

## تأثیر قارچ *Glomus intraradices* بر رشد، جذب عناصر غذایی و نیکل در فستوکا تحت تنش نیکل

معصومه رفیعی دمنه و لیلا شباني\*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۰۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۷/۳۰)

### چکیده:

به منظور بررسی همزیستی میکوریزی قارچ *Glomus intraradices* بر رشد و جذب عناصر غذایی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در این تحقیق گیاهچه‌های فستوکا به دو حالت آلوده به قارچ ( $M^+$ ) و عاری از آن ( $M^-$ ) تحت ۴ غلظت نیکل (کنترل، ۳۰، ۹۰ و ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در خاک استریل به مدت سه ماه کشت داده شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که قارچ *G. intraradices* سبب افزایش میزان کلروفیل و کاروتونئید اندام هوایی، کربوهیدرات محلول ریشه و میزان عناصر مس، آهن، منگنز و فسفر ریشه و اندام هوایی در گیاهچه‌های فستوکا  $M^+$  نسبت به گیاهچه‌های فستوکا  $M^-$  تحت تنش فلز سنگین نیکل شد، اما بر میزان روی ریشه و اندام هوایی اثر مثبت نشان نداد. همچنین حضور قارچ سبب کاهش میزان فلز سنگین نیکل در گیاهچه‌های فستوکا  $M^+$  نسبت به گیاهچه‌های  $M^-$  شد و افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی و نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی را در گیاهچه‌های  $M^+$  نسبت به گیاهچه‌های  $M^-$  را به دنبال داشت و باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش فلز سنگین نیکل شد.

واژه‌های کلیدی: جذب مواد غذایی، فستوکا آرونیناسه، کربوهیدرات محلول، میکوریز آربیسکولار، نیکل.

### مقدمه:

می‌دهد و فعالیت آنزیم‌های متصل به آن (مثل ATPase کاهش می‌یابد (Rose *et al.*, 1992)، بنابراین بر حرکت مواد محلول از غشا تأثیر می‌گذارد (Yang *et al.*, 1996). چون برخی از ویژگی‌های نیکل شبیه یون‌های کلسیم، منیزیم، منگنز، آهن، مس و روی است، بنابراین ممکن است با این فلزات در فرآیندهای جذب و ترشح رقابت کند. در نتیجه این رقابت، نیکل در غاظت‌های بالا ممکن است جذب و غاظت این فلزات را کاهش داده و منجر به کمبود آن‌ها در گیاه شود و بر فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی تأثیر گذاشته و نهایتاً سبب ایجاد اثرات سمی در گیاه شود (Chen *et al.*, 2009). مثلاً

نیکل به عنوان یکی از ریزمعدنی‌های ضروری گیاهان نقش مهمی در متابولیسم اوره، تثبیت نیتروژن و نمو دانه ایفا می‌کند (Yusuf *et al.*, 2011). در سال‌های اخیر آلودگی نیکل از سراسر جهان گزارش شده است (Nagajyoti *et al.*, 2010). فروتنی نیکل یکی از مهمترین عواملی است که سبب کاهش رشد در خاک‌های آلوده به این فلز سنگین می‌گردد (Khalid and Tinsley, 1980). از آنجایی که غشای پلاسمایی اولین قسمت عملکردی سلول‌های گیاه است که در ارتباط با انتقال فلزات سمی از جمله نیکل سیالیت خود را از دست

متعددی بر عملکرد این قارچ در خاک‌های آلوده به فلزات صورت گرفته است (Khan *et al.*, 2000; Leyval *et al.*, 1997; Vivas *et al.*, 2005). به طور کلی قارچ‌های میکوریز تعادل عناصر غذایی معدنی مخصوصاً عناصر غذایی کمیاب را بهبود می‌بخشند. هنگامی که مقدار عناصر غذایی کم است جذب آنها را تحریک می‌کنند و هنگامی که مقدار عناصر غذایی زیاد باشد جذب آنها را مهار می‌کنند (Christie *et al.*, 2004).

فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Schreb) در لیست گیاهانی که وزیکولهای میکوریز آربسکولار دارند فهرست شده است (Gibson and Newman, 2001) و یکی از گراس‌های چند ساله و سردسیری است که به دلیل خصوصیاتی همچون توان سازگاری با شرایط مختلف محیطی و تولید بالا از اهمیت خاصی برخوردار است (Sleper, 1985)، و از آن‌جایی که از پتانسیل بالایی برای تولید علوفه به صورت زراعی و مرتعی برخوردار است در سال‌های اخیر مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (Khayyam-Nekouei, 2001). آلوگی رویه افزایش زمین‌های مرتعی و کشاورزی با فلزات سنگین، بررسی آسیب‌های احتمالی پوشش‌های گیاهی این مناطق و راه‌های افزایش مقاومت آنها در برابر تنش فلزات سنگین لازم به نظر می‌رسد. در این پژوهش با توجه به اهمیت قارچ‌های میکوریز آربسکولار در افزایش غلظت ریز معدنی‌ها و بهبود سیستم فتوستزی میزان رنگیزه‌های کلروفیلی و میزان عناصر غذایی در گیاهچه‌های فستوکای تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* در خاک‌های آلوده به غلظت‌های مختلف فلز سنگین نیکل اندازه گیری و مقایسه شد.

### مواد و روش‌ها:

پس از ضدعفونی بذرهای گیاه *Festuca arundinacea* با هیپوکلریت سدیم ۵٪، به منظور جوانه زنی به پترو دیش منتقل شدند. بذرهای با جوانه هایی حدود ۲ سانتی متر در گلدان‌های حاوی ماسه استریل (جهت حذف کلیه اسپورها و یا پروپاگولهای قارچی در خاک مورد آزمایش ابتدا خاک در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۲۰ اتمسفر

آسیب در جذب فلزات ضروری از جمله آهن و منگنز باعث کاهش غلظت کلروفیل می‌شود (Seth *et al.*, 2008). همچنین جایگزینی فلزات سنگین از جمله روی، نیکل، کادمیوم، مس، سرب و جیوه در کلروفیل به جای منگنز منجر به کاهش کلروفیل و کاهش در فتوستز می‌شود (Marchiol *et al.*, 2004). علاوه بر این تنش ناشی از فلزات سنگین با کاهش میزان فتوستز مقدار قند گیاه را کاهش می‌دهد. اما از طرف دیگر گیاهان برای حفظ تعادل یونی و تنظیم اسمزی در واکوئل‌ها و سیتوپلاسم خود ترکیباتی با جرم مولکولی کم از قبیل پرولین، گلایسین، بتائین و قندهایی از جمله گلوكز و فروکتوز که مجموعاً اسمولیت نامیده می‌شوند را انباشت می‌کنند (Parida *et al.*, 2002). این قندها برای انجام فرآیندهای آنتی اکسیدانتیو مثل مسیر پتوز فسفات و بیوسنتز کاروتنوئیدها نیز لازم هستند (Debnam *et al.*, 2004).

همزیستی بین گیاهان و شاخه میکوریز آربسکولار (*Glomeromycota*) یکی از وسیع‌ترین همزیستی‌های دوطرفه بین گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک است. همزیستی این قارچ‌ها با گیاهان منجر به بهبود جذب مواد غذایی از جمله فسفر، نیتروژن و ریزمعذی‌ها می‌گردد (Javaid, 2009). زیرا میسلیوم جذب مواد غذایی در خاک را گسترش می‌دهد (George, 2000) و متقابلاً گیاه میزان کربوهیدرات‌ها را برای قارچ فراهم می‌کند (Smith and Read, 1997). از آن جایی که میکوریز باعث جذب بیشتر فسفر توسط گیاه می‌شود، افزایش غلظت فسفر باعث افزایش سرعت فتوستز و تولید اکثر کربوهیدرات‌ها می‌شود (Paradi *et al.*, 2003). قارچ‌های میکوریز آربسکولار نه تنها برای جذب مواد معذی به میزان کمک می‌کنند بلکه تحمل گیاه به فاکتورهای محیطی غیرزیستی نظیر تنش فلزات سنگین را بهبود می‌بخشند (Jahromi *et al.*, 2008). این قارچ‌ها از طریق اتصال فلز سنگین به کیتبین دیواره سلول (Hildebrandt *et al.*, 2007) و ترشح گلومالین (Gonzalez-Chavez *et al.*, 2004) غلظت فلز سنگین را در آن محل کاهش می‌دهند، و از طریق همزیستی با گیاهان برای انباشت فلزات سنگین در ریشه گیاهان به شکل غیررسمی شرکت می‌کنند (Joner and Leyval, 1997). مطالعات

(6300) خوانده شد و سپس میزان کلروفیل a, b، و کاروتینوئیدها طبق روابط ۱ تا ۳ بر حسب میلی گرم در هر گرم وزن ترافت گیاهی محاسبه گردید.

رابطه ۱:

$$\text{کلروفیل a} = \frac{[(12/77 \times A_{645}) - (4/93 \times A_{663})] \times v}{1000 \times W}$$

رابطه ۲:

$$\text{کلروفیل b} = \frac{[(22/9 \times A_{645}) - (4/93 \times A_{663})] \times v}{1000 \times W}$$

رابطه ۳:

$$\text{کاروتینوئید} = \frac{(100 \times A_{470}) - 1/89 \times \text{chl a} - 85/02 \times \text{chl b}}{198}$$

$V$  = حجم نهایی عصاره بر حسب میلی لیتر،  $D$  = جذب نوری،  $W$  = وزن ترافت بر حسب گرم  
**سنجهش میزان کربوهیدرات محلول ریشه: اندازه گیری کربوهیدرات محلول ریشه با روش Porter و Villar (1997)** انجام شد. این روش بر اساس اسپکتروفوتومتری و سنجهش شدت رنگ ایجاد شده از واکنش قندها با معرف آنترون استوار است. در این روش  $0.1$  گرم از نمونه های خشک ریشه در اتانول  $80\%$  سائیده و عصاره حاصل در حمام آب گرم با دمای  $30$  درجه سانتی گراد به مدت  $30$  دقیقه قرار گرفت. سپس عصاره های حاصل در دور  $4500$  rpm به مدت  $10$  دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب حاصل دوباره مشابه بالا سائیده و در حمام آب گرم قرار گرفت و سانتریفیوژ شد. سپس بخش اثانولی - آبی برای تعیین میزان قند محلول برداشته شد و با افزودن  $5$  میلی لیتر معرف آنترون به آن نمونه ها به مدت  $7/5$  دقیقه در حمام آب گرم با دمای  $100$  درجه سانتی گراد قرار گرفت و مقدار جذب نمونه ها پس از سرد شدن در روی یخ در طول موج  $625$  نانومتر خوانده شد. **سنجهش کربوهیدرات های محلول در ریشه با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز** آمد. مقدار کربوهیدرات نمونه ها بر حسب میلی گرم در یک کیلو گرم وزن ترافت گیاه محاسبه گردید.

**سنجهش عناصر:** یک گرم از ریشه و بخش های هوایی خشک شده از هر نمونه وزن و به مدت  $5$  ساعت در کوره

توسط بخار آب به مدت یک ساعت استریل شد) کاشته شد و از مایه تلقیح قارچ *Glomus intraradices* (تپیه شده از شرکت زیست فناور توران، سمنان) برای تلقیح بذرهای فستوکا استفاده شد. جهت انجام آغشتگی میکوریزی مقدار  $2$  گرم از مایه تلقیح حاوی اسپور و پروپاگول قارچی (جمعیت قارچ موجود در مایه تلقیح  $1/6$  پروپاگول در هر گرم) بر سطح خاک موجود در هر گلدان ریخته شد. بذرها به دو صورت بدون قارچ و تلقیح با قارچ و در غلاظت های کترول،  $30$  و  $90$  و  $180$  میلی گرم بر کیلو گرم نیکل تیمار شدند. نگهداری از گلدان ها در شرایط (دما  $25$  درجه سانتی گراد، شدت روشنایی  $3500$  لوکس، دوره روشنایی  $16/8$  ساعت و رطوبت نسبی حدود  $0.5\%$ ) در گلخانه انجام گرفت و پس از سه ماه گیاهچه ها جهت بررسی وزن خشک ریشه و اندام هوایی، میزان کلروفیل و کاروتینوئید، کربوهیدرات محلول ریشه، میزان عناصر غذایی (مس، روی، آهن، منگنز و فسفر) و میزان نیکل برداشت شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در  $3$  تکرار اجرا گردید. در این حالت دو قارچ (با و بدون میکوریز) و  $4$  غلاظت نیکل (کترول،  $30$ ،  $90$  و  $180$ ) به عنوان فاکتورها در نظر گرفته شد.

**سنجهش شاخص های رشد:** جهت اندازه گیری وزن خشک ریشه و اندام هوایی، ابتدا قسمت های هوایی گیاهچه ها جدا شد و بعد از قرار دادن آن ها در پاکت های کاغذی، به مدت  $48$  ساعت در دمای  $70$  درجه سانتی گراد در آون (مدل Memert)، نمونه های خشک شده بر حسب گرم توزین گردیدند.

**سنجهش محتوای کلروفیل و کاروتینوئید در اندام هوایی:** برای اندازه گیری رنگیزه های فتوسترنزی شامل کلروفیل a و b و کاروتینوئیدها از اندام هوایی گیاهان پس از طی سه ماه دوره تنش استفاده شد. اندازه گیری کلروفیل های a و b با روش Lichtenthaler (1949) و کاروتینوئید با روش Arnon (1987) انجام شد. در این روش میزان جذب محلول سانتریفیوژ شده برگ های سائیده شده در استون  $80\%$  در طول موج های  $645$  و  $663$  و  $470$  نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل JENWAY

گرم بر کیلوگرم شد و در تیمارهای دیگر اختلاف معنی داری بین گیاهچه های فستوکا  $M^+$  نسبت به گیاهچه های فستوکا  $M^-$  مشاهده نشد (جدول ۲).

تأثیر متقابل نیکل و قارچ بر میزان کربوهیدرات محلول ریشه معنی دار ( $P < 0.05$ ) بود (جدول ۱). غلظت کربوهیدرات محلول ریشه تحت شرایط کنترل و سطوح مختلف تیمار نیکل در گیاهچه های فستوکا  $M^+$  بیشتر از گیاهچه های فستوکا  $M^-$  بود و بالاترین میزان کربوهیدرات محلول ریشه در تیمار ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد (شکل ۳).

تأثیر نیکل و قارچ *G. intraradices* هر کدام به طور جداگانه بر میزان مس، روی و فسفر اندام هوایی و آهن و فسفر ریشه معنی دار ( $P < 0.05$ ) بود (جدول ۳). نتایج حاصل از اندازه گیری میزان مس، روی و فسفر در اندام هوایی و فسفر ریشه حاکی از آن بود که با افزایش غلظت نیکل میزان این عناصر در گیاهچه ها کاهش یافت (شکل ۴). میزان آهن ریشه در غلظت های بالای نیکل (۹۰ و ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به شاهد کاهش نشان داد و در غلظت پایین نیکل (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۴، ه). تأثیر متقابل نیکل و قارچ بر میزان این عناصر معنی دار نبود (جدول ۳).

گیاه با قارچ *G. intraradices* سبب افزایش معنی دار در میزان مس و فسفر اندام هوایی، آهن و فسفر ریشه در گیاهچه های فستوکا  $M^+$  نسبت به گیاهچه های فستوکا  $M^-$  شد اما میزان روی اندام هوایی در گیاهچه های فستوکا  $M^+$  نسبت به گیاهچه های فستوکا  $M^-$  کاهش نشان داد (شکل ۵).

تأثیر متقابل نیکل و قارچ بر میزان مس، روی و منگنز ریشه و آهن و منگنز اندام هوایی معنی دار ( $P < 0.05$ ) بود (جدول ۳). در گیاهچه های حاوی قارچ *G. intraradices* میزان عناصر مس ریشه، آهن اندام هوایی، منگنز ریشه و اندام هوایی تحت شرایط کنترل و سطوح مختلف تیمار نیکل در مقایسه با گیاهچه های  $M^-$  افزایش یافت. ولی میزان روی ریشه در گیاهچه های  $M^-$  تحت شرایط کنترل و تیمار ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم نسبت به گیاهچه های  $M^+$  افزایش یافت و در تیمارهای ۹۰ و ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی داری

الکترویکی و در دمای ۴۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. خاکستر حاصل پس از سرد شدن در ۱۰ میلی لیتر نیتریک اسید ۱۰٪ حل شد. پس از صاف کردن، محلول ها درون لوله های پلاستیکی مخصوص ریخته شد و مقدار عناصر مس، روی، آهن، منگنز و نیکل در ریشه و اندام هوایی توسط دستگاه طیفسنج جذب اتمی (مدل GBC 932 plus) آنالیز گردید (Reeves *et al.*, 1996). میزان فسفر عصاره ها با روش مولبیدات (Allen, 1989) و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS و MSTATC انجام گرفت و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) ( $P < 0.05$ ) مشخص شد.

#### نتایج:

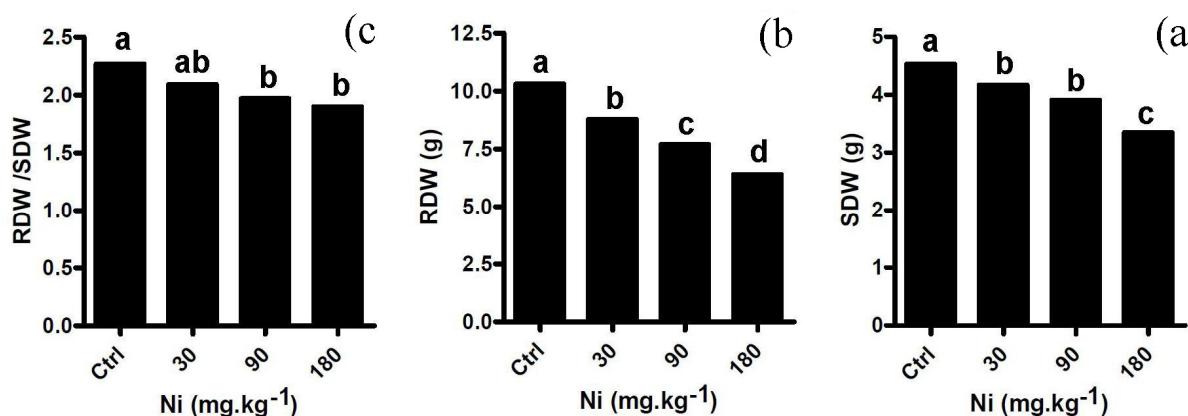
تأثیر نیکل و قارچ *G. intraradices* هر کدام به طور جداگانه بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی معنی دار ( $P < 0.05$ ) بود (جدول ۱). نتایج بررسی تغییر شاخص های رشدی نشان داد که تیمار نیکل باعث کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی و کاهش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی گیاهچه های فستوکا شد، و کمترین میزان وزن خشک ریشه و اندام هوایی و نسبت آنها در بیشترین غلظت نیکل (۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) خاک مشاهده شد (شکل ۱). حضور قارچ *G. intraradices* وزن خشک ریشه و اندام هوایی و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی را در گیاهچه های  $M^+$  نسبت به گیاهچه های  $M^-$  افزایش داد (شکل ۲). تأثیر متقابل نیکل و قارچ بر این شاخص های رشد معنی دار نبود (جدول ۱).

تأثیر متقابل نیکل و قارچ بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتینوئید اندام هوایی معنی دار ( $P < 0.05$ ) بود (جدول ۱). میزان کلروفیل a و میزان کاروتینوئید در سطوح مختلف تیمار نیکل در گیاهچه های فستوکا  $M^+$  بیشتر از گیاهچه های فستوکا  $M^-$  بود. آلودگی با قارچ *G. intraradices* سبب افزایش معنی دار ( $P < 0.05$ ) کلروفیل b در تیمار ۱۸۰ میلی

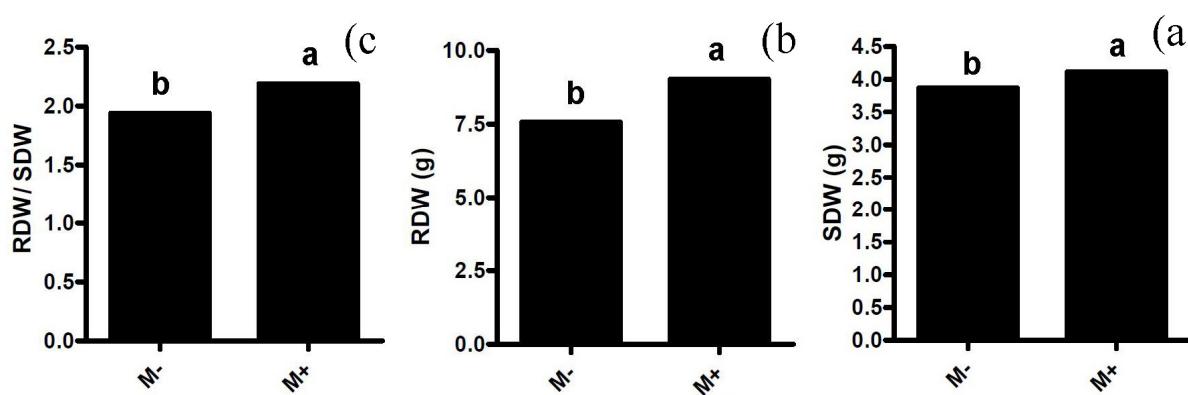
جدول ۱- تجزیه واریانس وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتینوئید، کربوهیدرات محلول ریشه، غلظت نیکل ریشه و اندام هوایی در گیاهچه‌های فستوکا

منابع تغییر	درجه	وزن	وزن خشک	وزن خشک	کلروفیل b	کاروتینوئید	کربوهیدرات	غلاظت	غلاظت	غایض	غایض
آزادی	آزادی	اندام هواي	ريشه به	a	b	c	d	e	f	نيكل	نيكل اندام
(گرم)	(گرم)	(گرم)	اندام هواي	اندام هواي	اندام هواي	اندام هواي	اندام هواي	اندام هواي	اندام هواي	ريشه	هواي
ميكوريز	1	۱۲/۵۰*	۰/۳۴*	۰/۳۸*	۱/۴۴*	۰/۶۴*	۱۷۹۰۸۵۹۳/۸۸*	نيكل	۵/۷۱*	۲/۶۱*	۳/۶۱*
نيكل	۳	۱۶/۴۷*	۱/۴۹*	۰/۱۵*	۵/۷۲*	۰/۳۸*	۸۳۶۵۹۳۸/۹۰*	نيكل	۷/۸۱*	۲/۳۱*	۰/۱*
ميكوريز+نيكل	۳	۰/۹۸ns	۰/۰۹ns	۰/۰۹ns	۱/۴۲*	۰/۱۵*	۲۵۰۲۵۰۳/۳۱*	خطا	۱/۶۸*	۰/۱*	۵/۷۱*

\*بیانگر معنی دار بودن در سطح ۰/۰۵ و ns بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.



شکل ۱- مقایسه میانگین شاخص وزن خشک اندام هوایی (SDW) (a)، وزن خشک ریشه (RDW) (b) و نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی (RDW/SDW) (c) در سطوح مختلف تیمار نیکل (Ni) در گیاهچه‌های فسکیوی بلند. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

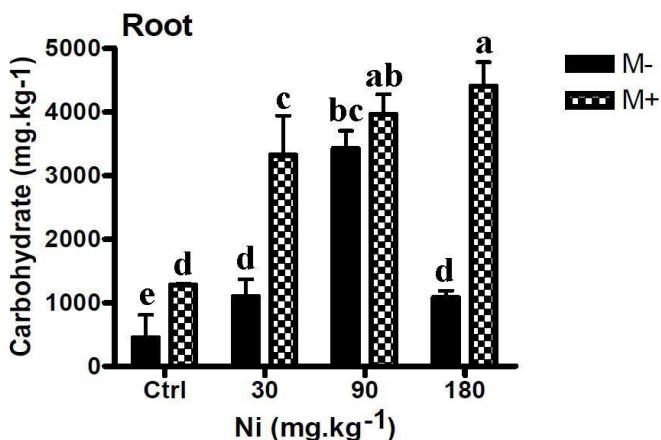


شکل ۲- مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی (a)، وزن خشک ریشه (b) و نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی (c) در گیاهچه‌های حاوی قارچ (M+) و فاقد قارچ (M-). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است. آنوده به قارچ و (M+): عاری از قارچ.

جدول ۲- برهمکنش نیکل و قارچ *G. intraradices* بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتونوئید در فسکیوی بلند.

کارو-تئوئید (mg.g <sup>-1</sup> )		کلروفیل b (mg.g <sup>-1</sup> )		کلروفیل a (mg.g <sup>-1</sup> )		نیکل قارچ شاهد
M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	
١/٠٥ <sup>b</sup>	١/١٦ <sup>a</sup>	٣/٨٤ <sup>a</sup>	٣/٧٥ <sup>a</sup>	٦/٤٧ <sup>a</sup>	٦/٥٤ <sup>a</sup>	٣٠
٠/٩٢ <sup>c</sup>	٠/٦٢ <sup>e</sup>	٣/٦٤ <sup>ab</sup>	٣/٣٩ <sup>ab</sup>	٦/٣٦ <sup>a</sup>	٥/٢٩ <sup>b</sup>	٩٠
٠/٨٨ <sup>cd</sup>	٠/٣٤ <sup>f</sup>	٣/٤٧ <sup>ab</sup>	٣/١ <sup>b</sup>	٤/٢٩ <sup>c</sup>	٣/١٨ <sup>d</sup>	١٨٠
٠/٨٣ <sup>d</sup>	٠/٢٤ <sup>g</sup>	٢/٢٥ <sup>c</sup>	٠/٩٩ <sup>d</sup>	٤/٠١ <sup>c</sup>	١/٧ <sup>e</sup>	

حروف غیر یکسان پیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است.



شکل ۳- برهمکنش نیکل و قارچ G.intraradices بر میزان کربوهیدرات ریشه در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بینگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

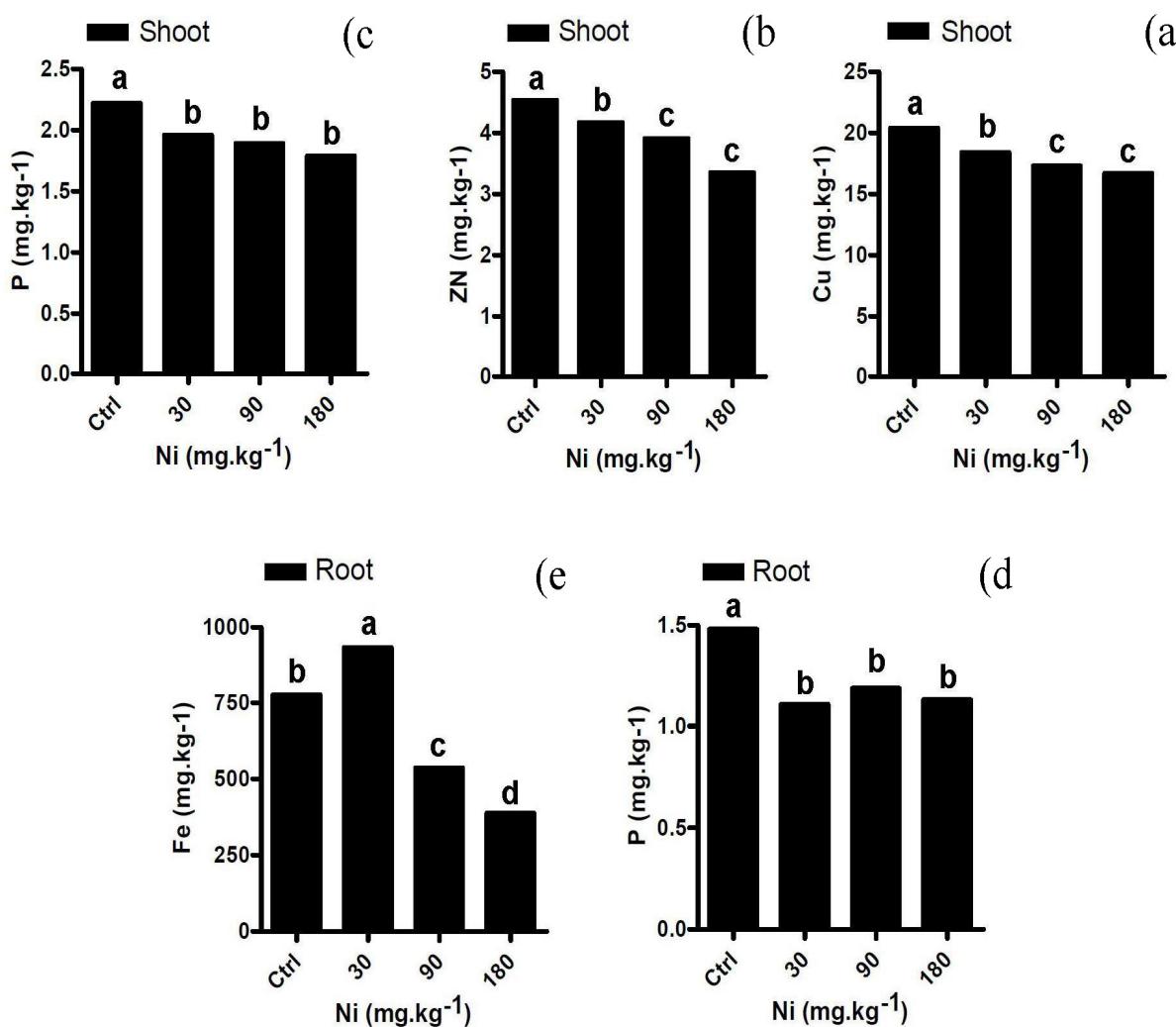
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مس، روی، آهن، منگنز و فسفر ریشه و اندام هوایی در گیاه‌های فستو کا

\* پیانگر معنی دار یو دن در سطح ۰/۰۵ و ns پیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

در میزان روی ریشه بین گیاهچه‌های  $M^+$  و  $M^-$  مشاهده نشد (جدول ۴). تأثیر متقابل نیکل و فارچ بر میزان نیکل ریشه و اندام هوایی معنی دار ( $P < 0.05$ ) بود (جدول ۱). میزان نیکل ریشه در تیمارهای  $M^+$  و  $M^-$  بود (شکل ۶).

در میزان روی ریشه بین گیاهچه‌های  $M^+$  و  $M^-$  مشاهده نشد.  
(حده ۱، ۴).

تأثیر متقابل نیکل و قارچ بر میزان نیکل ریشه و اندام هوایی معنی دار ( $P < 0.05$ ) بود (جدول ۱). میزان نیکل ریشه در تیمارهای ۹۰ و ۱۸۰ میلی گرم بیشتر کیلو گرم در گیاهچه های

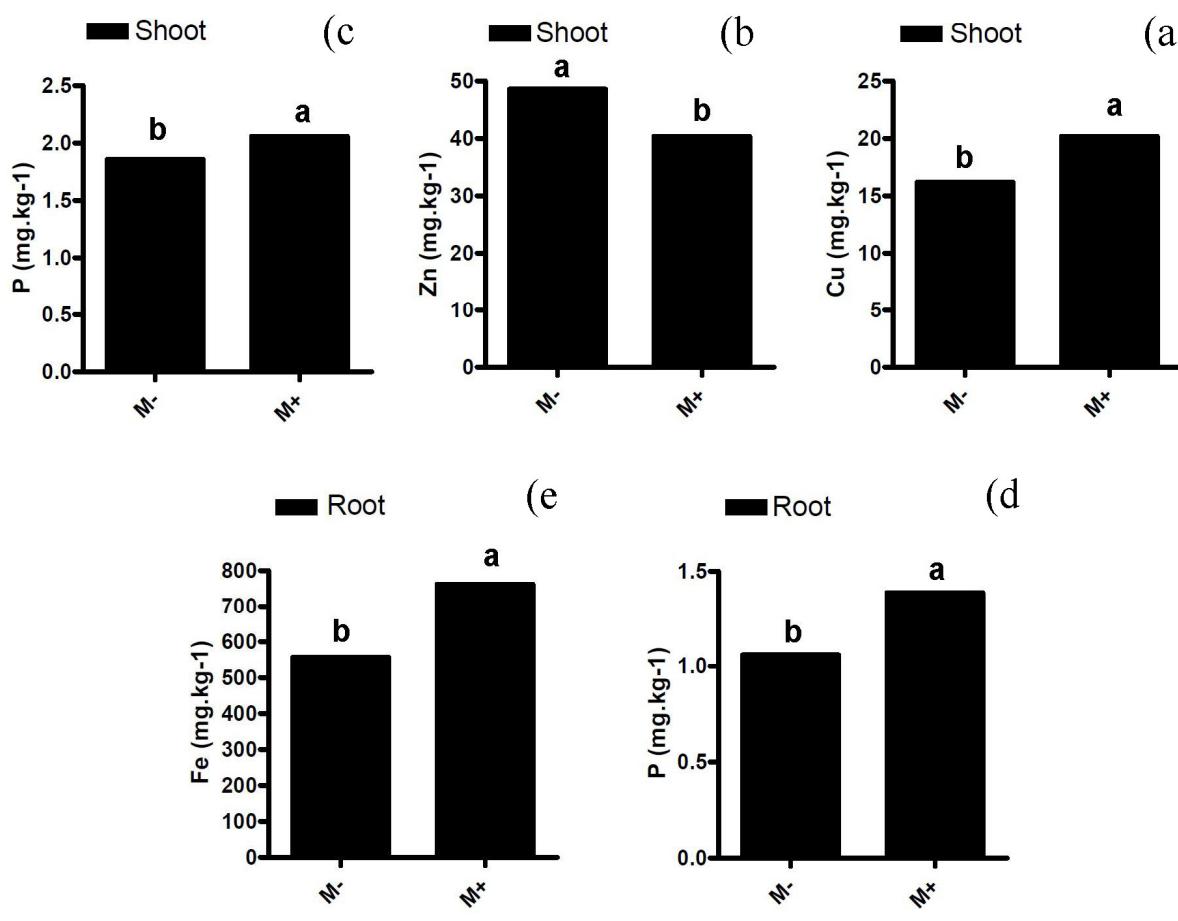


شکل ۴- مقایسه میانگین میزان مس (Cu) (a)، روی (Zn) (b) و فسفر (P) (c) و آهن (Fe) (d) و آهن (Ni) (e) ریشه در سطوح مختلف تیمار نیکل در گیاهچه‌های فسکیوی بلند. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

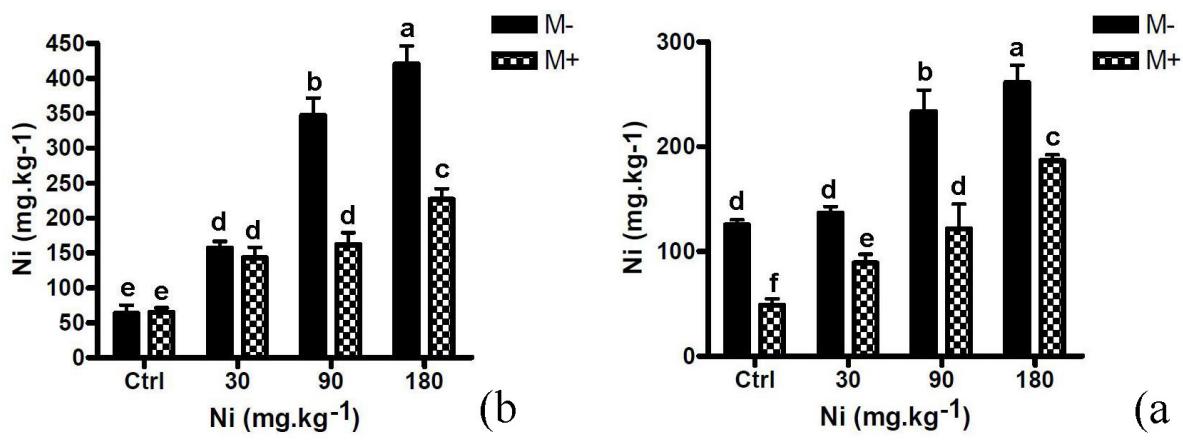
جدول ۴- برهمکنش نیکل و قارچ *G.intraradices* بر میزان مس، روی و منگنز ریشه و آهن و منگنز اندام هوایی در فسکیوی بلند.

nikel	قارچ											
نیکل	قارچ											
	شاهد	۳۰	۹۰	۱۸۰	شاهد	۳۰	۹۰	۱۸۰	شاهد	۳۰	۹۰	۱۸۰
M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	
۴۹۰/۱ <sup>a</sup>	۴۲۹/۹ <sup>c</sup>	۳۸۵/۶ <sup>b</sup>	۲۳۰ <sup>c</sup>	۳۱۸/۵ <sup>a</sup>	۲۰۷/۵ <sup>d</sup>	۳۵/۹ <sup>c</sup>	۱۵۶ <sup>a</sup>	۲۳/۸ <sup>a</sup>	۱۸ <sup>c</sup>	-	-	-
۴۷۰ <sup>b</sup>	۳۸۸/۳ <sup>d</sup>	۵۹۵/۶ <sup>a</sup>	۱۹۱/۸ <sup>cd</sup>	۲۷۸/۵ <sup>b</sup>	۱۷۴/۴ <sup>e</sup>	۳۴/۵ <sup>c</sup>	۶۷/۲ <sup>b</sup>	۲۱/۰۱ <sup>b</sup>	۱۵/۵ <sup>d</sup>	-	-	-
۳۶۴/۷ <sup>e</sup>	۲۴۰/۳ <sup>f</sup>	۲۳۶/۹ <sup>c</sup>	۱۷۵/۱ <sup>de</sup>	۲۷۱/۳ <sup>bc</sup>	۱۳۷/۴ <sup>f</sup>	۲۸/۸ <sup>c</sup>	۴۳/۳ <sup>c</sup>	۲۰/۳ <sup>b</sup>	۱۴/۵ <sup>d</sup>	-	-	-
۲۱۷/۶ <sup>g</sup>	۱۵۸/۹ <sup>h</sup>	۱۶۸/۹ <sup>de</sup>	۱۳۷/۷ <sup>e</sup>	۲۶۴/۷ <sup>c</sup>	۱۱۳/۵ <sup>g</sup>	۲۷/۴ <sup>c</sup>	۲۷/۷ <sup>c</sup>	۲۰/۰ <sup>b</sup>	۱۲/۸ <sup>e</sup>	-	-	-

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است.



شکل ۵- مقایسه میانگین میزان مس (a)، روی (b) و فسفر (c) در اندام هوایی و فسفر (d) و آهن (e) ریشه در گیاهچه‌های حاوی قارچ (M+) و فاقد قارچ (M-). حروف متغیر بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.  
آلوده به قارچ و (M<sup>+</sup>): عاری از قارچ (M<sup>-</sup>)



شکل ۶- برهمکنش نیکل و قارچ G. *intraradices* بر میزان نیکل اندام هوایی (a) و ریشه (b) در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است). (M<sup>+</sup>: آلوده به قارچ و (M<sup>-</sup>): عاری از قارچ

بحث:

می شود. در این پژوهش افزایش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی تحت تأثیر قارچ *G. intraradices* بیانگر تأثیر بیشتر این قارچ در توسعه ریشه در مقایسه با اندام هوایی گیاه است. این موضوع می تواند به این دلیل باشد که کلونیزاسیون با قارچ های میکوریز آربیسکولار سطح پشتی نوک ریشه را که جایگاه اصلی طویل شدن سلول و جذب عناصر غذایی است افزایش می دهد (Neumann and George, 2005).

فلزات سنگین به علت افزایش تجزیه رنگدانه کلروفیل باعث کاهش در میزان کلروفیل در بافت های تیمار شده با فلز می شوند (Gajewska et al., 2006). مکانیسم های عملکردی اولیه سمیت فلزات سنگین این است که جانشین یون های Van ضروری می شوند، مثلاً نیکل جانشین منیزیم می شود (Assche and Clijsters, 1986). مطابق با نتایج این پژوهش Pandey و Sharma (۲۰۰۲) نشان دادند که غلظت های بالای نیکل، کادمیوم و b در گیاه کلم شده است. همچنین Tao و Huang (۲۰۰۴) گزارش کردند که محتوای کلروفیل در حضور غلظت بالای مس در گیاهچه های *Pinus sylvestris* تیمار شده با میکوریز و فاقد میکوریز کاهش یافت. احتمالاً محتوای پایین کلروفیل گیاهچه های فستوکا باعث کاهش فتوستز در گیاه شده که این نتیجه با کاهش زیست توده گیاهچه های فستوکا تحت تنش همخوانی دارد.

بررسی ها نشان داده است که قارچ های میکوریز قادرند که سرعت و میزان فتوستز را در گیاه همزیست افزایش دهند. این افزایش احتمالاً در اثر بهبود شرایط تغذیه ای و افزایش جذب آب در گیاه از یک سو و کاهش بیماری ها و آفات از سوی دیگر می باشد (Demir, 2004). نتایج تحقیق Pereira و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد میزان کلروفیل a و b به ترتیب ۲۳ و ۳۸ درصد در گیاهان شاه بلوط تلقیح شده در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافته است. محتوای بالای کلروفیل مشاهده شده در برگ های گیاهان شاه بلوط تلقیح شده به بهبود تغذیه گیاه میزان به خصوص فسفر و نیتروژن نسبت داده شد، به طوری که نیتروژن عنصری ضروری برای تشکیل کلروفیل و

فلزات سنگین به دلیل واکنش پذیری بالا، به طور مستقیم بر فرآیندهای رشد، پیری و سنتز انرژی تأثیر می گذارند و باعث ایجاد تنفس اکسیداتیو و تولید اتیلن در گیاهان می شوند و از طریق تأثیر بر متابولیسم، تنفس و متابولیسم نیتروژن باعث کاهش زیست توده گیاه می شوند (Lin et al., 2005). همچنین فلزات سنگین بر فرآیندهای همتواستازی شامل جذب آب، انتقال، تعرق و متابولیسم مواد غذایی (Poschenrieder and Barcelo, 2004) و جذب کلسیم، منیزیم، پتاسیم و فسفر (Benavides et al., 2005) تأثیر منفی می گذارند، و از این طریق رشد و بیوماس گیاه را کاهش می دهند. Gajewska و همکاران (۲۰۰۶) مهار رشد ساقه را در گندم های تحت تیمار غلظت ۰/۲ میلی مولار نیکل نشان دادند. همچنین Rivera-Becerril و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که فلز سنگین کادمیوم باعث کاهش زیست توده ساقه و ریشه در گیاه *Pisum sativum* می شود. نتایج این پژوهش نیز نشان دهنده کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در گیاهچه های فستوکا با افزایش غلظت نیکل است. کاهش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی نشان می دهد که ریشه ها حساس تر از اندام هوایی نسبت به سمیت نیکل هستند و آسیب بیشتری می بینند.

کلونیزاسیون میکوریزی به عنوان کلید رشد و بهبود گیاه در محیط های تحت تنش تشخیص داده شده است (Koves-Pechy et al., 1999). قارچ های میکوریز آربیسکولار از طریق بهبود تغذیه، در دسترس قرار دادن آب و کاهش تراکم خاک پایداری و رشد گیاه را افزایش می دهند (Gaur and Adholeya, 2004). مطابق با نتایج این تحقیق Abdel Latef (۲۰۱۱) گزارش کرد که کلونیزاسیون گیاه فلفل با قارچ *G. mosseae* باعث افزایش وزن خشک ریشه در گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی تحت تنش فلز سنگین مس شد. همچنین Mohammad و Goussous (۲۰۰۹) گزارش کردند که قارچ *G. intraradices* بر جذب مواد غذایی گیاه پیاز تأثیر داشته و باعث افزایش رشد گیاه پیاز

تنش‌های مختلف مانند شوری، خشکی، دمای پائین و سعیت فلزات سنگین که به طور مستقیم یا غیر مستقیم منجر به تجمع گونه‌های اکسیژن فعال می‌شوند، باعث انباستگی قندهای محلول شده که به عنوان مکانیسم سازشی پاسخ به شرایط تنش می‌باشد (Roitsch and Ehne, 2000). همچنین کربوهیدرات‌های محلول می‌توانند مسیر متابولیک تولید NADPH از جمله مسیر اکسیداتیو پتتوز - فسفات که به پاکروپی گونه‌های اکسیژن فعال کمک می‌کند را تغذیه کنند (Couee *et al.*, 2006). در این رابطه نشان داده شده است که مس باعث افزایش میزان قندهای قابل حل در برگ‌های خیار می‌شود (Alaoui-Sosse *et al.*, 2004). همچنین Moya و همکاران (۱۹۹۳) نیز افزایش در میزان کربوهیدرات را در اندام هوایی برج تخت تیمار کادمیوم گزارش کردند. نتایج این پژوهش نشان دهنده افزایش میزان کربوهیدرات محلول ریشه با افزایش غلاظت نیکل است که به کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش نیکل کمک می‌کند.

تلقیح میکوریزی باعث افزایش سطوح سوربیتول و سوکروز در گیاهان می‌شود. سوربیتول سهم بزرگی از مخزن قند کل در همه گیاهان را در بر می‌گیرد و از آن جایی که محصول اصلی فرایند فتوستتر است، افزایش آن در گیاهان میکوریزی ممکن است به فعالیت فتوستتر بیشتر آنها نسبت داده شود (Rapparini *et al.*, 1996). مطابق با نتایج این پژوهش Demir (۲۰۰۴) گزارش کرد که تلقیح گیاه فلفل با *G. intraradices* میزان فسفر، وزن ماده خشک، کلروفیل‌های a و b و قندهای گیاهی مانند فروکوتوز، آلفا و بتا گلوكز و ساکاروز را افزایش داد. Feng و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند وزن خشک ریشه ذرت در نتیجه همزیستی با قارچ‌های میکوریز افزایش یافت. آنها این موضوع را به افزایش غلاظت کربوهیدرات‌های محلول و مقدار الکتروولیت‌ها در ریشه‌ها نسبت دادند.

فلزات سنگین به علت برهم‌کنش با ریز مغذی‌ها و درشت مغذی‌ها بر جذب آنها تأثیر می‌گذارند. ماهیت و نوع این برهم‌کنش به غلاظت‌های یونی، pH، حضور کلات کننده‌ها و غیره بستگی دارد (Ciecko *et al.*, 2004). طبق گزارش

فسفر نقش مهمی را به عنوان حامل انرژی طی فتوستتر ایفا می‌کند. Huang و Tao (۲۰۰۴) نشان دادند که گیاهچه‌های میکوریزی *Pinus sylvestris* در مقایسه با گیاهچه‌های غیر میکوریزی محتوای بالاتری از کلروفیل a، b و کلروفیل کل را دارا هستند. با توجه به افزایش میزان فسفر و ریز مغذی‌ها متوسط قارچ *G. intraradices* در گیاهچه‌های فستوکا  $M^+$  نسبت به گیاهچه‌های فستوکا  $M^-$  غلاظت کلروفیل a و b نیز در گیاهچه‌های فستوکا  $M^+$  نسبت به گیاهچه‌های فستوکا  $M^-$  افزایش نشان داد.

کاروتوئیدها در چند سطح باعث حفاظت دستگاه فتوستتری در برابر فوتون‌های اضافی و تنش اکسیداتیو می‌شوند. که از آن جمله واکنش با کلروفیل برانگیخته برای ممانعت از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن است. در واقع کاروتوئیدها به عنوان یک سیستم حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو القا شده از بین می‌روند. کاهش کاروتوئیدها به دلیل فرون Shanی غیر فتوشیمیایی کلروفیل‌های برانگیخته است که توسط کاروتوئیدها انجام و در نتیجه منجر به برهم زدن ساختار آنها می‌گردد (Sanita and Gabbrielli, 1999). مطابق با نتایج این پژوهش Singh و Pandey (۲۰۱۱) نشان دادند افزایش نیکل سبب کاهش محتوای کاروتوئید در کاهو می‌شود. طبق گزارش Baslam و همکاران (۲۰۱۳) گیاه *Lactuca sativa* کلونیزه شده با قارچ میکوریز آرسکولار دارای کاروتوئید بیشتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزی است. که افزایش کاروتوئیدها در گیاه به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی بیان شده است. به طور کلی هر چه شرایط تعذیه ای و محیطی برای رشد گیاه مناسب‌تر باشد توان گیاه در تولید کلروفیل و کاروتوئید در برگ و تولید انرژی بیشتر می‌شود. همچنین از آن جایی که کاروتوئیدها به دلیل صرف باندهای دوگانه به عنوان آنتی اکسیدان‌های محلول در لیپید علیه رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های فتوشیمیایی عمل می‌کنند (Pandey and Sharma, 2002) افزایش میزان کاروتوئیدها در گیاهچه‌های فستوکای میکوریزی نسبت به گیاهچه‌های فستوکای غیر میکوریزی در کاهش تنش نیکل مؤثر است.

گیاه نسبت داده می شود (Nielsen and Jensen, 1983). Azcon و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند جذب عناصر پاتاسیم و کلسیم در گیاهان کاهوی تلقیح شده با قارچ های میکوریز آریسکولار کاهش یافته است. میزان مس، آهن و منگنز هم در ریشه و هم در اندام هوایی گیاهچه های فستوکا حاوی قارچ بیشتر از گیاهچه های فاقد قارچ تحت تنفس نیکل بود، و بر عکس تحت تنفس نیکل در غلاظت های پایین میزان روی در ریشه ها و اندام هوایی در گیاهچه های فاقد قارچ بیشتر از گیاهچه های دارای قارچ بود و در غلاظت های بالای نیکل تأثیر قارچ معنی دار نبود. در گیاهچه های حاوی قارچ وزن خشک ریشه و اندام هوایی نسبت به گیاهان فاقد قارچ بیشتر بوده است بنابراین احتمالاً در این گیاهان کاهش غلاظت روی به افزایش زیست توده نسبت داده می شود که نتایج حاصل از افزایش جذب عناصر ریز مغذی در این گیاهان را تأیید می کند.

اثرات مفید تلقیح با قارچ های میکوریز آریسکولار نه تنها به جذب مواد غذایی از جمله کلسیم، منگنز، مس و روی محدود نمی شود بلکه جذب فسفر را نیز تحت تأثیر قرار می دهد (Clark and Zeto, 2000). استفاده از حجم زیاد خاک میکوریز آریسکولار (Tinker, 1978)، حرکت سریع فسفر درون هیف قارچ های میکوریز آریسکولار (Bolan *et al.*, 1987) از جمله مکانیسم های افزایش جذب فسفر در گیاهان میکوریزی گزارش شده اند. هیف قارچ برای جذب و انتقال فسفر از جایگاه هایی از خاک که برای ریشه گیاه در دسترس نیستند استفاده می کند، در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی که منطقه در دسترس فسفر در حد چند میلی متر است، در گیاهان میکوریزی این منطقه افزایش یافته است (George *et al.*, 1992). افزایش سطح فسفر منجر شده است (Asghariet *et al.*, 2005). Vivas و همکاران (۲۰۰۶) اثبات کردند کلونیزاسیون میکوریز، عناصر غذایی ضروری از جمله فسفر را در گیاه *Brevibacillus brevis* افزایش می دهد. به نظر می رسد که افزایش فسفر در گیاهچه-

Ciecko و همکاران (۲۰۰۶) فلز سنگین کادمیوم جذب آهن، نیتروژن، فسفر، پاتاسیم، روی، مس و سدیم را کاهش می دهد، دلیل این کاهش به این صورت عنوان شده است که کادمیوم بر سیالیت غشا تأثیر می گذارد و منجر به عدم تعادل در میزان این عناصر در گیاه می شود. فلز سنگین نیکل می تواند سبب کاهش جذب منیزیم و آهن از طریق رقابت یونی با آنها شده و در نتیجه موجودی این عناصر را در قسمت های هوایی گیاه کاهش دهد و منجر به کمبود این عناصر شود (Chen *et al.*, 2009). کاهش غلاظت کلیه عناصر اندازه گیری در این تحقیق تحت تنفس نیکل را می توان به تغییر ساختار غشای سلول های ریشه و کاهش سطوح جذب کننده آنها توسط غلاظت های سمی نیکل نسبت داد.

برای افزایش جذب نسبی ریز مغذی های غیر متحرک از جمله مس، روی و آهن توسط گیاهان تلقیح شده با قارچ های میکوریز آریسکولار مدارک زیادی وجود دارد (Li and Christie, 2001; Liu *et al.*, 2000; Vogel-Mikus *et al.*, 2006). قارچ های میکوریز آریسکولار کورتکس ریشه اکثر گونه های گیاهی را کلونیزه کرده و میسلیوم برون ریشه ای که ریشه های گیاه را به اطراف توسعه می دهد تشکیل می دهد و از طریق افزایش سطح جذب بین گیاهان و محیط خاک، در جذب درشت مغذی ها (فسفر و نیتروژن) و نیز ریز مغذی ها (مس و روی) شرکت می کنند (Smith and Read, 2008). با توجه به تحقیقات Mohammad و Goussous (۲۰۰۹) جذب روی و آهن در گیاهان پیاز آلوه به *G. intraradices* بهبود یافته است. همچنین Vogel-Mikus و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که کلونیزاسیون گیاه *Thlaspi praecox* با قارچ های میکوریز آریسکولار باعث افزایش جذب مواد غذایی در این گیاه شده است. نتایج متناقض درباره اثرات قارچ های میکوریز آریسکولار بر غلاظت فلزات در گیاه ممکن است نتیجه محدوده وسیعی از فاکتورها از جمله ظرفیت جذب ذاتی فلزات توسط گیاه، تراکم ریشه گیاه، ویژگی های متانظر قارچ و ویژگی های جذب خاک باشد (Joner and Leyval, 2001). همچنین می توان گفت کاهش غلاظت ریز مغذی ها در گیاهان میکوریزی برخی اوقات به اثر رقیق سازی توازن با افزایش وزن خشک محصول

کند. کاهش در جذب نسبی نیکل نیز برای گونه‌های جنس *Alyssum* در خاک‌های آلوده به نیکل گزارش شده است (De Varennes *et al.*, 1996). کمتر بودن میزان نیکل در اندام هوایی گیاهچه‌های فستوکای حاوی قارچ در مقایسه با گیاهچه‌های فاقد قارچ بیانگر انتقال کمتر نیکل از ریشه به اندام هوایی در گیاهچه‌های حاوی قارچ است که می‌تواند به عنوان یک مکانیسم دفاعی مهم تلقی شود.

#### نتیجه گیری کلی:

نتایج این بررسی نشان داد که تلقیح قارچ *G. intraradices* با افزایش میزان عناصر ضروری مس، آهن، منگنز و فسفر در ریشه و اندام هوایی، افزایش میزان کلروفیل و کاروتینوئید اندام هوایی، کربوهیدرات محلول ریشه و کاهش میزان فلز سنگین نیکل در ریشه و اندام هوایی باعث افزایش مقاومت گیاهچه‌های فستوکای در برابر تنفس فلز سنگین نیکل و در نتیجه بهبود وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاهچه‌های فستوکای تحت تنفس فلز سنگین نیکل شد. همچنین با توجه به اینکه اندام‌های هوایی در گیاهان علوفه‌ای مثل فستوکای بخش حائز اهمیت گیاه است، کاهش غلظت نیکل در این اندام‌ها و بهبود جذب عناصر معدنی (که عمده‌تا در سطح اندام هوایی گیاه آشکار می‌شود) بر اثر همزیستی با قارچ میکوریز امکان بهره برداری از این خصوصیات در تولید گیاهان مقاوم به تنفس در اصلاح نباتات را به وجود خواهد آورد.

#### تشکر و قدردانی:

این پژوهه با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد انجام شده است، که بدین وسیله قدردانی می‌گردد.

های فستوکای تلقیح شده با قارچ به دلیل افزایش طول ریشه‌های گیاه و ریشه‌های قارچی و در نتیجه افزایش میزان دسترسی به فسفر غیر متحرک در خاک باشد، که با نتایج افزایش وزن خشک ریشه در گیاهچه‌های دارای قارچ همخوانی دارد.

قارچ‌های میکوریز آربسکولار جذب فعال بیش از حد فلزات سنگین را از طریق ریشه‌ها کاهش می‌دهند در صورتی که جذب فعال سایر فلزات مثل نیتروژن و فسفر را حفظ می‌کنند (Joner and Leyval, 1997). مکانیسم‌های فیزیکی و بیولوژیکی عدم تحرک فلزات سنگین در قارچ به تحمل گیاهان میزان نسبت به این فلزات کمک می‌کنند. فلزات سنگین به ریشه می‌رسند و در سلول‌های پارانشیم درونی یعنی مکانی که ساختارهای قارچی (هیف‌های درون ریشه‌ای، آربسکولهای و وزیکولهای) مستقر شده‌اند، ته نشین می‌شوند (Gonzalez-Guerrero *et al.*, 2008). همچنین اثبات شده است که یک گلیکوپروتئین غیر محلول به نام گلومالین توسط هیف قارچ‌های میکوریز آربسکولار تولید می‌شود که به عناصر سمی از جمله فلزات سنگین متصل می‌شود و آنها را از گیاه دور نگه می‌دارد (Gonzalez-Chavez *et al.*, 2004). علاوه بر این اثبات شده است قارچ‌های میکوریز آربسکولار جذب فلزات را از طریق محدودیت انتقال به ریشه، همچنین از طریق اتصال فلزات سنگین به ترکیبات دیواره سلولی قارچ از جمله کیتین و ملانین، یا توقیف فلزات سنگین به صورت کمپلکس‌های فلزی غنی از فسفر در واکوئل‌های قارچ کاهش می‌دهند (Leyval and Joner, 2001).

Vivas و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند تحت شرایط تنفس نیکل، تلقیح قارچ *G. mosseae* با *Brevibacillus brevis* گیاه *Cucumis sativus* و *Capsicum annuum L.* را علیه اثرات سمی غلظت‌های بالای نیکل از طریق کاهش اکتساب نیکل و کاهش غلظت نیکل در بافت گیاه حمایت می‌نمایند.

#### منابع:

- Abdel Latef, A. A. H. (2011) Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and copper on growth, accumulation of osmolyte, mineral nutrition and antioxidant enzyme activity of pepper (*Capsicum annuum* L.). Mycorrhiza 21: 495-503.

- wheat root growth is related to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production, but not to lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation* 49: 95-103.
- Gaur, A. and Adholeya, A. (2004) Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science* 86: 528-534.
- George, E. (2000) Nutrient uptake: Contributions of Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Plant Mineral Nutrition. In: Arbuscular mycorrhizas: physiology and function (eds. Kapulnik, Y. and Douds, D. D. J. R.) Pp. 307-343. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- George, E., Haussler, K., Kothari, S., Li, X. and Marschner, H. (1992) Contribution of mycorrhizal hyphae to nutrient and water uptake of plants. In: Mycorrhizas in Ecosystems (eds. Read, D. J., Lewis, D. H., Fitter, A. H. and Alexander, I. J.) Pp. 42-48. C. A. B International, Cambridge.
- Gibson, D. and Newman, J. (2001) *Festuca arundinacea* Schreber (F. elatior L. ssp. *arundinacea* (Schreber) Hackel). *Journal of Ecology* 89: 304-324.
- Gonzalez-Chavez, M., Carrillo-Gonzalez, R., Wright, S. and Nichols, K. (2004) The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 130:317-323.
- Gonzalez-Guerrero, M., Melville, L. H., Ferrol, N., Lott, J. N., Azcon-Aguilar, C. and Peterson, R. L. (2008) Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Microbiology* 54: 103-110.
- Goussous, S. and Mohammad, M. (2009) Comparative effect of two arbuscular mycorrhizae and N and P fertilizers on growth and nutrient uptake of onions. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 463-467.
- Hetrick, B. (1989) Acquisition of phosphorus by VA mycorrhizal fungi and the growth responses of their host plants. In: Nitrogen, Phosphorus and Sulphur Utilization by Fungi (eds. Boddy, L., Marchant, R. and Read, D. J.) Pp. 205-226. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hildebrandt, U., Regvar, M. and Bothe, H. (2007) Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry* 68: 139-146.
- Huang, Y. and Tao, S. (2004) Influences of excessive Cu on photosynthesis and growth in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings. *Journal of Environmental Sciences* 16: 414-419.
- 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* 55:45-53.
- Allen, S. E. (1989) Chemical analysis of ecological materials. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, London.
- Asghari, H. R., Chittleborough, D. J., Smith, F. A. and Smith, S. E. (2005) Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis on phosphorus leaching through soil cores. *Plant and Soil* 275:181-193.
- Azcon, R., Ambrosano, E. and Charest, C. (2003) Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration. *Plant Science* 165:1137-1145.
- Baslam, M., Esteban, R., García-Plazaola, J. I. and Goicoechea, N. (2013) Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of major carotenoids, chlorophylls and tocopherol in green and red leaf lettuces. *Applied Microbiology and Biotechnology* 1-10.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2005) Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 21-34.
- Bolan, N., Robson, A. and Barrow, N. (1987) Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the availability of iron phosphates to plants. *Plant and Soil* 99:401-410.
- Chen, C., Huang, D. and Liu, J. (2009) Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. *CLEAN–Soil, Air, Water* 37: 304-313.
- Christie, P., Li, X. and Chen, B. (2004) Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant and Soil* 261:209-217.
- Ciecko, Z., Kalembasa, S., Wyszkowski, M. and Rolka, E. (2004) Effect of soil contamination by cadmium on potassium uptake by plants. *Polish Journal of Environmental Studies* 13: 333-337.
- Clark, R. and Zeto, S. (2000) Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition* 23: 867-902.
- Couee, I., Sulmon, C., Gouesbet, G. and El Amrani, A. (2006) Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* 57: 449-459.
- Debnam, P. M., Fernie, A. R., Leisse, A., Golding, A., Bowsher, C. G., Grimshaw, C. And Emes, M. J. (2004) Altered activity of the P2 isoform of plastidic glucose 6-phosphate dehydrogenase in tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) causes changes in carbohydrate metabolism and response to oxidative stress in leaves. *The Plant Journal* 38: 49-59.
- Demir, S. (2004) Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biologi* 28: 85-90.
- Feng, G., Zhang, F., Li, X., Tian, C., Tang, C. and Rengel, Z. (2002) Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12: 185-190.
- Gajewska, E., Ślaba, M., Andrzejewska, R. and Skłodowska, M. (2006) Nickel-induced inhibition of

- Nagajyoti, P., Lee, K. and Sreekanth, T. (2010) Heavy metals, occurrence and toxicity for plants. *Environmental Chemistry Letters* 8: 199-216.
- Neumann, E. and George, E. (2005) Does the presence of arbuscular mycorrhizal fungi influence growth and nutrient uptake of a wild-type tomato cultivar and a mycorrhiza-defective mutant, cultivated with roots sharing the same soil volume? *New Phytologist* 166:601-609.
- Nielsen, J. D. and Jensen, A. (1983) Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi on growth and uptake of various nutrients as well as uptake ratio of fertilizer P for lucerne (*Medicago sativa*). *Plant and Soil* 70:165-172.
- Pandey, N. and Sharma, C. P. (2002) Effect of heavy metals Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> on growth and metabolism of cabbage. *Plant Science* 163: 753-758.
- Paradi, I., Bratek, Z. and Lang, F. (2003) Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus supply on polyamine content, growth and photosynthesis of *Plantago lanceolata*. *Biologia Plantarum* 46: 563-569.
- Parida, A., Das, A. B. and Das, P. (2002) NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology* 45: 28-36.
- Pereira, E., Coelho, V., Tavares, R. M., Lino-Neto, T. and Baptista, P. (2012) Effect of competitive interactions between ectomycorrhizal and saprotrophic fungi on *Castanea sativa* performance. *Mycorrhiza* 22: 41-49.
- Poschenrieder, C. and Barceló, J. (2004) Water relations in heavy metal stressed plants. In: *Heavy Metal Stress in Plants* (ed. Prasad, M. N. V.) Pp. 207-229. Springer, Berlin.
- Rapparini, F., Baraldi, R. and Bertazza, G. (1996) Growth and carbohydrate status of *Pyrus communis* L plantlets inoculated with *Glomus* sp. *Agronomie-Sciences des Productions Végétales et de l'Environnement* 16: 653-662.
- Reeves, R., Baker, A., Bgrhidi, A. and Berazain, R. (1996) Nickel-accumulating plants from the ancient serpentine soils of Cuba. *New Phytologist* 133:217-224.
- Rivera-Becerril, F., Calantzis, C., Turnau, K., Caussanel, J. P., Belimov, A. A., Gianinazzi, S., Strasser, J. R. and Gianinazzi-Pearson, V. (2002) Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. *Journal of Experimental Botany* 53: 1177-1185.
- Roitsch, T. and Ehneß, R. (2000) Regulation of source/sink relations by cytokinins. *Plant Growth Regulation* 32: 359-367.
- Ros, R., Morales, A., Segura, J. and Picazo, I. (1992) *In vivo* and *in vitro* effects of nickel and cadmium on the plasmalemma ATPase from rice (*Oryza sativa* L.) shoots and roots. *Plant Science* 83: 1-6.
- Javaid, A. (2009) Arbuscular mycorrhizal mediated nutrition in plants. *Journal of Plant Nutrition* 32:1595-1618.
- Joner, E. and Leyval, C. (1997). Uptake of 109Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae/Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytologist* 135:353-360.
- Joner, E. and Leyval, C. (2001) Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. *Biology and Fertility of Soils* 33:351-357.
- Khalid, B. and Tinsley, J. (1980) Some effects of nickel toxicity on rye grass. *Plant and Soil* 55:139-144.
- Khan, A., Kuek, C., Chaudhry, T., Khoo, C. and Hayes, W. (2000) Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41:197-207.
- Khayyam-Nekouei, M. (2001) Germplasm collection and molecular detection of endophytic fungi in Iranian tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). Ph. D. thesis, University of Putra, Putra, Malaysia.
- Koves-Pechy, K., Biro, B., Voros, I., Takacs, T., Osztoics, E. and Strasser, R. (1999) Enhanced activity of microsymbiont-host systems probed by the OJIP test. In: *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*, (Ed. G. Garab) Pp. 2765-2770. Kluyver Academic Publishers.
- Leyval, C. and Joner, E. J. (2001) Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere. In: *Trace Metals in the Rhizosphere* (eds. Gobran, R. G., Wenzel, W. W. and Lombi, E.) Pp. 165-185. CRC Press, USA.
- Leyval, C., Turnau, K. and Haselwandter, K. (1997) Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7:139-153.
- Li, X. and Christie, P. (2001) Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zn-contaminated soil. *Chemosphere* 42:201-207.
- Lin, C. C., Chen, L. M. and Liu, Z. H. (2005) Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. *Plant Science* 168: 855-861.
- Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R., Ma, B. and Smith, D. (2000) Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza* 9: 331-336.
- Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P. and Zerbi, G. (2004) Phytoextraction of heavy metals by canola *Brassica napus* and radish *Raphanus sativus* grown on multicontaminated soil. *Environmental Pollution* 132: 21-27.
- Moya, J., Ros, R. and Picazo, I. (1993) Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynthesis Research* 36: 75-80.

- Ribulose-1, 5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase. Journal of Plant Physiology 125: 355-360.
- Vivas, A., Bareja, J. and Azcón, R. (2005) Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil. Environmental pollution 134:257-266.
- Vivas, A., Biro, B., Nemeth, T., Bareja, J.M. and Azcon, R. (2006) Nickel-tolerant *Brevibacillus brevis* and arbuscular mycorrhizal fungus can reduce metal acquisition and nickel toxicity effects in plant growing in nickel supplemented soil. Soil Biology and Biochemistry 38: 2694-2704.
- Vogel-Mikus, K., Pongrac, P., Kump, P., Necemer, M. and Regvar, M. (2006) Colonisation of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. Environmental Pollution 139:362-371.
- Yang, X., Baligar, V., Martens, D. and Clark, R. (1996) Plant tolerance to nickel toxicity: II Nickel effects on influx and transport of mineral nutrients in four plant species. Journal of Plant Nutrition 19:265-279.
- Yusuf, M., Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. (2011) Nickel: an overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 86:1-17.
- Sanita di Toppi, L. and Gabbrielli, R. (1999) Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany 41: 105-130.
- Seth, C. S., Kumar Chaturvedi, P. and Misra, V. (2008) The role of phytochelatins and antioxidants in tolerance to Cd accumulation in *Brassica juncea* L. Ecotoxicology and Environmental Safety 71: 76-85.
- Singh, K. and Pandey, S. (2011) Effect of nickel-stresses on uptake, pigments and antioxidative responses of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. Journal of Environmental Biology 32: 391-394.
- Sleper, D. (1985) Breeding tall fescue. Plant Breeding Reviews 3: 313-342.
- Smith, S. and Read, D. (1997) Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London.
- Smith, S. and Read, D. (2008) Mycorrhizal symbiosis. 3rd Academic Press, San Diego.
- Tinker, P. (1978) Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant nutrition and plant growth. Physiology Vegetal 16:743-751.
- Varennes, A., Torres, M., Neto, M., Coutinho, J. and Rocha, M. (1996) Effects of heavy metals on the growth and mineral composition of a nickel hyperaccumulator. Journal of Plant Nutrition 19: 669-676.
- Van Assche, F. and Clijsters, H. (1986) Inhibition of Photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by Treatment with Toxic Concentration of Zinc: Effect on