

تأثیر تلقیح قارچ میکوریزا و کود فسفر بر برخی صفات مرفولوژیک و فیزیولوژیک شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) در خاک آلوده به آرسنیک

مدینه بیژنی^۱، محمدرضا اصغری پور^{۲*} و علیرضا سیروس مهر^۲

^۱ گروه کشاورزی اکولوژیک، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی

^۲ گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۹/۰۶)

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر گونه‌های قارچ میکوریزا و فسفر روی شنبلیله در خاک‌های آلوده به آرسنیک بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه دانشگاه زابل اجرا گردید. فاکتور اول چهار گونه میکوریزا (*Glomus mosseae*، *G. intradices* و *G. versiform* و عدم کاربرد)، فاکتور دوم سه سطح آرسنیک (صفر، ۱۵ و ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) و فاکتور سوم دو سطح فسفر (صفر و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) بودند. در این مطالعه سمیت آرسنیک بر رشد رویشی، تجمع آرسنیک در شاخساره، آرسنیک ریشه، فسفر برگ، نیتروژن برگ، پرولین، کربوهیدرات، شاخص کلروفیل و همچنین درصد کلونیزاسیون ریشه بررسی شد. افزودن آرسنیک به طور معنی داری صفات رویشی، شاخص کلروفیل، غلظت فسفر، نیتروژن برگ و درصد کلونیزاسیون ریشه را کاهش داد. بالاترین سطح آلودگی به ترتیب سبب افزایش ۹۵، ۹۹، ۳۳ و ۳۲ درصدی آرسنیک شاخساره، آرسنیک ریشه، پرولین و کربوهیدرات نسبت به شاهد گردید. کاربرد میکوریزا و فسفر نیز به جز درصد کلونیزاسیون بر سایر صفات تأثیر معنی داری داشتند. اثر متقابل آرسنیک و میکوریزا بر وزن تر شاخساره، درصد کلونیزاسیون و تجمع آرسنیک شاخساره و اثر متقابل آرسنیک و فسفر بر وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر و خشک ریشه و تجمع آرسنیک در شاخساره معنی دار بود. در واکنش به اثرات مخرب آرسنیک *G. intradices* با کاهش ۲۵ درصدی تجمع آرسنیک نسبت به سایر گونه‌ها دارای عملکرد بهتری بود. این آزمایش نشان داد میکوریزا و فسفر نقش تعدیل کننده بر اثر منفی سمیت آرسنیک بر صفات را دارا بودند و می توانند از طریق بهبود رشد رویشی در کاهش اثرات منفی تنش آرسنیک مؤثر واقع گردند.

کلمات کلیدی: تنظیم کننده‌های اسمزی، تنش فلزات سنگین، شاخص‌های رویشی، کود زیستی

مقدمه

(کردوانی، ۱۳۸۱؛ Jafari et al., 2018؛ Amiri et al., 2019)

در میان آلاینده‌های محیط زیست عناصر سنگین به علت خواص سمی و تجمع پذیری و همچنین طول عمر زیاد در بدن موجودات زنده دارای اهمیت ویژه‌ای هستند. در سال‌های اخیر بسیاری از کشورها به بحران آلودگی آب و خاک با عناصر

پیشرفت سریع تکنولوژی و توسعه روزافزون کارخانه‌های صنعتی و همچنین مصرف زیاد کودهای شیمیایی و سموم دفع آفات و دیگر مواد شیمیایی در کشاورزی در دهه‌های اخیر امکانات زیادی را برای آلوده شدن خاک‌ها فراهم آورده است

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: m_asgharipour@uoz.ac.ir

سنگین مبتلا شده‌اند (Smith et al., 1998; Padash et al., 2019). در این میان آرسنیک یکی از عناصر خطرناک برای سلامت انسان، حیوان و گیاه است که در بسیاری از ضایعات حاصل از فعالیت‌های انسان (استفاده مکرر از کودهای شیمیایی و آفتکش‌ها) و همچنین در برخی مناطق ژئوشیمیایی خاص وجود دارد. این عنصر به زیست‌بوم، پیکره گیاه و در نهایت زنجیره غذایی راه می‌یابد و خسارت‌های جدی به بار می‌آورد (Baroni et al., 2000). در این راستا کاربرد فناوری‌های جدید در زمینه استفاده از کودهای شیمیایی فسفره و کودزیستی در شرایط آلودگی خاک به فلزات سنگین جهت کاهش آسیب به گیاه و جلوگیری از ورود عنصر سنگین به اندام‌های هوایی اهمیت زیادی دارد. از راهکارها جهت تخفیف سمیت آرسنیک استفاده از فسفر و همچنین کودهای زیستی است (علیزاده اسکویی و همکاران، ۱۳۸۸؛ Tu et al., 2003). با توجه به آنکه فسفر و آرسنیک هر دو متعلق به گروه پنجم جدول تناوبی عناصر شیمیایی هستند دارای رفتار مشابهی در خاک و گیاه می‌باشند. افزودن فسفات به خاک می‌تواند حرکت آرسنیک رو به پایین را افزایش دهد و منجر به افزایش آبهشویی از سطح خاک شود (Talukder et al., 2010). در اثر رقابتی که بین فسفات و آرسنات در مکان‌های جذب ایجاد می‌شود، جذب آرسنیک می‌تواند با کاربرد فسفات به طرز قابل توجهی تحت تأثیر قرار گیرد (Sisr et al., 2007). تخفیف سمیت آرسنیک با کاربرد فسفر به شرایط کشت نیز وابسته است. براساس تحقیقات صورت گرفته بر سرخس در کشت هیدروپونیک، فسفر مانع جذب آرسنیک شد (Tu et al., 2003)؛ در حالیکه افزودن فسفر به خاک غلظت آرسنیک را در گیاه افزایش داد (Liao et al., 2004).

استفاده از کودهای زیستی از جمله قارچ‌های میکوریزا نیز از راهکارهای کاهش سمیت آرسنیک معرفی گردیده است (Chen et al., 2007). قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا (AM) به‌علت توانایی برای بهبود وضعیت سلامتی و رشد گیاه تحت شرایط تنش به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. این مطالعات نشان می‌دهند که AM علاوه بر بهبود وضعیت فسفر

و جذب برخی عناصر ضروری غالباً از گیاهان در مقابل فلزات غیرضروری حفاظت می‌کند (Smith and Read, 2008). به علت تشابه زیاد رفتار شیمیایی آرسنات و فسفات، به‌نظر می‌رسد که AMF می‌تواند پویایی آرسنیک در خاک را نیز تحت تأثیر قرار دهد. در گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا ناقلین فسفات میکوریزایی فعال شده (Liu et al., 2005) و سبب انسداد مسیرهای جذب مستقیم در ریشه‌های گیاه می‌شود (Smith et al., 1998). سرکوب فعالیت ناقلین فسفات در ریشه‌های گیاه می‌تواند تحمل به افزایش آرسنیک را در گیاه افزایش دهد (Gonzalez-Chavez et al., 2002). افزون بر این با بهبود وضعیت فسفر در گیاه میزبان، AMF رشد گیاه را بهبود می‌دهد که سبب رقیق‌شدن غلظت آرسنیک در بافت‌های گیاه می‌شود (Chen et al., 2007; Gonzalez-Chavez et al., 2002).

گرچه مطالعات بسیاری نشان می‌دهند که AM می‌تواند غلظت آرسنیک در گیاهان را کاهش و خسارت آن را کم کند (Liu et al., 2005; Smith and Read, 2008) با این حال اطلاعات اندکی در خصوص نقش AM در تعاملات As/P در سطوح مختلف فراهمی P در خاک‌های آلوده‌شده با آرسنیک به‌طور طبیعی روابط خاک - گیاه وجود دارد. بنابراین این مطالعه با استفاده از گونه خوراکی شبلیله در خاک‌های آلوده شده به‌طور مصنوعی با هدف مقایسه اثرات کاربرد کود فسفر و تلقیح AM بر رشد گیاه جذب As و P اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۹۳-۱۳۹۲ در گلخانه تحقیقاتی به‌صورت آزمایش فاکتوریل سه فاکتوره (تلقیح با قارچ میکوریزا، آرسنیک و فسفر) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار دانشگاه زابل اجرا شد. تلقیح با میکوریزا در چهار سطح (شامل تلقیح با گونه‌های *Glomus mosseae*، *G. intraradices*، *G. versiform* و شاهد بدون تلقیح)، عامل آرسنیک در سه سطح (شامل افزودن آرسنیک به مقدار صفر، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و عامل فسفر در دو سطح (شامل افزودن

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

EC	pH	N کل	کربن آلی	P قابل دسترس	K قابل دسترس	Fe قابل دسترس	Zn قابل دسترس	Mn قابل دسترس	بافت خاک
dSm-1		%		ppm					
۲/۲	۷/۸	۰/۰۳	۰/۲۹	۱۲	۲۵۰	۸	۴	۳	لوم رسی

فسفر به مقدار صفر و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک به شکل کود سوپرفسفات تریپل) بود. قارچ میکوریزا از شرکت زیست فناوری توران شاهرود و کود سوپرفسفات تریپل نیز از شرکت شکوه شیمی سهند خریداری گردید. خاک مورد استفاده در این مطالعه از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری خاک مزرعه پژوهشگاه کشاورزی دانشگاه زابل تهیه شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده شده در جدول ۱ ارائه شده است.

جهت تهیه غلظت‌های مختلف آرسنیک از نمک دی‌سدیم آرسنات (AsHNa_2O_4) استفاده شد. برای اختلاط کامل خاک با آرسنیک، خاک در گلدان‌های پلاستیکی به مدت حدود ۵ ماه در دوره‌های خشک - مرطوب متوالی در دمای اتاق خوابانده شدند. در هر دوره خشک - مرطوب شدن، خاک گلدان‌ها اشباع و بعد اجازه داده شد تا هوا خشک گردد به طوریکه رطوبت خاک به حد نسبتاً ثابتی برسد. هر دوره خشک - مرطوب ۴۰ روز طول کشید و بعد از هر دوره خاک گلدان‌ها به منظور ایجاد یکنواختی در غلظت آرسنیک کاملاً مخلوط می‌گردید. پس از انجام واکنش‌ها خاک‌های آلوده به آرسنیک دو بار (با یک هفته فاصله) با دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲ ساعت در داخل کیسه‌های کنفی ضد عفونی شدند.

آزمایش گلدانی در ۲۰ بهمن ماه ۱۳۹۲ آغاز و در ۱۵ اردیبهشت ۱۳۹۳ پایان یافت. درجه حرارت حداقل و حداکثر گلخانه ۱۵ و ۳۰ درجه سانتیگراد بود. بذره‌های شنبلله (توده بومی زابل) از جهاد کشاورزی زابل خریداری گردید و جهت جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی قارچی، بذرها به مدت دو دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار گرفتند، سپس به ترتیب توسط آب معمولی و آب مقطر شستشو داده

شدند. برای انجام این آزمایش از گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۶ سانتی متر و ارتفاع ۲۸ سانتی متر استفاده گردید که به منظور جلوگیری از آبهشویی آرسنیک از گلدان‌های بدون زهکش استفاده گردید. در هر گلدان مقدار ۳ کیلوگرم خاک با مشخصات ذکر شده به همراه سطوح کود فسفر (صفر و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) به صورت مخلوط شد. قارچ‌های میکوریزا از شرکت زیست فناوری توران شاهرود تهیه شده و قبل از کاشت خاک رویی گلدان به اندازه سه تا چهار برابر عمق کاشت بذر کنارزده و مقدار ۵۰ گرم قارچ به خاک گلدان اضافه گردید. تعداد پروپاگول‌های مایه تلقیح مورد استفاده ۱۰۸ عدد در هر گرم ماده حامل بود. میزان رطوبت گلدان‌ها با آبیاری روزانه در حدود ۸۵ درصد ظرفیت زراعی نگه داشته شد تا علاوه بر آنکه از آبهشویی آرسنیک پس از اشباع جلوگیری می‌شود شرایط مناسب جهت همزیستی قارچ‌های با گیاه نیز فراهم گردد. پس از انجام مراحل اولیه رشدی تعداد بوته‌های هر گلدان به ۵ عدد رسانده شد. در طول آزمایش کنترل علف‌های هرز با دست انجام شد و آفت و بیماری خاصی مشاهده نشد. در پایان دوره رشد و در آغاز دوره گلدهی بوته‌ها برداشت شد. خصوصیات مورفولوژیکی مانند تعداد شاخه فرعی در بوته، تعداد و سطح برگ در مرحله رسیدگی کامل اندازه‌گیری شد. سپس بوته‌های برداشت شده به اندام‌های هوایی و ریشه تقسیم شدند و پس از اندازه‌گیری طول ریشه، در ۷۰ درجه سانتیگراد خشک شده و توزین گردیدند.

در مرحله قبل از گلدهی با استفاده از اتانول ۹۵٪ و براساس روش سولفوریک اسید میزان کربوهیدرات برگ استخراج شد (Schlegel, 1956). اندازه‌گیری میزان پرولین نیز

با استفاده از روش بی‌تس و همکاران (Bates et al., 1973) انجام گرفت. تعیین درصد کلونیزاسیون پس از رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با استفاده از روش تلاقی خطوط شبکه (Grid line intersect method) تعیین گردید (Dalpe, 1993; Armin and Asgharipour, 2011). شاخص کلروفیل برگ نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کلروفیل سنسج (Hansatech - Model-cl-01)، اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری عناصر گیاه نمونه‌ها در آون در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک و پس از توزین توسط آسیاب برقی پودر شدند. یک گرم ماده خشک شاخساره گیاهی را در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد به صورت خاکستر درآورده و خاکستر حاصل در ۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۲ نرمال حل شد. پس از صاف‌نمودن با کاغذ صافی حجم نهایی محلول با استفاده از آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. غلظت فسفر به روش زرد وانادات (کریمی، ۱۳۹۱)، غلظت نیتروژن به روش میکروکلدال و غلظت آرسنیک با دستگاه جذب اتمی (Pu9100x-Philips) اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از طریق نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

غلظت نیتروژن و فسفر برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر قارچ میکوریزا، فسفر و تنش آرسنیک بر غلظت نیتروژن و فسفر برگ معنی‌دار ($P \leq 0/01$) بود (جدول ۲). مشاهدات حاکی از آن است که گیاهان تیمار یافته با قارچ میکوریزا و کود فسفر موفق به افزایش جذب نیتروژن و فسفر در شاخساره گیاه گردیده‌اند به طوریکه در مؤثرترین حالت ممکن قارچ *G. versiform* سبب افزایش ۳۵ و ۱۳ درصدی نیتروژن و فسفر شده‌اند (جدول ۳). این امر را می‌توان با پخش شدن هیف‌های قارچی در خاک و ترشح اسیدهای آلی و آنزیم‌های فسفاتاز مرتبط دانست که سبب افزایش انحلال فسفر

و دسترسی به فسفر و سایر عناصر می‌گردد (Tavasoli and Aliasgharzade, 2009). نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های قبلی که استفاده از قارچ میکوریزا و فسفر را روشی مؤثر در جهت افزایش جذب فسفر دانسته‌اند همخوانی دارد (Ekelof, 2007). غلظت نیتروژن و فسفر میان تیمارهای کاربرد کود فسفر به‌طور معنی‌داری متفاوت بود و اضافه‌کردن کود فسفر نیز افزایش ۵ و ۱۳ درصدی غلظت نیتروژن و فسفر را در پی داشته است (جدول ۳). افزایش جذب فسفر و نیتروژن با کاربرد کود فسفر پیش از این نیز گزارش شده بود (Ekelof, 2007).

افزایش غلظت آرسنیک در خاک کاهش معنی‌دار محتوای نیتروژن و فسفر در شاخساره شنبلیله را به دنبال داشته است. به طوریکه در بالاترین سطح آلودگی (۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) این کاهش نسبت به شاهد به‌ترتیب برای نیتروژن و فسفر ۱۳ و ۳۲ درصد بوده است. آرسنیک ممکن است سبب ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی در گیاه گردد (Smith et al., 1998). اما مطالعات کمی به‌منظور تعیین اثر آرسنیک بر جذب عناصر گیاهی انجام شده است و نتایج مطالعاتی که تاکنون ارائه شده است کاملاً در تناقض است. در معرض قراردادن آرسنیک سبب کاهش مقدار آب شاخساره می‌شود و این احتمالاً بر جذب و انتقال عناصر غذایی تأثیرگذار است (Obata and Umebayashi, 1997). همچنین آرسنیک با کاهش توسعه ریشه از جذب عناصر غذایی جلوگیری به‌عمل می‌آورد (Pettersson, 1976).

غلظت آرسنیک ریشه و شاخساره: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر میکوریزا، آرسنیک و فسفر بر غلظت آرسنیک شاخساره و ریشه گیاه معنی‌دار ($P \leq 0/01$) بود. در این بررسی اثر متقابل معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بین آرسنیک و میکوریزا و آرسنیک و فسفر بر محتوای آرسنیک شاخساره مشاهده شد (جدول ۲). نتایج حاکی از آن است که در تیمارهای همزیست با گونه‌های مختلف میکوریزا به‌خصوص *G. versiform* (۰/۶) و کاربرد فسفر (۰/۶۵) در بالاترین سطح کاربرد آرسنیک غلظت آن در شاخساره به‌طور متوسط ۲۵

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) کلروفیل، پرولین، کربوهیدرات، آرسنیک، فسفر و درصد کلونیزاسیون ریشه شبلیله

میانگین مربعات									
منبع تغییرات	df	شاخص کلروفیل	پرولین	کربوهیدرات	درصد خاکستر	آرسنیک شاخساره	آرسنیک ریشه	فسفر	نیتروژن
میکوریزا (A)	۳	۱۴/۰۴ **	۰/۱۷ ns	۱/۹۶ ns	۲/۷ **	۰/۱۳ **	۰/۱۹ **	۰/۱۰ **	۵/۲۰ **
آرسنیک (B)	۲	۱۳۲/۷۲ **	۱۱/۰ **	۱۱۹/۷ **	۹۷/۰ **	۳/۶۳ **	۴۵/۸۲ **	۲/۱۸ **	۲/۷۱ **
فسفر (C)	۱	۳۰/۲۱ **	۰/۴۱ *	۳/۰۳ ns	۲۸/۹ **	۰/۲۴ **	۱/۲۸ **	۰/۷۲ **	۰/۷۹ **
A * B	۶	۰/۳۵ ns	۰/۰۵ ns	۰/۵۳ ns	۰/۹۹ ns	۰/۰۳ *	۰/۵۰ ns	۰/۰۲ ns	۰/۲۰ ns
A * C	۳	۰/۲۸ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۹ ns	۰/۶۸ ns	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۰۳ ns
B * C	۲	۰/۷۳ ns	۰/۱۰ ns	۱/۲۹ ns	۲/۱۵ ns	۰/۰۵ *	۰/۰۹ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۷ ns
A * B * C	۶	۰/۱۰ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۷ ns	۰/۲۱ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۰۲ ns
E	۴۸	۰/۶۴	۰/۰۹	۰/۹۹	۰/۷۳	۰/۰۱	۰/۲۰	۰/۰۱	۰/۰۳
%CV	-	۴/۵۶	۹/۰۷	۸/۹۱	۸/۴	۲۶/۳۲	۸/۴۲	۸/۰۵	۴/۷۰

**، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی دار

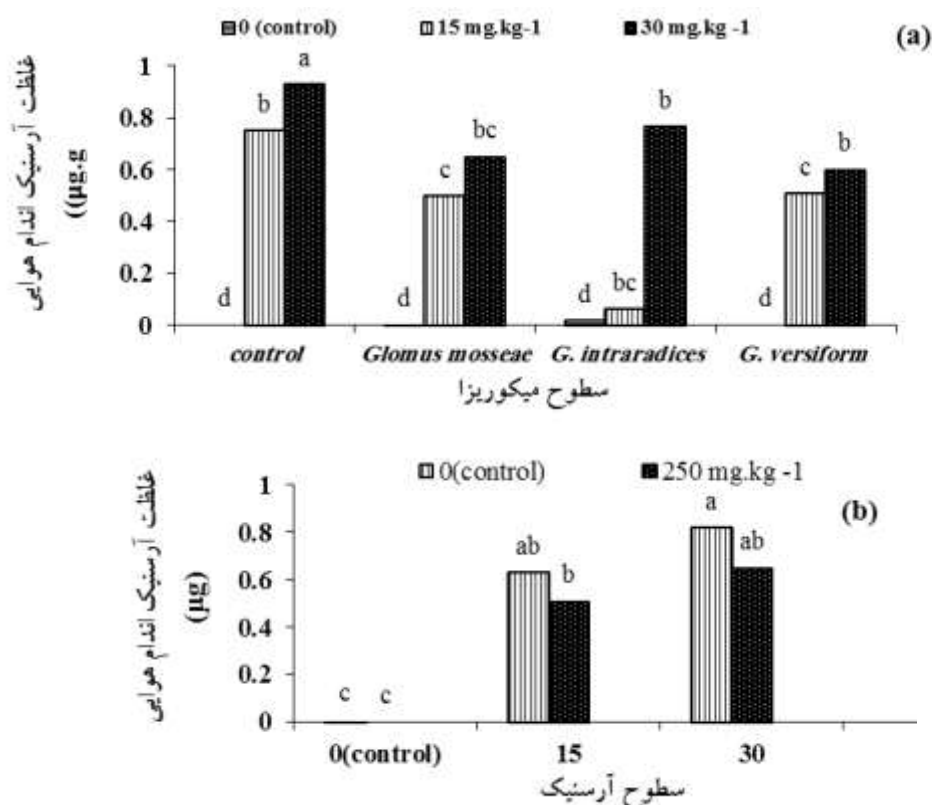
جدول ۳- مقایسه میانگین کلروفیل، پرولین، کربوهیدرات، آرسنیک، فسفر و درصد کلونیزاسیون ریشه شبلیله

تیمار	شاخص کلروفیل	پرولین	کربوهیدرات	درصد خاکستر	آرسنیک شاخساره	آرسنیک ریشه	فسفر	نیتروژن	درصد کلونیزاسیون
گونه‌های میکوریزا									
شاهد	۱۶/۶۱ c	۳/۳ ab	۱۱/۲۶ ab	۹/۶۲ b	۰/۵۶ a	۱/۸۶ a	۱/۴۶ b	۲/۹۸ d	۰/۰ d
<i>G. mosseae</i>	۱۸/۷۵ a	۳/۲ b	۱۰/۷۷ b	۱۰/۱ ab	۰/۳۸ c	۱/۶۶ b	۱/۵۵ a	۴/۱۷ a	۱۵/۲ c
<i>G. intraradices</i>	۱۷/۶ b	۳/۴ a	۱۱/۵۷ a	۱۰/۵ a	۰/۴۷ b	۱/۷۰ b	۱/۶۰ a	۳/۸۴ c	۱۷/۶ b
<i>G. versiform</i>	۱۷/۳ b	۳/۳ ab	۱۱/۱۸ ab	۱۰/۳ a	۰/۳۷ c	۱/۶۲ b	۱/۶۴ a	۴/۰۴ b	۲۰/۰ a
آرسنیک									
شاهد	۱۹/۶ a	۲/۵ c	۸/۷۳ c	۱۲/۱ a	۰/۰۰۵ c	۰/۱۲ c	۱/۸۶ a	۴/۱۲ a	۱۵/۷ a
۱۵ mg/kg	۱۸/۰ b	۳/۵ b	۱۱/۷۸ b	۱۰/۲ b	۰/۶۰۰ b	۲/۴۳ b	۱/۵۶ b	۳/۶۹ b	۱۳/۷ b
۳۰ mg/kg	۱۵/۰۴ c	۳/۹۱ a	۱۳/۰۸ a	۸/۱۰ c	۰/۷۳۷ a	۲/۵۸ a	۱/۲۶ c	۳/۴۶ c	۱۰/۱ c
فسفر									
شاهد	۱۶/۹ b	۳/۴ a	۱۱/۴۰ a	۹/۵۲ b	۰/۵۰ a	۱/۸۴ a	۱/۴۶ b	۳/۶۵ b	۱۳/۱ a
۲۰۰ mg/kg	۱۸/۲۴ a	۳/۲ b	۱۰/۹۹ a	۱۰/۷ a	۰/۳۸ b	۱/۵۸ b	۱/۶۶ a	۳/۸۶ a	۱۳/۳ a

تفاوت حروف در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.

(1997)، گوجه‌فرنگی (Ouariti et al., 1997) و سورگوم (Abo-Kassem et al., 1997) نیز گزارش شده است. کم‌تر بودن مقدار آرسنیک در شاخساره نسبت به ریشه می‌تواند به دلیل تثبیت آرسنیک در درون سلول‌ها به وسیله تشکیل کمپلکس‌هایی با اسیدهای آلی نظیر ملات و اگزالات، انسداد

درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل‌های a و b). در این مطالعه به‌طور کلی غلظت آرسنیک در ریشه بیشتر از شاخساره بود و به‌طور متوسط بیش از ۷۰٪ آرسنیک گیاه در ریشه تجمع یافته بود (جدول ۳). تجمع بیشتر عناصر سمی در ریشه نسبت به شاخساره در لوبیا (Obata, and Umebayashi,



شکل ۱- اثر متقابل میکوریزا و آرسنیک بر غلظت آرسنیک شاخساره (a)، اثر متقابل آرسنیک و فسفر بر غلظت آرسنیک (b). تفاوت حروف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

در شاخساره و ریشه به ۰/۷۰ و ۲/۵۸ میکروگرم بر گرم وزن گیاه رسید.

در این بررسی اثر متقابل معنی‌داری بین آرسنیک و میکوریزا و آرسنیک و فسفر بر آرسنیک شاخساره مشاهده شد؛ به طوریکه در تیمارهای همزیست با گونه‌های مختلف میکوریزا و کاربرد فسفر غلظت آرسنیک شاخساره کاهش یافت. علاوه بر آن اطلاعاتی مبنی بر تأثیر مثبت در خصوص نقش AMF در تعاملات As/P در سطوح مختلف فراهمی P، در خاک‌های آلوده شده با فلزات سنگین وجود دارد (علیزاده اسکویی و همکاران، ۱۳۸۸؛ Tu et al., 2003). کاهش غلظت آرسنیک در عدس (*Lens culinaris* Medike.) تلقیح‌یافته با قارچ میکوریزا پیش از این نیز گزارش شده است (قمری و شریعت، ۱۳۹۰).

درصد کلونیزاسیون ریشه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر قارچ میکوریزا و آرسنیک بر درصد

آرسنیک با سلول‌های اپیدرمی، تثبیت آرسنیک با ترکیبات آلی موجود در ریشه باشد (Pettersson, 1976).

غلظت آرسنیک در شاخساره و ریشه گیاهان میان تیمارهای کاربرد کود فسفر به‌طور معنی‌داری متفاوت بود به طوریکه غلظت آرسنیک در شاخساره و ریشه در تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر نسبت به عدم کاربرد فسفر به ترتیب ۲۴ و ۱۴/۱ درصد کمتر بود. غلظت آرسنیک شاخساره و ریشه در گیاهان همزیست با گونه‌های مختلف میکوریزا نسبت به شاهد تیمار نشده کاهش یافت. کمترین غلظت آرسنیک در گیاهان همزیست با گونه *G. versiform* و پس از آن تیمارهای همزیست با گونه‌های *G. mosseae*، *G. intraradices* و شاهد قرار داشت.

با افزایش مقدار آرسنیک در خاک، غلظت آرسنیک در شاخساره و ریشه گیاه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در تیمار کاربرد ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک آرسنیک به‌ترتیب

توسط Tasang و Maum نیز تأیید شده است.

با بررسی مقایسه میانگین‌ها مشخص گردید که تخریب کلروفیل با افزایش سطوح آرسنیک افزایش می‌یابد و خاک آلوده شده با ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم آرسنیک حداکثر کاهش (۳۰ درصد) را به دنبال داشته است (جدول ۳). تخریب کلروفیل ناشی از آرسنیک امری واضح بوده و ناشی از متوقف شدن آنزیم‌ها سنتز رنگدانه‌ها در گیاه و همچنین جایگزین شدن یون منیزیم مرکزی با عنصر سنگین است (Prasad and Strazalka, 1999).

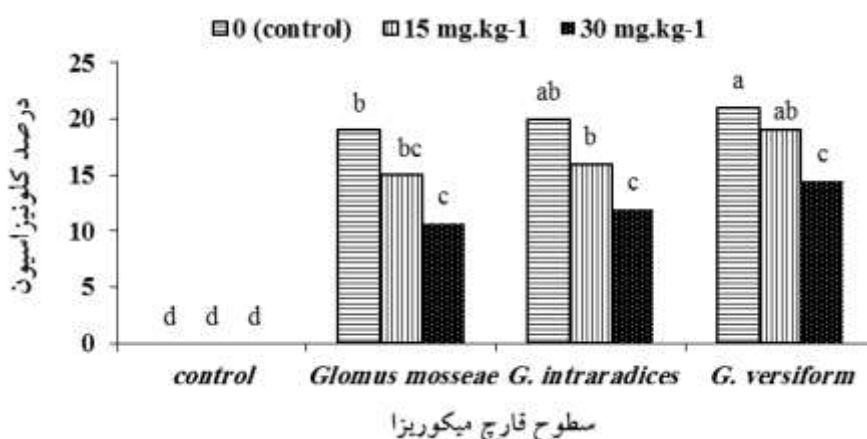
پرویلین و کربوهیدرات: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر آرسنیک بر پرویلین و کربوهیدرات و اثر فسفر تنها بر پرویلین معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۲). نتایج نمونه‌برداری تخریبی شنبلیله نشان می‌دهد در حالیکه کاربرد کود فسفر سبب کاهش ۴ درصدی میزان پرویلین گردید در تیمارهای آلوده به آرسنیک با افزایش میزان آلودگی بر تجمع پرویلین و کربوهیدرات برگ افزوده می‌شود. در گیاهان رشد یافته در گلدان‌های آلوده تا ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم افزایش پرویلین و کربوهیدرات در بافت سبز به ترتیب معادل ۵۱ و ۴۹ درصد نسبت به تیمار شاهد بود (جدول ۳). بالارفتن تنظیم‌کننده‌های اسمزی در شرایط تنش جهت برقراری تعادل اسموتیک در گیاه است و بیانگر استراتژی گیاه در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین محسوب می‌شود (Andrade et al., 2009). افزایش میزان کربوهیدرات در خاک آلوده به آرسنیک نیز پیش از این در گلرنگ گزارش شده است (Liu et al., 2012).

درصد خاکستر: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر میکوریزا، فسفر و آرسنیک بر درصد خاکستر گیاه معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۲). کاربرد کود فسفر و تلقیح میکوریزا با جذب بهتر عناصر غذایی سبب افزایش خاکستر گیاه گردید (جدول ۳). در بررسی گیاهان تلقیح یافته مشخص گردید که قارچ میکوریزای *G. intraradices* و کاربرد فسفر، درصد خاکستر را نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی و عدم استفاده از فسفر به ترتیب ۱۱ و ۸ درصد افزایش داد (جدول ۳). افزایش خاکستر در شرایط تلقیح گیاه با کودهای بیولوژیک و

کلونیزاسیون ریشه گیاه معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود. همچنین اثر متقابل میکوریزا و آرسنیک بر صفت مذکور معنی‌دار بود (جدول ۲). میانگین اثرات متقابل عامل‌های قارچ میکوریزا و تنش آرسنیک حاکی از آن بود که با افزایش غلظت آلودگی، درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها کاهش یافت. گیاهان تلقیح یافته با قارچ *G. versiform* و *G. intraradices* نسبت به گیاهان تلقیح یافته با قارچ *G. mosseae* در سطح شاهد و آلودگی تا ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک کلونیزاسیون بالاتری داشتند. اما با اعمال ۳۰ میلی گرم آرسنیک درصد کلونیزاسیون در تمام گونه‌ها تنزل یافت که این میزان به مراتب در گیاهان تلقیح یافته با *G. versiform* نسبت به سایر گونه‌ها کمتر بود (شکل ۲). کاهش معنی‌دار درصد کلونیزاسیون با افزایش سطح تنش احتمالاً به علت کاهش در رشد هیف‌ها بوده است. تأثیر نامطلوب آلودگی خاک به فلز سنگین بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه گوجه‌فرنگی توسط عزیزاده اسکویی و همکاران (۱۳۸۸) نیز گزارش گردیده است.

شاخص کلروفیل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد

که اثر میکوریزا، فسفر و آرسنیک بر شاخص کلروفیل معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۲). قارچ میکوریزا و کاربرد کود فسفر با بهبود جذب عناصر غذایی سبب افزایش میزان کلروفیل در برگ گردید (جدول ۳). بیشترین افزایش مربوط به گیاهان تلقیح یافته با قارچ *G. mosseae* (۱۸/۷۵) بود. شایان ذکر است در گلدان‌های تیمار یافته با ۲۰۰ میلی گرم فسفر نیز افزایش ۷ درصدی شاخص کلروفیل مشاهده گردیدند. Tang و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی خود روی گیاه ذرت مشاهده گردید که مایه‌زنی ذرت با *G. mosseae* سنتز کلروفیل در گیاه را بهبود بخشید و فتوسنتز گیاه را افزایش داد. آنها علت این امر را به افزایش جذب نیتروژن توسط گیاهان میکوریزایی نسبت داده‌اند. موسی‌بیگی و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی اثر قارچ میکوریزایی *Piriformospora indica* بر روی گشنیز (*Coriandrum sativum*) دلیل افزایش میزان کلروفیل را همزیستی قارچ میکوریزی و افزایش جذب فسفر از خاک را توسط این قارچ‌ها گزارش کردند. این نتیجه در سال ۱۹۹۹



شکل ۲- اثر متقابل قارچ میکوریزا و تنش آرسنیک بر درصد کلونیزاسیون شنبلیله. تفاوت حروف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

بوته (۳/۸۹)، طول ریشه (۱۹/۳۱) را در مقایسه با سایر گونه‌های مایکوریزا و عدم تلقیح تولید نمود. در تیمارهای کاربرد کود فسفر نیز بهبود وزن تر شاخساره (۱۲ درصد)، وزن تر ریشه (۱۰ درصد)، وزن خشک شاخساره (۱۱ درصد)، وزن خشک ریشه (۱۳ درصد)، سطح برگ (۵۶ درصد)، تعداد برگ (۸ درصد)، تعداد شاخه جانبی (۵ درصد)، طول ریشه (۱۸ درصد) نسبت به تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۵). مطالعات اخیر در این زمینه نشان می‌دهد نقش قارچ‌های مایکوریزا در جذب فسفر و سایر عناصر سبب بهبود رشد رویشی شنبلیله (فلاح و نظری، ۱۳۹۱)، ریحان (شریفی و همکاران، ۱۳۸۹) و شبدر (Benabdellah et al., 2011) گردیده است.

همچنین آلوده کردن خاک با آرسنیک سبب کاهش معنی‌دار تمام پارامترهای رشدی گیاه شد، به طوریکه در میان تیمارهای آلوده کمترین رشد در گیاهان کاشته شده با تیمار ۳۰ میلی گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک مشاهده گردید. براساس نظر محققین افزایش تنش آرسنیک ممکن است باعث تحلیل برگ و ساقه شود (Adriano, 1986). علاوه بر این کاهش ارتفاع بوته و سطح برگ در شرایط تنش آرسنیک ناشی از کاهش تقسیم و گسترش سلولی است (Chen et al., 2007). بنابراین کاهش پارامترهای رشدی در اثر تیمار آرسنیک در مطالعه حاضر را می‌توان به بازدارندگی از تقسیم سلولی منطقه

کود فسفر توسط کریمی پاشاکی و همکاران (۱۳۹۱) و مشکانی و همکاران (۱۳۹۲) گزارش گردیده است که بیانگر افزایش مواد معدنی موجود در بافت‌های گیاهی بوده است.

با بررسی مقایسه میانگین اعداد ملاحظه می‌گردد که با افزایش میزان دی‌سدیم آرسنات در خاک درصد خاکستر گیاه کاهش می‌یابد به طوریکه بالاترین سطح آلودگی (۳۰ میلی گرم در کیلوگرم) موجب کاهش ۴۹ درصدی در صفت مذکور گردید (جدول ۳). در بررسی واکنش درصد خاکستر گیاه به افزایش کارلا مشخص گردید که افزایش میزان جذب آرسنیک با کاهش توانایی گیاه برای جذب سایر عناصر کاهش می‌یابد (یداللهی و همکاران، ۱۳۹۲).

صفات مرفولوژیکی: پارامترهای رویشی گیاه شامل وزن تر و خشک شاخساره و ریشه، تعداد برگ در بوته، سطح برگ در بوته، تعداد شاخه جانبی در بوته و طول ریشه به طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد قارچ مایکوریزا، فسفر و سمیت آرسنیک قرار گرفتند (جدول ۴). اثر متقابل دو گانه قارچ مایکوریزا و سمیت آرسنیک بر وزن تر شاخساره و اثر دو گانه فسفر و تنش آرسنیک بر وزن تر و خشک شاخساره و ریشه معنی‌دار گردید (جدول ۴). قارچ مایکوریزا *G. versiform* بوته‌های بزرگتری (وزن تر شاخساره (۱۵/۱۲)، وزن خشک شاخساره (۱/۵۴)، وزن تر ریشه (۲/۱۳)، وزن خشک ریشه (۰/۲۶)، تعداد شاخه فرعی در بوته (۷/۰۳)، سطح برگ در

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) خصوصیات رشدی شنبلیله

میانگین مربعات								
منبع تغییرات	df	وزن تر	وزن خشک	وزن خشک	تعداد شاخه فرعی	سطح برگ	تعداد برگ در بوته	طول ریشه
میکوریزا (A)	۳	۲۳/۸۴ **	۰/۴۸ **	۰/۲۸ ***	۰/۰۰۸ **	۰/۶۷ **	۱/۲۷ *	۹/۵۳ **
آرسنیک (B)	۲	۹۴/۷۶ **	۱/۳۶ **	۰/۶۰ **	۰/۰۲۱ **	۱۳/۱۵ **	۲/۹۵ **	۳۳۱/۵۱ **
فسفر (C)	۱	۴۷/۲۰ **	۰/۷۹ **	۰/۴۵ **	۰/۰۱۵ **	۲/۷۶ **	۱۳۴/۲۸ **	۱۷۷/۳۴ **
A * B	۶	۲/۰۷ **	۰/۰۵ ns	۰/۰۰۷ ns	۰/۰۰۰۸ ns	۰/۲۰ ns	۰/۰۹ ns	۲/۸۷ ns
A * C	۳	۰/۵۴ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۰۹ ns	۰/۰۰۰۹ ns	۰/۰۶ ns	۰/۰۵۷ ns	۰/۴۰ ns
B * C	۲	۲/۵۲ *	۰/۳۹ **	۰/۱۲ **	۰/۰۰۵ **	۰/۳۸ ns	۰/۹۰ ns	۴/۱۰ ns
A * B * C	۶	۰/۴۴ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۹ ns	۰/۰۸۸ ns	۰/۳۰ ns
E	۴۸	۰/۵۹	۰/۰۳۲	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰۶	۰/۱۴	۰/۳۸	۳/۹۳
% CV	-	۵/۴۸	۸/۹۶	۷/۰۱۳	۹/۶۸	۵/۵۳	۱۷/۰۳	۱۰/۸۶

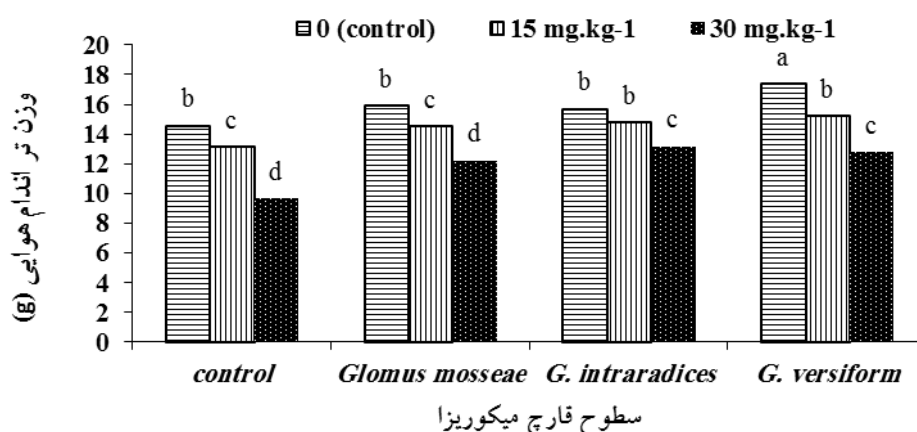
***، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی دار

جدول ۵- مقایسه میانگین خصوصیات رشدی شنبلیله

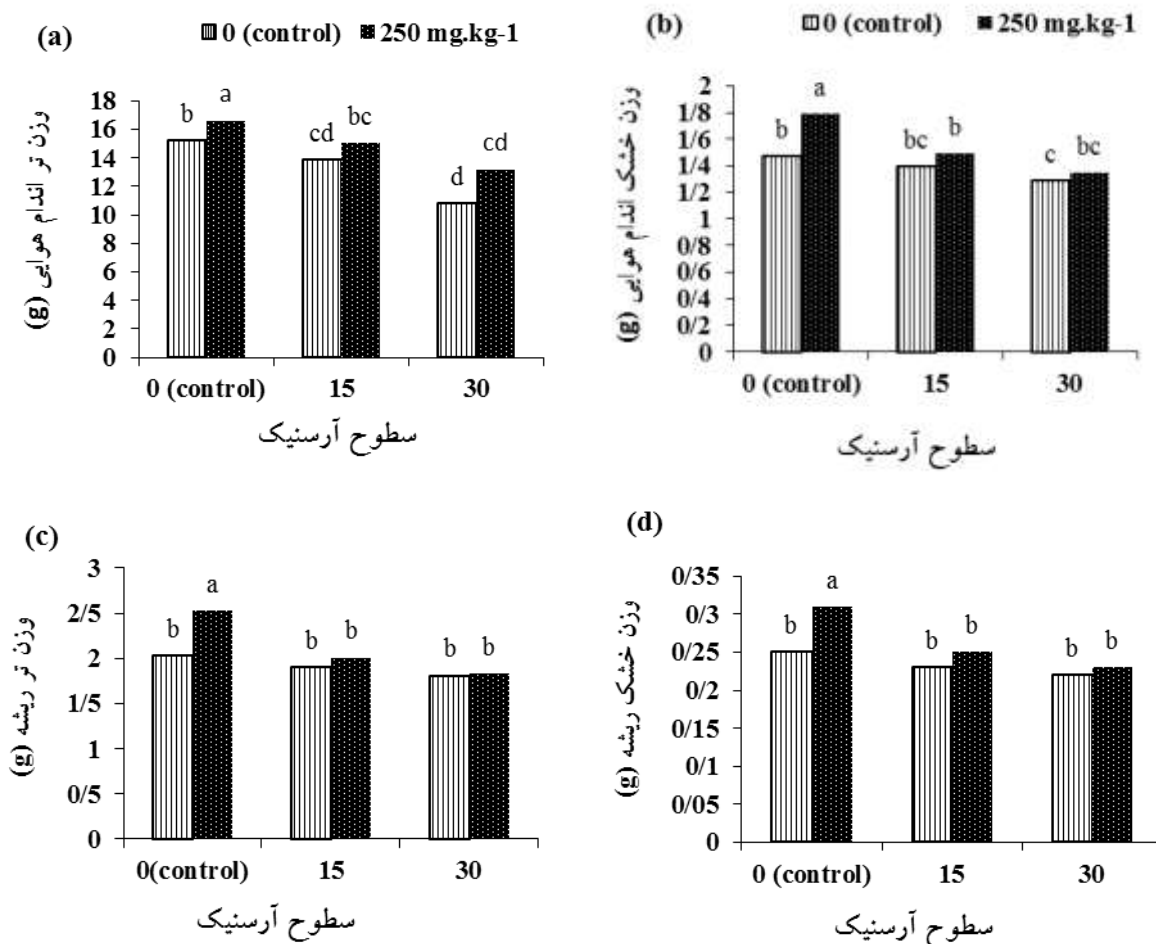
تیمار	وزن تر	وزن خشک	وزن خشک	تعداد شاخه	سطح	تعداد	طول
	شاخساره	ریشه	شاخساره	ریشه	فرعی در بوته	برگ در بوته	ریشه (cm)
گونه‌های میکوریزا							
شاهد	۱۲/۴۶ c	۱/۷۷ b	۱/۲۸ b	۰/۲۲ b	۶/۶۵ b	۳/۲۸ b	۱۶/۹۵ b
<i>G. mosseae</i>	۱۴/۲۱ b	۲/۰۸ a	۱/۴۹ a	۰/۲۶ a	۶/۸۶ ab	۳/۶۴ ab	۱۸/۷۴ a
<i>G. intraradices</i>	۱۴/۵۶ b	۲/۱۰ a	۱/۵۳ a	۰/۲۶ a	۷/۰۸ a	۳/۷۹ a	۱۸/۰۱ ab
<i>G. versiform</i>	۱۵/۱۲ a	۲/۱۳ a	۱/۵۴ a	۰/۲۶ a	۷/۰۳ a	۳/۸۹ a	۱۹/۳۱ a
آرسنیک							
شاهد	۱۵/۸۹ a	۲/۲۸ a	۱/۶۳ a	۰/۲۸ a	۷/۶۲ a	۴/۰۴ a	۲۱/۴۸ a
۱۵ mg/kg	۱۴/۴۲ b	۱/۹۵ b	۱/۴۴ b	۰/۲۴ b	۶/۹۵ b	۳/۵۵ b	۱۹/۰۹ b
۳۰ mg/kg	۱۱/۹۶ c	۱/۸۲ c	۱/۳۱ c	۰/۲۲ c	۶/۱۵ c	۳/۳۶ b	۱۴/۱۹ c
فسفر							
شاهد	۱۳/۲۸ b	۱/۹۱ b	۱/۳۸ b	۰/۲۳ b	۶/۷۱ b	۲/۲۹ b	۱۶/۶۸ b
۲۰۰ mg/kg	۱۴/۹۰ a	۲/۱۲ a	۱/۵۴ a	۰/۲۶ a	۷/۱۰ a	۵/۰۲ a	۱۹/۸۲ a

تفاوت حروف در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.

مریستمی و رشد سلول‌های منطقه رشد مرتبط دانست. گزارش‌های موجود در خصوص واکنش خصوصیات رشدی



شکل ۳- اثر متقابل قارچ میکوریزا و آرسنیک بر وزن تر شاخساره (g). تفاوت حروف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.



شکل ۴- اثر متقابل آرسنیک و فسفر بر وزن تر شاخساره (a)، وزن خشک شاخساره (b)، وزن تر ریشه (c) و وزن خشک ریشه (d). تفاوت حروف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

گیاهان نسبت به تنش آرسنیک نتایج مشابهی را نشان می‌دهد (Chen et al., 2007; Smith et al., 1998).

نتایج این مطالعه نشان داد که شنبلیله قادر به جذب آرسنیک است. با این حال تجمع آرسنیک در خاک‌های آلوده توسط کاربرد فسفر و همزیستی با گونه‌های مختلف میکوریزا کمتر بود و سبب بهبود رشد گیاه گردید. بنابراین یافته‌های این مطالعه برای ارزیابی پیامدهای سمیت فلز سنگین آرسنیک و راهکارهای تخفیف سمیت آن مفید است.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه زابل با پژوهانه شماره ۸-۹۵۱۷ انجام گردید.

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ترکیب تیمارهای تلقیح گونه *G. versiform* و عدم مصرف آرسنیک حداکثر وزن تر شاخساره را داشت و در سطوح بالای تنش آرسنیک اختلاف زیادی بین گونه‌ها با سطح شاهد بدون قارچ وجود نداشت این موضوع می‌تواند ناشی از کاهش احتمالی فعالیت میکوریزا در سطح بالای آرسنیک باشد (شکل ۳). در برهمکنش آرسنیک و فسفر نیز بیشترین میزان وزن تر شاخساره در تیمار عدم آرسنیک و مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک مشاهده شد (شکل ۴).

نتیجه‌گیری

منابع

- شریفی، م.، محتشمیان، م. ن.، ریاحی، ح.، آقایی، ا. و علوی، س. ن. (۱۳۸۹) اثر قارچ اندومیکوریزایی (*Glomus etunicatum*) بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان. فصلنامه گیاهان دارویی ۳۸: ۸۵-۹۴.
- علیزاده اسکویی، پ.، اصغرزاد، ن. ع.، شریعتمداری، ح.، اصغرزاد، ا. و باغبان سیروس، ش. (۱۳۸۸) تأثیر دو گونه از قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در کاهش سمیت کادمیوم در گیاه گوجه‌فرنگی با سطوح مختلف فسفر. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب) ۲۳: ۲۲۸-۲۱۷.
- فلاح، س. و نظری، م. (۱۳۹۱) اثر کاربرد کودهای بیولوژیک و سولفات روی بر رشد و عملکرد گیاه دارویی شنبلیله تحت شرایط تنش خشکی در منطقه شهرکرد. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۵: ۱۵۹-۱۴۷.
- قمری، ع. و شریعت، آ. (۱۳۹۰) تأثیر قارچ میکوریزا بر جذب و افزایش آرسنیک در گیاه عدس (*Lens culinaris Medike.*). نشریه آب خاک ۲۳: ۴۶-۴۴.
- کردوانی، پ. (۱۳۸۱) حفاظت خاک. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
- کریمی پاشاکی، ش.، میرهادی، م. ج.، ربیعی، م. و شهدی کومله، ع. (۱۳۹۱) بررسی اثر سطوح مختلف تنش نیتروژن و فسفر بر عملکرد و صفات کیفی تربیتکاله به عنوان کشت دوم در اراضی شالیزاری گیلان. تولید گیاهان زراعی در شرایط تنش‌های محیطی ۴: ۳۷-۲۷.
- مشکانی، م.، آرمین، م. و جامی معینی، م. (۱۳۹۲) بررسی واکنش‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان دارویی گاو زبان (*Borago officinalis L.*) تحت شرایط مصرف کودهای بیولوژیک. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۳: ۶۷-۵۷.
- موسی‌بیگی، ک.، توحیدی، م.، حاتم‌نیا، ا.، بابایی، آ. و قبولی، م. (۱۳۹۶) تأثیر قارچ میکوریزایی *Piriformospora indica* بر روی رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*). نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی ۴۶: ۱۰۱-۹.
- یداللهی، پ.، اصغری‌پور، م. ح.، باقری، ا.، جباری، ب. و شیخ‌پور، س. (۱۳۹۲) اثر سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید و آرسنیک بر خصوصیات کمی گیاه دارویی کارلا (*Momordica charantia L.*). مجله پژوهش‌های به زراعی ۳: ۲۲۵-۲۱۵.
- Abo-Kassem, E. M., Sharaf, A. and Mohamed, Y. A. H. (1997) Effect of different cadmium concentration on growth, photosynthesis and ion relation of wheat. Egyptian The Journal of Physiological Sciences 21: 41-5.
- Adriano, D. C. (1986) Arsenic: Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer-Verlag, New York.

- Amiri, Z., Asgharipour, M. R., Campbell, D. E. and Armin, M. (2019) A sustainability analysis of two rapeseed farming ecosystems in Khorramabad, Iran, based on emergy and economic analyses. *Journal of Cleaner Production*, 226: 1051-1066.
- Andrade, S. A., Gratao, P. L., Schiavinato, M. A., Silveira, A. P., 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.
- Armin, M. and Asgharipour, M. (2011) Effect of plant density on wild oat competition with competitive and non-competitive wheat cultivars. *Agricultural Sciences in China* 10: 1554-1561.
- Baroni, F., Boscagli, A., Protano, G. and Riccobono, F. (2000) Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Plantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area. *Environmental Pollution* 109: 347-352.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Teave, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-107.
- Benabdellah, K., Abbas, Y., Abourouh, M., Aroca, R. and Azcon, R. (2011) Influence of two bacterial isolates from degraded and non-degraded soils and arbuscular mycorrhizae fungi isolated from semi-arid zone on the growth of *Trifolium repens* under drought conditions: Mechanisms related to bacterial effectiveness. *European Journal of Soil Biology* 47: 303-309.
- Chen, B., Xiao, X., Zhu, Y. G., Smith, F. A., Xie, Z. M. and Smith, S. E. (2007) The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* gives contradictory effects on phosphorus and arsenic acquisition by *Medicago sativa* L. *Science of Total Environment* 379: 226-234.
- Dalpe, Y. (1993) Vesicular-Arbuscular mycorrhiza. In: *Soil Sampling and Methods of Analysis* (ed. Carter, M. R.) Pp. 287-301. Lewis Publishers.
- Ekelof, J. (2007) Potato yield and tuber set as affected by phosphorus fertilization. Master Thesis, Saint Louis University, Madrid, Spain.
- Gaur, A., Adholeya, A. and Mukergi, K. G. (2000) On farm production of VAM inoculum and vegetable crops in marginal soil amended with organic matter. *Tropical Agriculture. (Trinidad)* 77: 21-26.
- Gonzalez-Chavez, C., Harris, P. J., Dodd, J. and Meharg, A. A. (2002) Arbuscular mycorrhizal fungi enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*. *New Phytologist* 155: 163-171.
- Jafari, M., Asgharipour, M. R., Ramroudi, M., Galavi, M. and Hadarbadi, G. (2018) Sustainability assessment of date and pistachio agricultural systems using energy, emergy and economic approaches. *Journal of Cleaner Production* 193: 642-651.
- Liao, X. Y., Chen, T. B., Xie, H. and Xiao, X. Y. (2004) Effect of application of P fertilizer on efficiency of As removal from As contaminated soil using phytoremediation: Field study. *Acta Scientia Circumstantiae* 3: 455-462.
- Liu, Q. J., Zheng, C. M., Hu, C. X., Tan, Q. L., Sun, X. C. and Su, J. J. (2012) Effects of high concentrations of soil arsenic on the growth of *Lactuca sativa* L. *Plant Soil Environmental* 58: 22-27.
- Liu, Y., Zhu, Y. G., Chen, P., Christie, P. and Li, X. L. (2005) Yield and arsenate uptake of arbuscular mycorrhizal tomato colonized by *Glomus mosseae* BEG167 in As spiked soil under glasshouse conditions. *Environmental, International* 31: 867-873.
- Obata, H. and Umebayashi, M. (1997) Effects of arsenic on mineral nutrient concentrations in plants differing in tolerance for cadmium. *Journal of Plant Nutrition* 20: 97-105.
- Ouariti, O., Gouia, H. and Ghorbal, M. H. (1997) Responses of bean and tomato plants to cadmium: Growth, mineral nutrition, and nitrate reduction. *Plant Physiology and Biochemistry* 35: 347-354.
- Padash, A., Ghanbari, A., Asgharipour, M. R. and Ali, M. (2019) Changes in antioxidant enzymes activity and physiological traits by exogenous salicylic acid in basil (*Ocimum basilicum*) under Pb stress. *Journal of Plant Process and Function* 7: 18-24.
- Pettersson, O. (1976) Heavy metal ion uptake by plants from nutrient solutions with metal ion, plant species and growth period variations. *Plant and Soil* 45: 445-449.
- Prasad, M. and Strazalka, K. (1999) Impact of heavy metals on photosynthesis. *Journal Experimental Botany* 41: 314-320.
- Schlegel, H. G. (1956) Die verwertung organischer sauren durch chlorella im licht. *Planta* 47: 510-515.
- Sisr, L., Mihaljevic, M., Ettler, V., Strand, L. and Sebek, O. (2007) Effect of application of phosphate and organic manure-based fertilizers on arsenic transformation in soil columns. *Environmental Monitoring Assessment* 135: 465-473.
- Smith, E., Naidu, R. and Alston, A. M. (1998) Arsenic in the soil environment: A review. *Advances in Agronomy* 64: 149-195.
- Smith, S. E. and Read, D. J. (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*. 2nd Ed. Elsevier.
- Talukder, A., Meisner, C. A., Sarkar, M. A. P. and Islam, M. S. (2010) Effect of water management, tillage options and phosphorous status on arsenic uptake in rice. *Ecotoxicology and Environ Safety* 40: 193-200.

- Tang, M., Chen, H., Huang, J. C. and Tian, V. (2009) Arbuscular mycorrhiza fungi effects on the growth and physiology of (*Zea mays* L.) seedlings under diesel stress. *Soil Biology Biochemistry* 41: 936-940.
- Tasang, A. and Maum, M. A. (1999) Mycorrhizal increase salt tolerance of *Strophostyles helvola* in Coastal Foredunes, Canada. *Plant Ecology* 144: 159-166.
- Tavasoli, A. R. and Aliasgharzade, N. (2009) Effect of arbuscular mycorrhizal on nutrient uptake and onion yield in a saline soil at field conditions. *Water and Soil* 35: 158-162.
- Tu, C., Ma, L. Q. and Bondada, B. (2003) Arsenic accumulation in the hyper accumulator Chinese Brake and its utilization potential for phytoremediation. *Environmental Quality* 31: 1671-1675.

Effect of mycorrhizal inoculation and phosphorus fertilizer on morphological and physiological traits of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) in arsenic contaminated soil

Madine Bijhani¹, Mohammad Reza Asgharipour^{2*} and Alireza Sirousmehr²

¹ Department of Agronomy, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

² Department of Agronomy, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

(Received: 02/08/2018, Accepted: 27/11/2018)

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of mycorrhizal species and phosphorus on fenugreek in soils contaminated with heavy metals. The first factor was four levels of mycorrhiza (*Glomus mosseae*, *G. intradices*, *G. versiform* and non-application), the second factor was the three levels of arsenic (0, 15 and 30 mg kg⁻¹ soil), and the third factor was two levels of phosphorus (0 and 200 mg kg⁻¹ soil). In this study, arsenic toxicity was studied on vegetative growth, arsenic accumulation in shoots, leaf phosphorus, proline, carbohydrate, chlorophyll index, as well as root colonization percent. Arsenic addition significantly reduced vegetative traits, chlorophyll index and root colonization percent. The highest level of contamination resulted in an increase of 95,99, 33 and 32% of arsenic in shoots, in roots, proline and carbohydrates compared to the control. Also, application of mycorrhiza and phosphorus also had a significant effect on the other traits except the percentage of colonization. The interaction between arsenic and mycorrhiza on fresh weight of shoots, colonization percentage and shoot arsenic accumulation and interaction of arsenic and phosphorus on shoot fresh and dry weight, fresh and dry weight of roots and arsenic accumulation in shoots were significant. In response to the destructive effects of arsenic *G. intradices*, with 18% reduction in arsenic accumulation, was better than other species. This experiment showed that mycorrhiza and phosphorus had a moderating effect on the negative effects of arsenic toxicity on traits and could be effective in reducing the negative effects of arsenic stress by improving vegetative growth.

Keywords: Osmotic regulators, Heavy metal stress, Vegetative indices, Biofertilizer

Corresponding author, Email: m_asgharipour@uoz.ac.ir