peroxidase activity in 218 ppm of lead. Similar to cultivar, BC Roshan and Pishtaz cultivars also showed high ascorbate peroxidase activity in this concentration of lead. The amount of hydrogen peroxide was reduced by changing the concentration of lead from 0 to 218 ppm, while its amount increased at 437 ppm concentration. With increasing lead concentration, the amount of chlorophyll a decreased while chlorophyll b increased. Using mycorrhizal fungus, the amount of malondialdehyde, proline and hydrogen peroxide and catalase content decreased compared with control. It seems that lead, due to its concentration in the environment, leads to the induction of oxidative stress and the formation of free radicals and thus change in the amount of biochemical traits of wheat such as malondialdehyde, proline, hydrogen peroxide and chlorophyll a and b and activity of catalase and ascorbate peroxidase. The genotype of the plant is very important factor in tolerating the toxicity of lead, and it deals with various protective mechanisms. Not only the plant genotype but also environmental factors such as the use of mycorrhizal fungus are effective in reducing the harmful effects of lead, and helps plants tolerate the stress caused by lead toxicity.

Conclusion: Lead in the soil causes changes in the biochemical content of wheat cultivars. The amount of

1 and 3- M.Sc. and Associate Professor, Department of Agronomy, Karaj Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran, respectively.
2- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: mrghanad@ut.ac.ir)
4- Associate Professor, Department of Soil Biology, Soil and Water Research Institute
5- Plant Breeding Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Young Researchers and Elite Club, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
DOI: 10.22067/jsw.v34i2.81215

change depends on the plant's genotype, lead concentration, and other factors in the soil, such as symbiotic fungi. As shown in the present study, mycorrhizal fungus was effective in eliminating the negative effects of lead during symbiotic with wheat. It is suggested further studies to determine the concentration of lead and even other heavy metals in wheat genotypes and to compare with Iranian national standards in order to overcome the concerns about the entry of these metals into the diet.

Keywords: Ascorbate, Catalase, Cell, Chemical pollutant, Peroxidase, Proline