

## اثرات تلقیح با قارچ میکوریزا و ازتوباکتر بر رشد و پاسخ‌های اکسیداتیو گندم به تنش شوری و آلودگی کادمیم

فیروزه فیاض و مرتضی زاهدی\*

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی، اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۰۲)

چکیده

در دهه‌های اخیر وقوع همزمان تنش شوری و فلزات سنگین در مناطق خشک و نیمه‌خشک روند افزایشی داشته و به تهدید فزاینده‌ای برای تولیدات کشاورزی و امنیت غذایی انسان تبدیل شده است. کادمیم به‌عنوان یک فلز سنگین به آسانی جذب گیاه شده و باعث ایجاد اختلال در فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه می‌شود. بر این اساس، این آزمایش گلدانی با هدف بررسی اثر همزیستی با میکروارگانیسم‌های سودمند بر پاسخ ارقام گندم نان (روشن و بهار) و گندم دورم (یاواروس و بهرننگ) به شوری در یک خاک آلوده به کادمیم، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح شوری (شاهد، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در آب آبیاری) و چهار سطح تلقیح (عدم تلقیح، تلقیح با دو گونه قارچ میکوریزا شامل *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus intraradices* و تلقیح با باکتری *Azotobacter Sp.* بودند. تنش شوری موجب افزایش غلظت کادمیم اندام هوایی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای پرولین، پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش وزن خشک اندام هوایی گردید. در ارقام متحمل (روشن و بهرننگ) نسبت به ارقام حساس (بهار و یاواروس) به شوری میزان افزایش غلظت کادمیم اندام هوایی در شرایط شور کمتر ولی میزان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای پرولین بیشتر بود. در گیاهان گندم تلقیح‌شده با قارچ میکوریزا گونه *F. mosseae*، گونه *Rh. intraradices* و باکتری *Azotobacter Sp.* در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده وزن خشک اندام هوایی (۲۰، ۱۲ و ۷ درصد) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (۲۲، ۱۸ و ۱۲ درصد)، پراکسیداز (۳۹، ۳۲ و ۲۰)، آسکوربات پراکسیداز (۶۴، ۵۶ و ۴۷ درصد) بالاتر و غلظت کادمیم اندام هوایی (۲۴، ۱۱ و ۵ درصد) و پراکسیداسیون لیپیدی (۱۴، ۱۰ و ۵ درصد) کمتر بود. در این تحقیق شورشیدن خاک موجب افزایش غلظت کادمیم در گیاهان گندم گردید ولی تلقیح گیاهان با قارچ‌های میکوریزا و ازتوباکتر موجب فعال‌شدن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و جذب کادمیم از خاک گردید.

کلمات کلیدی: شوری، فلزات سنگین، میکروارگانیسم‌های همزیست، گندم نان، گندم دورم

مقدمه

نظر سطح زیرکشت و تولید سالانه نسبت به سایر غلات در درجه اول اهمیت است. براساس آمار فائو در سال ۲۰۱۷ سطح زیرکشت گندم در ایران در حدود ۵ میلیون و ۶۸۱ هزار هکتار

گندم مهم‌ترین گیاه زراعی از دیدگاه اقتصادی در سطح جهانی است که در مساحت وسیعی از زمین‌های دنیا کشت شده و از

\*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: mzahedi@cc.iut.ac.ir

(۲۰۰۹) اثرات توأم کادمیم و شوری را بر میزان رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گندم بررسی نموده و گزارش کردند که القای همزمان این دو تنش باعث کاهش رشد گیاه و محتوای کلروفیل و افزایش محتوای مالون دالدئید و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز گردید.

امروزه ثابت شده است که قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا می‌توانند اثرات زیانبار تنش‌های محیطی مختلف از قبیل فلزات سنگین، شوری و خشکی را بر رشد و عملکرد گیاه کاهش دهند. میزان اثر تعدیل‌کنندگی این قارچ‌ها در شرایط تنش فلزات سنگین به عوامل متعددی از جمله نوع و غلظت فلز سنگین، گونه گیاه و شرایط رشد گیاه بستگی دارد. بعلاوه، قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش رشد و تولید گیاه از طریق تشکیل شبکه‌های هیفی گسترده و تولید مواد بیوشیمیایی مهمی مانند گلوبالین می‌گردد. این قابلیت قارچ‌ها می‌تواند باعث افزایش جذب آب و عناصر غذایی و بهبود ساختار خاک شود (Jahromi et al., 2008). قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا می‌توانند تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در راستای خنثی کردن اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در شرایط شوری و آلودگی فلزات سنگین تولید می‌شوند، افزایش دهند (Miransari, 2010). در مطالعه‌ی Garg و Chandel (۲۰۱۲)، همزیستی بین گیاه دال نخود (*Cajanus cajan* L.) با قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا به‌عنوان راهکار بسیار مؤثری برای تعدیل اثرات تنش‌های شوری و کادمیم معرفی گردید.

مشکل سمیت ناشی از کادمیم در دانه‌های غلات و کاهش عملکرد ناشی از آن در گیاهان مختلف به‌وفور در مناطق صنعتی آلوده به فلزات سنگین گزارش شده است (Farid et al., 2013). این عناصر پس از جذب از خاک و تجمع در گیاهان وارد زنجیره غذایی انسان می‌شوند و ممکن است اثرات زیانباری بر سلامت و بهداشت انسان و دام داشته باشند. لذا، این مطالعه به‌منظور ارزیابی تأثیر قارچ‌های میکوریزا و *Azotobacter* Sp. بر خصوصیات فیزیولوژیکی و رشدی دو رقم گندم نان و دو رقم گندم دورم به وقوع همزمان تنش‌های شوری و آلودگی به کادمیم خاک انجام گرفت.

و میزان تولید آن در حدود ۱۱ میلیون تن بوده است (FAO, 2018). شوری خاک یکی از عمده‌ترین عواملی است که رشدونمو گیاهان را در مناطق خشک و نیمه‌خشک تحت تأثیر قرار می‌دهد. تنش شوری با ایجاد اختلال در بسیاری از واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تعادل عناصر غذایی، تجمع اسمولیت‌ها و سنتز هورمون‌ها باعث محدودیت رشدونمو گیاه می‌شود (Khan et al., 2012).

خاک‌های کشاورزی در سراسر دنیا با شدت‌های متفاوتی آلوده به فلزات سنگین از جمله کادمیم هستند که در نتیجه آن تولید گیاهان زراعی و دستیابی به حداکثر پتانسیل ژنتیکی ممکن در آن‌ها و همچنین امنیت غذایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از جمله مهم‌ترین منابع آلودگی می‌توان به کارخانجات، مصرف سوخت‌های فسیلی، سموم و مواد شیمیایی به‌خصوص کود فسفره، لجن فاضلاب و کمپوست‌های شهری مورد استفاده در بخش کشاورزی اشاره نمود که سهم قابل‌ملاحظه‌ای در آلودگی اراضی کشاورزی دارند (Farid et al., 2013). کادمیم در تعادل تغذیه‌ای عناصر ریزمغذی اختلال ایجاد می‌کند و توانایی گیاهان و حتی ژنوتیپ‌های مختلف یک گیاه در سمیت‌زدایی از کادمیم تا حد زیادی از یکدیگر متفاوت است (Metwally et al., 2004). اکثر تنش‌های واردشده به گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی از جمله کادمیم، با صدمات اکسیداتیو در سطح سلول که منجر به مرگ سلول می‌شوند، مرتبط است (Mittler, 2002). تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی از طریق هدرروی الکترون در مسیر اکسیژن مولکولی در فرآیندهای فتوسنتزی و تنفسی باعث افزایش تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و به‌دنبال آن موجب افزایش فرآیندهای اکسیداتیو از قبیل پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، اکسیداسیون پروتئین‌ها و بازدارندگی فعالیت آنزیم‌ها می‌شود (Asada, 2006). شوری به‌واسطه‌ی افزایش حلالیت فلزات در محلول خاک حتی در خاک‌های کشاورزی با غلظت پایین کادمیم، جذب آن توسط گیاهان را شدیداً افزایش می‌دهد (Norvell et al., 2000). Shafi و همکاران

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در فضای باز مجاور گلخانه‌های پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. در این تحقیق تأثیر سه سطح شوری (شاهد یا آب آبیاری، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در آب آبیاری) و چهار سطح تلقیح گیاهان (عدم تلقیح یا شاهد، تلقیح با قارچ میکورایزا گونه *Funneliformis mosseae*، تلقیح با قارچ میکوریزا گونه *Rhizophagus intraradices* و تلقیح با باکتری *Azotobacter* Sp. بر دو رقم گندم نان (روشن و بهار) و نیز دو رقم گندم دورم (بهرنگ و یاواروس) مورد مطالعه قرار گرفت. ارقام مورد نظر بر نتایج مطالعات قبلی که در این گزارشات و تحقیقات ارقام روشن و بهرننگ مقاوم و ارقام بهار و یاواروس حساس به تنش شوری معرفی شده بودند، انتخاب شدند (اکبری قوژدی و همکاران، ۱۳۸۹؛ علوی متین و همکاران، ۱۳۹۴؛ نقوی و همکاران، ۱۳۹۵). در ابتدای آزمایش، برای سبزشدن یکنواخت و استقرار کامل گیاه، کلیه گلدان‌های حاوی ۶ کیلوگرم خاک تا مرحله دو تا سه برگگی با آب معمولی با EC حدود ۱/۸ دسی‌زیمنس بر متر آبیاری شدند. تیمارهای شوری پس از استقرار کامل گیاهان اعمال شد و در طول دوره رشد گیاهان ادامه یافت. تعیین زمان آبیاری با اندازه‌گیری رطوبت خاک گلدان‌ها صورت گرفت. آبیاری گلدان‌ها پس از تخلیه ۴۰ درصد آب قابل استفاده در خاک در تیمار شاهد و با در نظر گرفتن ۱۵ درصد آبیاری انجام شد. کلیه تیمارهای شوری با حجم یکسانی از آب (۱ لیتر برای هر گلدان) آبیاری شدند.

**آماده‌سازی خاک و اعمال تیمارها:** خاک مورد آزمایش از بخش نکاشت یک مزرعه آلوده به کادمیم ( Safari Sinigani and Shanbeh Dastjerdi, 2009) در نزدیکی معادن و کارخانجات استخراج فلزات سنگین تهیه شد. قبل از اجرای آزمایش به منظور آماده‌کردن و تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش (جدول ۱)، نمونه خاک تهیه و پس از خرد کردن کلوخه‌ها از الک ۲ میلی‌متری گذرانده شد. برای حذف میکروارگانسیم‌های موجود در خاک، خاک هوا

خشک شده در دستگاه اتوکلاو توسط بخار آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت ضدعفونی شد. سپس گلدان‌های ۸ کیلویی با خاک آلوده به کادمیم با غلظت ۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک پر شدند و بذره‌های ضدعفونی شده ارقام گندم به تعداد ۱۰ عدد در هر گلدان کاشته شدند. پس از سبزشدن گیاهچه‌ها و رشد اولیه آن‌ها تا مرحله دو تا سه برگگی، گیاهچه‌های اضافی حذف شد تا تعداد نهایی بوته‌های موجود در هر گلدان به ۵ عدد برسد. برای تلقیح قارچ از روش آغشته‌کردن خاک گلدان‌ها در تیمارهای مورد نظر با زادمایه قارچی میکوریزایی (شامل اسپور و ریشه قارچ و قطعات ریشه مورد استفاده برای کلونیزه‌شدن قارچ) به میزان ۱۰ گرم زادمایه به‌ازای هر کیلوگرم خاک گلدان استفاده شد. برای تلقیح باکتری پس از کشت باکتری در محیط سوسپانسیون، به‌ازای هر ۱۰ گرم بذر، میزان ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری، که حاوی  $10^8$  سلول باکتری بود، به مدت نیم ساعت با بذور هم زده شد و پس از خشک‌شدن آن‌ها در شرایط استریل، کاشت انجام گرفت. برای سبزشدن یکنواخت تا مرحله دو تا سه برگگی و تا استقرار کامل گیاه از آب معمولی برای آبیاری استفاده شد و پس از آن گیاهان شاهد با آب غیرشور و گیاهان تحت تنش با آب شور حاوی ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم آبیاری شدند.

**اندازه‌گیری صفات:** برای اندازه‌گیری غلظت کادمیم در گیاه از روش هضم تر با اسید استفاده شد. در این روش ۰/۵ گرم ماده خشک گیاهی و ۴ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ داخل لوله هضم به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. لوله‌ها بعد از قرار گرفتن داخل بلوک هضم، به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۲۰ درجه حرارت داده شد. سپس ۴ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن تا زمان بی‌رنگ‌شدن محلول اضافه شد. محلول از کاغذ صافی عبور داده شد و با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسید. در آخر غلظت کادمیم عصاره‌ی به‌دست‌آمده با دستگاه جذب اتمی شعله‌ای خوانده شد.

برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی، هر گلدان به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. پس از برداشت سه بوته

جدول ۱- مقادیر مربوط به اسیدیته، هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)، نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کادمیم کل (میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کادمیم قابل‌عصاره‌گیری با EDPA در نمونه خاک مورد استفاده

EDPA	کادمیم قابل‌عصاره‌گیری با	کادمیم کل	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	EC	pH
۱/۲		۹	۱۳۱	۱۷	۴۳۵	۲/۲	۸/۰۱

آنزیم کاتالاز بود. با این تفاوت که بافر استخراج این آنزیم در داخل کوئت‌های شاهد و نمونه علاوه بر ۴/۵۱ میکرولیتر  $H_2O_2$  (۳۰ درصد) حاوی ۳/۳۵ میکرولیتر گویاکول (GUACOL) در هر کووت بود. طول‌موج جذبی طیف‌سنج ۴۷۰ نانومتر تنظیم شد. مدت زمان لازم برای ثبت واکنش‌ها یا تکمیل تأثیر آنزیم‌های پراکسیداز داخل کووت نمونه ۲ دقیقه بود (Chance and Maehly, 1955; Herzog, 1973).

محتوای پرولین برگ به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. در این روش ۴/۰ گرم از برگ تازه‌ی گیاه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد داخل هاون کوبیده شدند. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده به همراه ۲ میلی‌لیتر از محلول ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر محلول اسید استیک به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری قرار گرفتند و با اضافه‌کردن ۴ میلی‌لیتر تولوئن، میزان جذب فاز بالایی محلول در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد.

غلظت مالون دی‌آلدهید به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۱ گرم برگ تازه در ۲/۵ میلی‌لیتر محلول TCA ساییده و به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰g سانتریفوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی به ۲/۲۵ میلی‌لیتر محلول TBA-TCA اضافه و پس از ۳۰ دقیقه روی حمام بن‌ماری بلافاصله در یخ قرار داده شد. پس از سانتریفوژ نمونه‌ها، مقدار جذب در دو طول‌موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی مورد استفاده برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  بود.

برای اندازه‌گیری غلظت پراکسید هیدروژن، ۰/۲ گرم بافت تازه برگ به همراه ۲ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد و عصاره به مدت ۴ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ گردید.

در هر گلدان، نمونه‌های گیاهی به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس با ترازوی دقیق وزن شدند.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه پودر شده از بافت گیاه همراه با یک میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با  $\text{pH}=7/8$  حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و PVP (پلی‌وینیل پیرولیدون) ۱ درصد بر روی یخ هموژنیزه شد. سپس عصاره‌ی حاصل از هر نمونه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه با استفاده از سرعت ۱۴۰۰ دور در ساعت سانتریفوژ شد (Aebi, 1984).

**کاتالاز (CAT):** فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ۳ میلی‌لیتر محلول واکنش به صورت ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیمی با  $\text{pH}=7$ ، ۱۰ میلی‌مولار آب اکسیژنه و ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی براساس روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد. پس از اضافه‌کردن آب اکسیژنه ( $H_2O_2$ ) فعالیت کاتالاز موجود در عصاره آنزیمی، در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه با دستگاه طیف‌سنج (مدل Beckman Du 530) اندازه‌گیری شد.

**آسکوربات پراکسیداز (APX):** فعالیت این آنزیم براساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) در یک میلی‌لیتر بافر واکنش به صورت ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم با  $\text{pH}=7$ ، ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربیک اسید، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۱/۲۵ میلی‌مولار آب اکسیژنه و ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اندازه‌گیری شد. طول‌موج جذبی طیف‌سنج ۲۹۰ نانومتر و در مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز برابر  $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  در نظر گرفته شد.

**پراکسیداز (POX):** روش اندازه‌گیری این آنزیم همانند

معنی‌دار نبود. گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریزا گونه *F. mosseae*، گونه *Rh. intraradices* و باکتری *Azotobacter Sp.* با افزایش شوری دارای غلظت کادمیم اندام هوایی کمتری (۲۶، ۱۳ و ۹ درصد) در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده بودند (جدول ۵). مطالعات نشان داده است که عدم جذب توسط ریشه، کلاته‌شدن کادمیم در درون قارچ و یا جذب آن به کیتین در دیواره سلولی قارچ باعث تجمع کادمیم در ریشه گیاه شده و از انتقال آن به اندام هوایی جلوگیری می‌کند. Siani و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که قارچ‌های آریسکولار میکوریزا می‌توانند از طریق آزادکردن گلومالین که یک گلیکوپروتئین محلول است و به عناصر سنگینی که فرارتر از محدوده ریزوسفر گیاه قرار دارند متصل می‌شود و از جذب آن‌ها توسط ریشه جلوگیری کنند. میزان اثر تعدیل‌کنندگی قارچ‌های آریسکولار میکوریزا در شرایط تنش فلزات سنگین به عوامل متعددی از جمله نوع و غلظت فلز سنگین، گونه و شرایط رشد گیاه بستگی دارد (Jahromi et al., 2008). تلقیح گیاهان با باکتری *Azotobacter Sp.* فقط در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار موجب کاهش معنی‌دار غلظت کادمیم اندام هوایی گردید ولی در شرایط غیرشور و در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری بر غلظت کادمیم اندام هوایی نداشت.

نتایج برهمکنش رقم و تیمار نشان داد که بیشترین میزان کاهش غلظت کادمیم اندام هوایی در اثر تلقیح گیاهان با گونه‌های قارچ *F. mosseae* (۳۲ درصد) و *Rh. intraradices* (۱۷ درصد) و باکتری *Azotobacter Sp.* (۱۳ درصد) در رقم یاواروس، که حساس‌ترین رقم به تنش شوری بود، به‌دست آمد (جدول ۶).

**فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی:** اثرات شوری، رقم، تیمار تلقیح و برهمکنش دوگانه بین آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال ۱ درصد (به استثنای برهمکنش رقم و تیمار تلقیح برای آنزیم کاتالاز و برهمکنش شوری و تیمار تلقیح برای آنزیم پراکسیداز) معنی‌دار بود (جدول ۲). اثرات برهمکنش رقم و تیمار تلقیح بر آنزیم کاتالاز و

سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره‌ی رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و ۱ میلی‌لیتر محلول KI یک مولار اضافه شد. پس از ۱ ساعت تاریکی، میزان جذب محلول در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پراکسید هیدروژن به روش Loreto و Velikova (۲۰۰۱) سنجیده شد.

محاسبات آماری به‌صورت آزمایش فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی و تجزیه داده‌ها برای صفات مختلف با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت. به‌منظور بیان تفاوت‌های آماری در بین میانگین صفات اندازه‌گیری شده، در صورت معنی‌دار شدن اثر عوامل آزمایشی، از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (Least Significant Difference) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

## نتایج و بحث

**غلظت کادمیم اندام هوایی:** اثرات شوری، رقم، تیمار تلقیح و برهمکنش دوگانه بین آن‌ها بر غلظت کادمیم اندام هوایی در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳ و ۲). تنش شوری موجب افزایش غلظت کادمیم اندام هوایی در هر چهار رقم مورد مطالعه گندم گردید (جدول ۴). بیشترین مقادیر افزایشی در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به‌ترتیب برابر ۷۰ و ۱۲۴ درصد به رقم حساس یاواروس و کمترین آن‌ها برابر ۲۷ و ۶۵ درصد به رقم متحمل روشن تعلق داشت. بر این اساس به‌نظر می‌رسد که در این مطالعه میزان افزایش غلظت کادمیم در اثر شوری در ارقام متحمل کمتر بوده است. در مطالعه Xu و همکاران (۲۰۱۷) نیز افزایش حلالیت فلزات سنگین با افزایش سطح شوری در خاک گزارش شده است.

تلقیح گیاهان با دو گونه قارچ *Rh. intraradices* و *F. mosseae* در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار موجب کاهش غلظت کادمیم اندام هوایی گردید (جدول ۵). با این حال، در شرایط غیرشور فقط تلقیح گیاهان با گونه قارچ *F. mosseae* موجب کاهش معنی‌دار غلظت کادمیم شد ولی تأثیر تلقیح گیاهان با گونه قارچ *Rh. intraradices* از این نظر

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی بر غلظت کادمیم و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز

میانگین مربعات				درجه	منابع تغییر
پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	غلظت کادمیم	آزادی	
۱۳۹/۵۴**	۴/۳۲**	۲۱/۶۲**	۲۴/۲۶**	۲	شوری
۸۳/۰۷**	۲/۶۹**	۰/۶۷۶**	۲/۶۹**	۳	رقم
۱۱۵/۹۳**	۲/۶۸**	۲/۳۸**	۲/۳۸**	۳	تیمار تلقیح
۱۴/۷۳**	۰/۱۸۰**	۰/۲۳۲**	۰/۶۱۵**	۶	شوری × رقم
۸/۳۸**	۰/۱۵۰*	۰/۲۶۹**	۰/۲۶۹**	۶	شوری × تیمار تلقیح
۸/۸۴**	۰/۹۹۶**	۰/۱۰۱*	۰/۱۰۱*	۹	رقم × تیمار تلقیح
۲/۴۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۷۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۵۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۵۱ <sup>ns</sup>	۱۸	شوری × رقم × تیمار تلقیح
۲/۴۵	۰/۰۵۷	۰/۰۴۹	۰/۰۴۹	۹۶	خطا

<sup>ns</sup>: عدم معنی دار، \* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۳- اثرات اصلی شوری، رقم و تیمار تلقیح بر غلظت کادمیم و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز

پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز (mg <sup>-1</sup> protein)	کاتالاز	غلظت کادمیم (mg kg <sup>-1</sup> DW)	منابع تغییر شوری (mM)
۱۱/۳ <sup>c</sup>	۱/۸۳ <sup>c</sup>	۲/۳۱ <sup>c</sup>	۱/۵۱ <sup>c</sup>	صفر
۱۳/۰ <sup>b</sup>	۲/۱۳ <sup>b</sup>	۳/۱۰ <sup>b</sup>	۲/۳۷ <sup>b</sup>	۷۵
۱۴/۷ <sup>a</sup>	۲/۴۳ <sup>a</sup>	۳/۶۴ <sup>a</sup>	۲/۹۲ <sup>a</sup>	۱۵۰
				رقم
۱۵/۲ <sup>a</sup>	۲/۳۹ <sup>a</sup>	۳/۲۰ <sup>a</sup>	۱/۸۹ <sup>c</sup>	روشن
۱۲/۴ <sup>b</sup>	۲/۰۹ <sup>c</sup>	۲/۹۴ <sup>bc</sup>	۲/۲۷ <sup>b</sup>	بهار
۱۱/۶ <sup>c</sup>	۱/۷۶ <sup>d</sup>	۲/۸۹ <sup>c</sup>	۲/۵۴ <sup>a</sup>	یاواروس
۱۲/۸ <sup>b</sup>	۲/۲۷ <sup>b</sup>	۳/۰۴ <sup>b</sup>	۲/۳۷ <sup>b</sup>	بهرنگ
				تیمار تلقیح
۱۰/۶ <sup>c</sup>	۱/۴۵ <sup>d</sup>	۲/۶۷ <sup>d</sup>	۲/۵۱ <sup>a</sup>	شاهد
۱۴/۷ <sup>a</sup>	۲/۳۸ <sup>a</sup>	۳/۲۶ <sup>a</sup>	۱/۹۲ <sup>d</sup>	<i>F. mosseae</i>
۱۴/۰ <sup>a</sup>	۲/۲۶ <sup>b</sup>	۳/۱۵ <sup>b</sup>	۲/۲۵ <sup>c</sup>	<i>Rh. intraradices</i>
۱۲/۷ <sup>b</sup>	۲/۱۳ <sup>c</sup>	۳/۰۰ <sup>c</sup>	۲/۴۰ <sup>b</sup>	<i>Azotobacter Sp.</i>

در هر ستون و برای هر عامل آزمایشی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی داری ندارند.

برهمکنش شوری و تیمار تلقیح بر آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و رقم بر غلظت کادمیم، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز

پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز (mg <sup>-1</sup> protein)	کاتالاز	غلظت کادمیم (mg kg <sup>-1</sup> DW)	عامل آزمایشی	
				شوری (mM)	رقم
۱۲/۱ <sup>cdef</sup>	۲/۰۰ <sup>ef</sup>	۲/۳۴ <sup>f</sup>	۱/۴۵ <sup>g</sup>	روشن	صفر
۱۱/۳ <sup>ef</sup>	۱/۸۶ <sup>fg</sup>	۲/۲۸ <sup>f</sup>	۱/۵۱ <sup>g</sup>	بهار	
۱۰/۹ <sup>f</sup>	۱/۵۵ <sup>h</sup>	۲/۲۰ <sup>f</sup>	۱/۵۴ <sup>g</sup>	یاواروس	
۱۰/۹ <sup>F</sup>	۱/۹۰ <sup>f</sup>	۲/۳۲ <sup>f</sup>	۱/۵۳ <sup>g</sup>	بهرنگ	
۱۵/۱ <sup>b</sup>	۲/۳۳ <sup>c</sup>	۳/۲۲ <sup>d</sup>	۱/۸۴ <sup>f</sup>	روشن	۷۵
۱۲/۸ <sup>c</sup>	۲/۱۲ <sup>de</sup>	۳/۰۸ <sup>de</sup>	۲/۴۸ <sup>de</sup>	بهار	
۱۱/۵ <sup>def</sup>	۱/۷۰ <sup>gh</sup>	۲/۹۴ <sup>e</sup>	۲/۶۲ <sup>d</sup>	یاواروس	
۱۲/۷ <sup>cd</sup>	۲/۳۶ <sup>bc</sup>	۳/۱۶ <sup>d</sup>	۲/۵۶ <sup>de</sup>	بهرنگ	
۱۸/۳ <sup>a</sup>	۲/۸۶ <sup>a</sup>	۴/۰۴ <sup>a</sup>	۲/۳۹ <sup>e</sup>	روشن	۱۵۰
۱۳/۲ <sup>C</sup>	۲/۲۸ <sup>cd</sup>	۳/۴۲ <sup>c</sup>	۲/۸۲ <sup>c</sup>	بهار	
۱۲/۵ <sup>cde</sup>	۲/۰۳ <sup>ef</sup>	۳/۵۰ <sup>bc</sup>	۳/۴۵ <sup>a</sup>	یاواروس	
۱۴/۸ <sup>b</sup>	۲/۵۳ <sup>b</sup>	۳/۶۲ <sup>b</sup>	۳/۰۲ <sup>b</sup>	بهرنگ	

در هر ستون و برای هر عامل آزمایشی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی‌داری ندارند.

مطالعات متعددی وجود همبستگی مثبت بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان تحمل به شوری گونه‌های مختلف گیاهی گزارش شده است (Abbas et al., 2018; Nunez et al., 2003).

تلقیح گیاهان با گونه‌های قارچ میکوریزا و باکتری *Azotobacter Sp.* موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در کلیه سطوح شوری گردید (جدول ۵). میزان افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در کلیه سطوح شوری در گیاهان تلقیح‌شده با گونه قارچ *F. mosseae* در مقایسه با گیاهان تلقیح‌شده با گونه قارچ *Rh. intraradices* و باکتری *Azotobacter Sp.* بیشتر بود. در اثر تلقیح گیاهان با گونه قارچ *F. mosseae* در شرایط غیرشور و در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب ۲۸، ۴۵ و ۳۵ درصد و فعالیت آنزیم پراکسیداز ۲۶، ۴۲ و ۴۶ درصد افزایش یافت. در اثر تلقیح گیاهان با قارچ موسه، قارچ

کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در اثر شوری در هر چهار رقم مورد مطالعه گندم افزایش یافت (جدول ۴). بیشترین افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در رقم متحمل روشن مشاهده شد (به استثنای آسکوربات پراکسیداز در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار که میزان افزایش فعالیت این آنزیم (۲۴درصد) در رقم متحمل به‌رنگ بیشتر بود). میزان افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در رقم روشن در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب ۳۸، ۱۶ و ۲۵ درصد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ۷۳، ۴۳ و ۵۱ درصد بود. افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر شوری در ارقام روشن (گندم نان) و به‌رنگ (گندم دورم) نشان‌دهنده نقش مؤثر این آنزیم‌ها در القای تحمل به تنش شوری در ارقام متحمل گندم است. بروز شرایط تنش و کاهش سرعت فتوسنتز منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده و از این طریق فعالیت آنزیم‌های مسئول سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد (Khan et al., 2017). در

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و تیمار تلقیح بر غلظت کادمیم، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و مالون دی‌آلدئید (MDA)

MDA (nmol/gr <sup>-1</sup> )	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز (mg <sup>-1</sup> protein)	کاتالاز	غلظت کادمیم (mg kg <sup>-1</sup> DW)	آزمایشی	عامل
					تیمار تلقیح	شوری (mM)
۴۲/۸ <sup>fg</sup>	۹/۸ <sup>g</sup>	۱/۶۰ <sup>g</sup>	۲/۱۵ <sup>h</sup>	۱/۵۴ <sup>g</sup>	شاهد	صفر
۳۸/۵ <sup>h</sup>	۱۲/۴ <sup>de</sup>	۲/۰۴ <sup>ef</sup>	۲/۳۳ <sup>g</sup>	۱/۳۵ <sup>h</sup>	<i>F. mosseae</i>	
۴۱/۳ <sup>gh</sup>	۱۱/۵ <sup>ef</sup>	۲/۰۰ <sup>ef</sup>	۲/۴۳ <sup>g</sup>	۱/۵۳ <sup>gh</sup>	<i>Rh. intraradices</i>	
۴۱/۰ <sup>gh</sup>	۱۱/۵ <sup>ef</sup>	۱/۶۷ <sup>g</sup>	۲/۳۳ <sup>gh</sup>	۱/۶۳ <sup>g</sup>	<i>Azotobacter Sp.</i>	۷۵
۵۲/۴ <sup>d</sup>	۱۰/۸ <sup>fg</sup>	۱/۶۶ <sup>g</sup>	۲/۶۸ <sup>f</sup>	۲/۶۷ <sup>c</sup>	شاهد	
۴۶/۴ <sup>ef</sup>	۱۴/۸ <sup>b</sup>	۲/۴۰ <sup>bc</sup>	۳/۴۰ <sup>c</sup>	۱/۹۶ <sup>f</sup>	<i>F. mosseae</i>	
۴۷/۴ <sup>e</sup>	۱۴/۱ <sup>b</sup>	۲/۲۵ <sup>cd</sup>	۳/۲۶ <sup>cd</sup>	۲/۳۵ <sup>e</sup>	<i>Rh. intraradices</i>	۱۵۰
۵۲/۶ <sup>d</sup>	۱۲/۸ <sup>cd</sup>	۲/۱۹ <sup>de</sup>	۳/۶۱ <sup>b</sup>	۲/۵۳ <sup>cd</sup>	<i>Azotobacter Sp.</i>	
۶۶/۸ <sup>a</sup>	۱۱/۶ <sup>def</sup>	۱/۹۹ <sup>f</sup>	۳/۱۷ <sup>de</sup>	۳/۳۲ <sup>a</sup>	شاهد	
۵۴/۹ <sup>cd</sup>	۱۶/۹ <sup>a</sup>	۲/۶۸ <sup>a</sup>	۴/۰۴ <sup>a</sup>	۲/۴۴ <sup>de</sup>	<i>F. mosseae</i>	۱۵۰
۵۷/۹ <sup>bc</sup>	۱۶/۵ <sup>a</sup>	۲/۵۳ <sup>ab</sup>	۳/۷۶ <sup>b</sup>	۲/۸۹ <sup>b</sup>	<i>Rh. intraradices</i>	
۶۰/۸ <sup>b</sup>	۱۳/۸ <sup>bc</sup>	۲/۵۲ <sup>ab</sup>	۳/۶۱ <sup>b</sup>	۳/۰۳ <sup>b</sup>	<i>Azotobacter Sp.</i>	

در هر ستون و برای هر عامل آزمایشی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی‌داری ندارند.

سدیم در هیف‌های درون سلولی قارچ در ریشه نسبت داد که موجب کاهش انتقال سدیم به اندام هوایی ( Hammer *et al.*, 2011) می‌شود. مطالعات متعددی نشان داده است که همزیستی با قارچ‌های آریسکولار میکوریزا می‌تواند از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بهبود تحمل به شوری مؤثر واقع شود (Fileccia *et al.*, 2017; He *et al.*, 2007). Mahajan و Tuteja (۲۰۰۵) گزارش کردند که گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریزا توان فتوسنتزی و کارایی مصرف آب بهتری را در شرایط تنش شوری و کادمیم نشان می‌دهند. این گیاهان در راستای خنثی‌کردن اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در شرایط تنش تولید می‌شوند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خود را افزایش می‌دهند.

اثر برهمکنش رقم و تیمار تلقیح نشان داد که در کلیه ارقام تلقیح گیاهان با گونه‌های قارچ میکوریزا و باکتری *Azotobacter Sp.* موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های

اینترادیسیس و ازتوباکتر در مقایسه با شاهد بدون تلقیح فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب ۳۸، ۴۵ و ۲۱ درصد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ۴۹، ۳۷ و ۲۲ درصد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب ۳۸، ۵۷ و ۲۶ درصد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ۲۶، ۳۰ و ۱۸ درصد و فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب ۴۸، ۴۴ و ۲۲ درصد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ۴۱، ۳۶ و ۱۴ درصد افزایش یافت (جدول ۵). این نتایج نشان می‌دهد که در صورت مواجهه با تنش شوری، تلقیح با قارچ‌های میکوریزا و باکتری *Azotobacter Sp.* می‌تواند با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، آسیب‌های ناشی از شوری را تعدیل کند. تحمل بالاتر گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط شوری را می‌توان به توانایی بیشتر آن‌ها در جلوگیری از جذب سدیم از خاک به گیاه و نیز ذخیره



جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش رقم و تیمار تلقیح بر فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol/gr <sup>-1</sup> )	پراکسیداز		کاتالاز	غلظت کادمیم (mg kg <sup>-1</sup> DW)	عامل آزمایشی	
	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز (mg <sup>-1</sup> protein)			تیمار تلقیح	رقم
۰/۵۱۱ <sup>cd</sup>	۱۱/۴ <sup>gh</sup>	۱/۸۸ <sup>ef</sup>	۲/۷۱ <sup>fg</sup>	۲/۰۶ <sup>e</sup>	شاهد	روشن
۰/۴۱۸ <sup>f</sup>	۱۶/۷ <sup>ab</sup>	۲/۹۸ <sup>a</sup>	۳/۶۶ <sup>a</sup>	۱/۶۰ <sup>g</sup>	<i>F. mosseae</i>	
۰/۴۷۶ <sup>de</sup>	۱۷/۱ <sup>a</sup>	۲/۵۸ <sup>b</sup>	۳/۲۷ <sup>b</sup>	۲/۳۹ <sup>d</sup>	<i>Rh. intraradices</i>	
۰/۴۵۳ <sup>ef</sup>	۱۵/۵ <sup>bc</sup>	۲/۱۳ <sup>cd</sup>	۳/۱۷ <sup>bcd</sup>	۲/۰۸ <sup>e</sup>	<i>Azotobacter Sp.</i>	
۰/۵۴۷ <sup>bc</sup>	۱۰/۳ <sup>h</sup>	۱/۹۵ <sup>de</sup>	۲/۶۳ <sup>fg</sup>	۲/۴۶ <sup>bcd</sup>	شاهد	بهار
۰/۵۰۵ <sup>cd</sup>	۱۵/۳ <sup>bc</sup>	۲/۱۱ <sup>cd</sup>	۳/۱۳ <sup>bcd</sup>	۱/۹۶ <sup>ef</sup>	<i>F. mosseae</i>	
۰/۵۱۸ <sup>cd</sup>	۱۲/۹ <sup>def</sup>	۲/۲۳ <sup>c</sup>	۳/۰۵ <sup>cd</sup>	۲/۳۰ <sup>d</sup>	<i>Rh. intraradices</i>	
۰/۵۱۲ <sup>cd</sup>	۱۱/۳ <sup>gh</sup>	۲/۰۷ <sup>cde</sup>	۲/۹۶ <sup>de</sup>	۲/۳۸ <sup>cd</sup>	<i>Azotobacter Sp.</i>	
۰/۶۰۷ <sup>a</sup>	۱۰/۳ <sup>h</sup>	۱/۶۱ <sup>g</sup>	۲/۶۰ <sup>g</sup>	۳/۰۰ <sup>a</sup>	شاهد	یاواروس
۰/۵۰۸ <sup>cd</sup>	۱۳/۰ <sup>def</sup>	۱/۶۵ <sup>g</sup>	۳/۰۶ <sup>bcd</sup>	۲/۰۵ <sup>e</sup>	<i>F. mosseae</i>	
۰/۵۴۷ <sup>c</sup>	۱۱/۶ <sup>fgh</sup>	۱/۷۰ <sup>fg</sup>	۳/۰۸ <sup>bcd</sup>	۲/۵۰ <sup>bcd</sup>	<i>Rh. intraradices</i>	
۰/۵۹۳ <sup>ab</sup>	۱۱/۶ <sup>fgh</sup>	۲/۱۷ <sup>cd</sup>	۲/۸۳ <sup>ef</sup>	۲/۶۰ <sup>b</sup>	<i>Azotobacter Sp.</i>	
۰/۵۴۶ <sup>c</sup>	۱۰/۵ <sup>h</sup>	۱/۵۶ <sup>g</sup>	۲/۷۳ <sup>fg</sup>	۲/۵۲ <sup>bc</sup>	شاهد	بهرنگ
۰/۴۲۹ <sup>f</sup>	۱۳/۷ <sup>de</sup>	۲/۸۱ <sup>a</sup>	۳/۱۹ <sup>bc</sup>	۲/۰۶ <sup>e</sup>	<i>F. mosseae</i>	
۰/۴۴۲ <sup>ef</sup>	۱۴/۳ <sup>cd</sup>	۲/۵۷ <sup>b</sup>	۳/۲۱ <sup>bc</sup>	۲/۳۸ <sup>cd</sup>	<i>Rh. intraradices</i>	
۰/۵۳۹ <sup>c</sup>	۱۲/۵ <sup>efg</sup>	۲/۱۳ <sup>cd</sup>	۳/۰۵ <sup>cd</sup>	۲/۵۰ <sup>bc</sup>	<i>Azotobacter Sp.</i>	

در هر ستون و برای هر عامل آزمایشی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی‌داری ندارند.

**محتوای پرولین:** اثرات شوری، رقم، تیمار تلقیح و برهمکنش شوری و رقم بر محتوای پرولین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۷). بیشترین میزان افزایش پرولین در گیاهان تلقیح‌شده با گونه قارچ *F. mosseae* به‌دست آمد (جدول ۸). در اثر شوری محتوای پرولین در کلیه ارقام افزایش یافت (جدول ۹). بیشترین و کمترین میزان افزایش در سطوح شوری ۷۵ میلی‌مولار (۲۸ و ۱۵ درصد) و ۱۵۰ میلی‌مولار (۴۷ و ۲۶ درصد) به‌ترتیب به رقم متحمل روشن و رقم حساس یاواروس تعلق داشت. این نتایج نشان می‌دهد که در این آزمایش افزایش محتوای پرولین در اثر شوری در تحمل به شوری گندم نقش داشته است. پرولین از مهم‌ترین تنظیم

آنتی‌اکسیدانی گردید (جدول ۶). بیشترین میزان افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز (۳۵ درصد) در رقم روشن تلقیح‌شده با قارچ *F. mosseae* و کمترین آن (۹ درصد) در رقم یاواروس تلقیح‌شده با باکتری *Azotobacter Sp.* بیشترین میزان افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۸۰ درصد) در رقم به‌رنگ تلقیح‌شده با قارچ *F. mosseae* و کمترین آن (۶ درصد) در رقم بهار تلقیح‌شده با باکتری *Azotobacter Sp.* و بیشترین میزان افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز (۵۰ درصد) در رقم روشن تلقیح‌شده با قارچ *Rh. intraradices* و در رقم بهار تلقیح‌شده با قارچ *F. mosseae* و کمترین آن (۱۱ درصد) در رقم بهار تلقیح‌شده با باکتری *Azotobacter Sp.* به‌دست آمد.

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی بر محتوای پرولین، مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن و وزن خشک اندام هوایی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		پرولین	MDA	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
شوری	۲	۳۴/۵۶**	۴۳۸۵/۳۷**	۰/۴۰۸**
رقم	۳	۲/۴۶**	۱۲۹۶/۳۲**	۰/۰۶۶**
تیمار تلقیح	۳	۳/۸۱**	۳۵۹/۱۵**	۰/۰۵۲**
شوری × رقم	۶	۰/۵۵۴*	۹۵/۲۹**	۰/۰۱۱**
شوری × تیمار تلقیح	۶	۰/۱۳۴ <sup>ns</sup>	۴۹/۳۷*	۰/۰۰۳۵ <sup>ns</sup>
رقم × تیمار تلقیح	۹	۰/۰۳۸ <sup>ns</sup>	۱۲/۷۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۶*
شوری × رقم × تیمار تلقیح	۱۸	۰/۰۲۸ <sup>ns</sup>	۱۱/۲۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲۲ <sup>ns</sup>
خطا	۹۶	۰/۲۴۶	۲۰/۰۰	۰/۰۰۲۴

<sup>ns</sup>: عدم معنی دار، \* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۸- اثرات اصلی شوری، رقم و تیمار تلقیح بر محتوای پرولین، مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن و وزن خشک اندام هوایی

منابع تغییر	پرولین (mg/g <sup>-1</sup> )	MDA (nmol/gr <sup>-1</sup> )	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol/gr <sup>-1</sup> )	وزن خشک اندام هوایی (g/pot <sup>-1</sup> )	شوری (mM)
					صفر
۷۵	۵/۳۱ <sup>b</sup>	۴۹/۷ <sup>b</sup>	۰/۵۰۸ <sup>b</sup>	۴/۶۲ <sup>b</sup>	
۱۵۰	۶/۱۰ <sup>a</sup>	۶۰/۰ <sup>a</sup>	۰/۶۰۲ <sup>a</sup>	۳/۵۹ <sup>c</sup>	
رقم					
روشن	۵/۶۰ <sup>a</sup>	۴۳/۰ <sup>c</sup>	۰/۴۶۴ <sup>d</sup>	۵/۲۶ <sup>a</sup>	
بهار	۵/۱۶ <sup>bc</sup>	۵۴/۴ <sup>a</sup>	۰/۵۲۱ <sup>b</sup>	۴/۳۰ <sup>c</sup>	
یاواروس	۴/۹۸ <sup>c</sup>	۵۵/۸ <sup>a</sup>	۰/۵۶۴ <sup>a</sup>	۴/۰۷ <sup>c</sup>	
بهرنگ	۵/۳۴ <sup>b</sup>	۴۷/۶ <sup>b</sup>	۰/۴۸۹ <sup>c</sup>	۴/۶۲ <sup>b</sup>	
تیمار تلقیح					
شاهد	۴/۸۴ <sup>c</sup>	۵۳/۹ <sup>a</sup>	۰/۵۵۳ <sup>a</sup>	۴/۱۶ <sup>c</sup>	
<i>F. mosseae</i>	۵/۶۳ <sup>a</sup>	۴۶/۶ <sup>d</sup>	۰/۴۶۵ <sup>d</sup>	۴/۹۹ <sup>a</sup>	
<i>Rh. intraradices</i>	۵/۳۴ <sup>b</sup>	۴۸/۹ <sup>c</sup>	۰/۴۹۵ <sup>c</sup>	۴/۶۴ <sup>b</sup>	
<i>Azotobacter Sp.</i>	۵/۲۷ <sup>b</sup>	۵۱/۵ <sup>b</sup>	۰/۵۲۵ <sup>b</sup>	۴/۴۶ <sup>b</sup>	

در هر ستون و برای هر عامل آزمایشی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی داری ندارند.

کننده‌های پتانسیل اسمزی است که در پاسخ به تنش‌های مختلف از جمله شوری توسط گیاه تولید می‌شود تا به وسیله آن، گیاهان پایداری وضعیت اسمزی خود را حفظ کنند و اثرات نامطلوب تنش را کاهش دهند. بعلاوه، پرولین در

جدول ۹- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و رقم بر محتوای پرولین، مالون دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و وزن خشک اندام هوایی

وزن خشک اندام هوایی (g/pot <sup>-1</sup> )	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol/gr <sup>-1</sup> )	MDA (nmol/gr <sup>-1</sup> )	پرولین (mg/g <sup>-1</sup> )	عامل آزمایشی	
				رقم	شوری (mM)
۵/۸۹ <sup>a</sup>	۰/۴۰۸ <sup>f</sup>	۳۶/۱ <sup>f</sup>	۴/۴۸ <sup>g</sup>	روشن	صفر
۵/۲۴ <sup>b</sup>	۰/۴۱۶ <sup>f</sup>	۴۴/۰ <sup>e</sup>	۴/۳۰ <sup>g</sup>	بهار	
۵/۳۸ <sup>b</sup>	۰/۴۳۳ <sup>f</sup>	۴۳/۹ <sup>e</sup>	۴/۳۸ <sup>g</sup>	یاواروس	
۵/۴۳ <sup>b</sup>	۰/۴۱۲ <sup>f</sup>	۳۹/۷ <sup>f</sup>	۴/۴۷ <sup>g</sup>	بهرنگ	
۵/۴۰ <sup>b</sup>	۰/۴۳۲ <sup>f</sup>	۴۴/۳ <sup>e</sup>	۵/۷۳ <sup>cd</sup>	روشن	۷۵
۴/۲۸ <sup>cd</sup>	۰/۵۳۶ <sup>d</sup>	۵۳/۱ <sup>c</sup>	۵/۱۸ <sup>ef</sup>	بهار	
۴/۱۲ <sup>de</sup>	۰/۵۹۰ <sup>bc</sup>	۵۲/۶ <sup>bc</sup>	۵/۰۴ <sup>f</sup>	یاواروس	
۴/۶۸ <sup>c</sup>	۰/۴۷۷ <sup>e</sup>	۴۴/۹ <sup>e</sup>	۵/۳۰ <sup>ef</sup>	بهرنگ	
۴/۵۰ <sup>cd</sup>	۰/۵۵۳ <sup>cd</sup>	۴۸/۸ <sup>d</sup>	۶/۶۰ <sup>a</sup>	روشن	۱۵۰
۳/۳۶ <sup>f</sup>	۰/۶۱۱ <sup>b</sup>	۶۶/۱ <sup>a</sup>	۶/۰۰ <sup>bc</sup>	بهار	
۲/۷۱ <sup>g</sup>	۰/۶۷۰ <sup>a</sup>	۶۷/۱ <sup>a</sup>	۵/۵۳ <sup>de</sup>	یاواروس	
۳/۷۷ <sup>ef</sup>	۰/۵۷۵ <sup>bcd</sup>	۵۸/۰ <sup>b</sup>	۶/۲۵ <sup>ab</sup>	بهرنگ	

در هر ستون و برای هر عامل آزمایشی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی‌داری ندارند.

بیشترین و کمترین میزان افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار به ارقام روشن (۲۳ درصد) و بهرنگ (۱۳ درصد) و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به ارقام یاواروس (۵۳ درصد) و روشن (۳۵ درصد) و برای غلظت پراکسید هیدروژن به ترتیب (۳۶ و ۵۵) و (۶ و ۳۶) درصد) و (۳۶ و ۵۵) درصد) به ارقام یاواروس و روشن تعلق داشت. براساس این نتایج، کمترین درصد افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب در رقم بهرنگ و روشن و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در رقم روشن مشاهده شد که می‌تواند به دلیل افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پایداری بیشتر ساختار غشا در این ارقام متحمل باشد. Porcel و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نتیجه تنش شوری تا حد زیادی به شدت تنش، گونه و سن گیاه بستگی دارد. Ashraf (۲۰۰۹) از مهم‌ترین اثرات شوری را افزایش میزان مالون دی‌آلدئید در بافت گیاهی در اثر اکسیداسیون چربی‌های

فرآیندهایی از قبیل تخریب رادیکال‌های آزاد و ایجاد پایداری در ساختارهای سلولی در شرایط تنش نیز نقش دارد (Porcel et al., 2012). Goudarzi و Pakniyat (۲۰۰۹) با مطالعه ۱۵ رقم گندم ایرانی در سطوح مختلف شوری گزارش نمودند که شوری باعث افزایش غلظت پرولین و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز در این گیاه می‌شود. در مطالعه حاضر میزان تجمع پرولین در رقم متحمل روشن نسبت به ارقام دیگر بیشتر بود (جدول ۹).

#### غلظت مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن: اثرات

شوری، رقم، تیمار تلقیح و برهمکنش شوری و رقم بر غلظت مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. برهمکنش شوری و تیمار تلقیح بر غلظت مالون دی‌آلدئید در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش رقم و تیمار تلقیح در سطح احتمال ۵ درصد بر غلظت پراکسید هیدروژن معنی‌دار بود (جدول ۷). در اثر شوری غلظت مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در کلیه ارقام افزایش یافت (جدول ۹).

باکتری *Azotobacter Sp.* در ارقام متحمل بیشتر بوده است. در شرایط تنش شوری گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال آنیونی سوپراکسید ( $O_2^-$ ) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) در گیاه تولید می‌شوند که به اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و چربی‌های غشا حمله کرده و فعالیت آن‌ها را مختل می‌کنند (Alscher et al., 2002). در این مطالعه نیز افزایش غلظت پراکسید هیدروژن و مالون دآلدئید نشان‌دهنده افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان گندم تحت تنش است. نتایج مشابهی توسط دیگر محققین برای گندم (Shahabivand et al., 2017) و برنج (Li et al., 2007) گزارش شده است.

**وزن خشک اندام هوایی:** اثرات شوری، رقم، تیمار تلقیح و برهمکنش شوری و رقم بر وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۷). در اثر شوری وزن خشک اندام هوایی در کلیه ارقام کاهش یافت و میزان کاهش آن در ارقام گندم نان شامل روشن و بهار و ارقام گندم دورم شامل یاواروس و بهرنگ در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب ۸، ۱۸، ۲۳ و ۱۴ درصد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ۲۴، ۳۶، ۵۰ و ۳۱ درصد بود (جدول ۹). بر این اساس از بین ارقام گندم نان رقم روشن و از بین ارقام گندم دورم رقم بهرنگ به شوری متحمل‌تر بودند، که این نتایج مطابق نتایج مطالعات قبلی در رابطه با متحمل‌بودن ارقام روشن و بهرنگ و حساس‌بودن ارقام بهار و یاواروس به تنش شوری است که مبنای انتخاب این ارقام برای آزمایش حاضر قرار گرفته بود.

در اثر تلقیح گیاهان با گونه‌های قارچ *F. mosseae*، *Rh. intraradices* و باکتری *Azotobacter Sp.* وزن خشک اندام هوایی به‌طور میانگین، صرف‌نظر از سطح شوری و رقم مورد مطالعه، به ترتیب ۲۰، ۱۲ و ۷ درصد افزایش یافت (جدول ۸)، که نشان می‌دهد که تلقیح گیاهان با گونه قارچ *F. mosseae* بیشترین تأثیر مثبت را بر رشد و تجمع ماده خشک در گیاهان گندم داشته است. Daei و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا باعث افزایش رشد و جذب عناصر غذایی و بهبود رشد تحت شرایط تنش

غشا ذکر کرد. نتایج مشابهی توسط Shafi و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شده است. برهمکنش شوری و تیمار تلقیح نشان داد که تلقیح گیاهان با گونه‌های قارچ میکوریزا و باکتری *Azotobacter Sp.* موجب کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید در کلیه سطوح شوری گردید (به استثنای باکتری *Azotobacter Sp.* در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار) و بیشترین میزان کاهش در گیاهان تلقیح‌شده با گونه قارچ *F. mosseae* به‌دست آمد (جدول ۵). در شرایط غیرشور و در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار میزان کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید در اثر تلقیح گیاهان با گونه قارچ *F. mosseae* به ترتیب ۱۰، ۱۲ و ۱۷ درصد و در اثر تلقیح با گونه قارچ *Rh. intraradices*، ۴، ۱۰ و ۱۳ درصد بود که نشان می‌دهد که میزان تأثیر مثبت تلقیح گیاهان با میکوریزا با افزایش سطح شوری افزایش یافته است. تلقیح گیاهان با باکتری *Azotobacter Sp.* فقط در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری بر غلظت مالون دی‌آلدئید داشت. میزان افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید در اثر شوری در تیمار بدون تلقیح و در تیمارهای تلقیح با گونه‌های قارچ *Rh. intraradices* و *F. mosseae* و باکتری *Azotobacter Sp.* در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب ۲۲، ۲۱، ۱۵ و ۲۸ درصد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ۵۵، ۴۳ و ۴۰ و ۴۸ درصد بود (جدول ۵). بر این اساس، کمترین میزان افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید در هر دو سطح شوری در گیاهان تلقیح‌شده با گونه قارچ *Rh. intraradices* به‌دست آمد. برهمکنش رقم و تیمار تلقیح نشان داد که در کلیه ارقام مورد مطالعه میزان کاهش غلظت پراکسید هیدروژن در اثر تلقیح گیاهان با گونه قارچ *F. mosseae* در مقایسه با گونه قارچ *Rh. intraradices* و باکتری *Azotobacter Sp.* بیشتر بود (جدول ۶). بیشترین میزان کاهش غلظت پراکسید هیدروژن در اثر تلقیح گیاهان با گونه‌های قارچ *F. mosseae* (۲۱ درصد) و *Rh. intraradices* (۱۹ درصد) در رقم بهرنگ ولی بیشترین میزان کاهش در اثر تلقیح گیاهان با باکتری *Azotobacter Sp.* (۱۱ درصد) در رقم روشن به‌دست آمد. این نتایج نشان می‌دهد که در این آزمایش پاسخ مثبت به تلقیح گیاهان با گونه‌های قارچ میکوریزا و

جمله کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز و نیز افزایش تولید مواد تنظیم‌کننده اسمزی مانند پرولین گردید که مجموعاً در خشتی‌کردن اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا به‌عنوان شاخصی از خسارت تنش اکسیداتیو، نقش دارند. تنش شوری موجب افزایش غلظت کادمیم اندام هوایی در ارقام گندم گردید ولی میزان افزایش غلظت کادمیم در ارقام متحمل به شوری کمتر بود.

شوری در گندم می‌شوند و شدت تأثیرات مثبت آن‌ها بر ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت است.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه به‌طورکلی تأثیر مثبت تلقیح با قارچ‌های میکوریزا بر کاهش جذب کادمیم و افزایش تحمل گندم به تنش شوری را نشان داد. تلقیح گیاه با این میکروارگانیزم‌های سودمند موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از

### منابع

- اکبری قوژدی، ا.، ایزدی دربندی، علی، برزویی، ا. و مجدآبادی، ع. (۱۳۸۹) بررسی تغییرات مرفولوژی ژنوتیپ‌های گندم در شرایط تنش شوری. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۴: ۷۱-۸۲.
- علوی متین، س. م.، راهنما، ا. و مسکریاشی، م. (۱۳۹۴) تأثیر کاربرد پتاسیم بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو رقم گندم دوروم در شرایط شوری. مجله تولیدات گیاهی ۴: ۱۲-۱.
- نقوی، م. ر.، مقدم، م.، تورچی، م. و شکیب، م. ر. (۱۳۹۵) ارزیابی ارقام گندم بهاره از نظر صفات فیزیولوژیک، مورفولوژیک و زراعی تحت تنش خشکی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۱۸: ۷۷-۶۴.
- Abbas, T., Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Zia-ur-Rehman, M., Qayyum, M. F., Ok, Y. S. and Murtaza, G. (2018) Effect of biochar on alleviation of cadmium toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown on Cd-contaminated saline soil. *Environmental Science and Pollution Research* 25: 25668-25680.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. In *methods in enzymology*. Academic Press 105:121-126.
- Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath, L. S. (2002) Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* 53: 1331-1341.
- Asada, K. (2006) Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology* 141: 391-396.
- Ashraf, M. (2009) Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances* 27: 84-93.
- Bates, L. S., Waldren R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology* 2: 764-775.
- Daei, G., Ardekani, M. R., Rejali, F., Teimuri, S. and Miransari, M. (2009) Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *Journal of Plant Physiology* 166: 617-625.
- FAO. (2018) Salt-affected soils. Available online at: <http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/more-information-on-salt-affected-soils/en/> Accessed 25 november 2018
- Farid, M., Shakoor, M. B., Ehsan, S. and Hanif, M. S. (2013) Morphological, physiological and biochemical responses of different plant species to Cd stress. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences* 3: 53-60.
- Fileccia, V., Ruisi, P., Ingrassia, R., Giambalvo, D., Frenda, A. S. and Martinelli, F. (2017) Arbuscular mycorrhizal symbiosis mitigates the negative effects of salinity on durum wheat. *Plos One* 12: 158-184.
- Garg, N. and Chandel, S. (2012) Role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on growth, cadmium uptake, osmolyte, and phytochelatin synthesis in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. under NaCl and Cd stresses. *Journal of Plant Growth Regulation* 31: 292-308.
- Goudarzi, M. and Pakniyat, H. (2009) Peroxidase activity in wheat cultivars. *Journal of Applied Sciences* 9: 348-353.
- Hammer, E. C., Nasr, H., Pallon, J., Olsson, P. A. and Wallander, H. (2011) Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity. *Mycorrhiza* 21: 117-129.
- He, Z., He, C., Zhang, Z., Zou, Z. and Wang, H. (2007) Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 59: 128-133.

- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Herzog, V. (1973) Determination of the activity of peroxidase. *Analytical Biochemistry* 55: 554-562.
- Jahromi, F., Aroca, R., Porcel, R. and Ruiz-Lozano, J. M. (2008) Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. *Microbial Ecology* 55: 45.
- Khan, M. I. R., Iqbal, N., Masood, A. and Khan, N. A. (2012) Variation in salt tolerance of wheat cultivars: Role of glycinebetaine and ethylene. *Pedosphere* 22: 746-754.
- Khan, A. R., Ullah, I., Waqas, M., Park, G. S., Khan, A. L., Hong, S. J., Ullah, R., Jung, B. K., Park, C. E., Ur-Rehman, S. and Lee, I. J. (2017) Host plant growth promotion and cadmium detoxification in *Solanum nigrum*, mediated by endophytic fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 136: 180-188.
- Li, Q. F., Ma, C. C. and Shang, Q. L. (2007) Effects of silicon on photosynthesis and antioxidative enzymes of maize under drought stress. *The Journal of Applied Ecology* 18: 531-536.
- Loreto, F. and Violeta, V. (2001) Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant physiology* 127: 1781-1787.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.
- Metwally, A., Safronova, V. I., Belimov, A. A. and Dietz, K. J. (2004) Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. *Journal of Experimental Botany* 56: 167-178.
- Miransari, M. (2010) Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biology* 12: 563-569.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Norvell, W. A., Jiaping W. U., Hopkins, D. G. and Welch, R. M. (2000) Association of cadmium in durum wheat grain with soil chloride and chelate-extractable soil cadmium. *Soil Science Society of America Journal* 64: 2162-2168.
- Nunez, M., Mazzafera, P., Mazorra, L. M., Siqueira W. J. and Zullo, M. A. T. (2003) Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. *Biologia Plantarum* 47: 67-70.
- Porcel, R., Aroca, R. and Ruiz-Lozano, J. M. (2012) Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32: 181-200.
- Safari Sinigani, A. A. and Shanbeh Dastjerdi, F. (2009) The accumulation of zinc and nickel in Irankoh indigenous plant species on a contaminated land. *Soil and Sediment Contamination* 18: 525-534.
- Shafi, M., Bakht, J., Hassan, M. J., Raziuddin, M. and Zhang, G. (2009) Effect of cadmium and salinity stresses on growth and antioxidant enzyme activities of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 82: 772-776.
- Shahabivand, S., Parvaneh, A. and Aliloo, A. A. (2017) Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 145: 496-502.
- Siani, N. G., Fallah, S., Pokhrel, L. R. and Rostamnejadi, A. (2017) Natural amelioration of zinc oxide nanoparticle toxicity in fenugreek (*Trigonella foenum-gracum*) by arbuscular mycorrhizal (*Glomus intraradices*) secretion of glomalin. *Plant Physiology and Biochemistry* 112: 227-238.
- Xu, Z. M., Li, Q. S., Yang, P., Ye, H. J., Chen, Z. S., Guo, S. H., Wang, L. L., He, B. Y. and Zeng, E. Y. (2017) Impact of osmoregulation on the differences in Cd accumulation between two contrasting edible amaranth cultivars grown on Cd-polluted saline soils. *Environmental Pollution* 224: 89-97.

## Effects of inoculation with mycorrhizal fungi and azotobacter on growth and oxidative responses of wheat to salinity and cadmium stresses

Firoozeh Fayaz, Morteza Zahedi\*

Departeman of Agronomy and Plant Beerding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Esfahan, Iran

(Received: 01/10/2018, Accepted: 22/01/2019)

### Abstract

In recent decades, the increasing trend of concurrent soil salinity and heavy metal stresses in arid and semi-arid regions all over the world have become a serious threat for agricultural production and human food security. Cadmium (Cd), as a heavy metal, can be readily absorbed by plant roots, leading to disruptions in plant physiological and biochemical activities. A factorial pot experiment was carried out based on a completely randomized design with the aim of investigating the beneficial effects of root symbiosis with mycorrhizal fungi and azotobacter on the responses of two bread wheat (Roshan and Bahar) and two durum wheat (Yavarus and Behrang) cultivars grown in a naturally Cd-contaminated soil to salinity stress. Experimental factors included (1) irrigation water salinity in three levels including 0, 75 and 150 mM NaCl and (2) inoculation treatments in four levels including no-inoculation as control, plus separate inoculation by *Rhizophagus intraradices* and *Funneliformis mosseae* mycorrhizal fungi and *Azotobacter* sp. bacteria. Salinity stress was observed to cause an increase in shoot Cd concentration, antioxidant enzymes activity and the levels of proline, hydrogen peroxide and malondialdehyde, while it decreased shoot dry weight. Under saline condition, the salt tolerant cultivars (Roshan and Behrang) showed a lower increase rate of shoot Cd concentration as compared to the salt sensitive cultivars (Bahar and Yavarus), while they showed a higher increase rate of antioxidant enzymes and proline content. Wheat plants inoculated by *F. mosseae*, *Rh. intraradices* and *Azotobacter* sp. revealed a higher shoot dry weight (20, 12 and 7%, respectively) as well as higher activities of catalase (22, 18 and 12%), peroxidase (39, 32 and 20%) and ascorbate peroxidase (64, 56 and 47%) antioxidant enzymes, while a lower shoot Cd concentration (24, 11 and 5%) and lipid peroxidation activity (14, 10 and 5%) as compared to the non-inoculated plants. The results from this experiment showed that soil salinization increased cadmium concentration in wheat plants whereas the inoculation by mycorrhiza and rizobacter stimulated antioxidant enzyme defense system and reduced lipid peroxidation and cadmium absorption from soil.

**Key words:** Salinity, Heavy metals, Symbiotic microorganisms, Bread wheat, Durum wheat

Corresponding author, Email: [mzahedi@cc.iut.ac.ir](mailto:mzahedi@cc.iut.ac.ir)