

## تأثیر قارچ میکوریزا بر پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی آفتابگردان و گلرنگ تحت تنش کادمیم

رامین رستمی<sup>۱</sup>، ماشاء اله دانشور<sup>۱\*</sup>، احمد اسماعیلی<sup>۱</sup> و مرتضی زاهدی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، <sup>۲</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه

صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۱/۱۷)

### چکیده

یک آزمایش گلدانی به منظور مطالعه اثر قارچ میکوریزا آربوسکولار (*Glomus intraradices*) بر رشد، غلظت کادمیم و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی (سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)) در آفتابگردان و گلرنگ در چهار سطح کادمیم (۰، ۲/۵، ۵ و ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم خاک) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در شرایط گلخانه اجرا شد. در این تحقیق با افزایش سطح کادمیم خاک، وزن خشک ریشه و اندام هوایی هر دو گیاه و فعالیت آنزیم CAT در گلرنگ کاهش یافت. در حالی که، غلظت کادمیم در ریشه و اندام هوایی، فعالیت SOD در هر دو گیاه و فعالیت CAT در آفتابگردان افزایش یافت. در اثر تلقیح میکوریزا، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، غلظت کادمیم در اندام هوایی آفتابگردان و فعالیت CAT در گلرنگ در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزایی افزایش ولی غلظت کادمیم ریشه، فعالیت SOD در گیاهان میکوریزایی هر دو گیاه و فعالیت CAT در آفتابگردان کاهش یافت. نتایج نشان داد که تلقیح قارچ میکوریزا می تواند از طریق افزایش تولید زیست توده و تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان باعث بهبود تحمل این گیاهان در برابر سمیت کادمیم و بهبود گیاه جذبی (Phytoextraction) آن توسط آفتابگردان از خاک های آلوده گردد.

کلمات کلیدی: کادمیم، قارچ میکوریزا، آنزیم های آنتی اکسیدان

### مقدمه

موجودات زنده به شدت حائز اهمیت است (آقابابایی و همکاران، ۱۳۹۲). گیاهان در خاک های آلوده به کادمیم علائم مشخصی از سمیت گیاهی مانند کلروز، بازداری رشد، پیچیدگی برگ، قهوه ای شدن نوک ریشه ها و در نهایت مرگ گیاه را نشان می دهند (Ghani and Wahid, 2007).

کادمیم در سطوح فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باعث ایجاد اختلال در مسیر های متابولیکی مانند فتوسنتز، انتقال انرژی و جذب عناصر غذایی می شود (Wahid et al. 2010). همچنین، آلودگی کادمیم باعث اختلال در رشد و متابولیسم گیاه از طریق

امروزه آلودگی خاک در اثر انتشار زیاده های شهری و صنعتی تولید شده توسط انسان یک چالش جهانی و نگرانی مهم زیست محیطی برای منابع آب و خاک و بالطبع سلامتی انسان محسوب می شود. آلودگی خاک با فلزات سمی کادمیم، سرب، روی، نیکل و مس همراه با صنعتی شدن بطور قابل توجه ای در چندین دهه گذشته افزایش یافته است (Sheoran et al. 2016). کادمیم به دلیل قدرت تحرک بالا در خاک ها و توانایی ایجاد مسمومیت شدید، حتی در غلظت های بسیار پائین، در

شهری باعث افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک های منطقه اصفهان گردیده است (Amini et al., 2005). آفتابگردان و گلرنگ از جمله گیاهان زراعی و دانه های روغنی هستند که به واسطه خصوصیات ویژه ریخت شناسی، فیزیولوژیکی و سازگاری در منطقه مرکزی کشور به خصوص در منطقه اصفهان در سطح قابل توجه ای کشت و کار می شوند. با این حال، مطالعات محدودی در رابطه با تحمل و پاسخ های فیزیولوژیکی این گیاهان به فلزات سنگین (مرادی و احسان زاده، ۱۳۹۲، Pourghasemian et al., 2013; Shi and Cai, 2009) و همچنین تاثیر قارچ های میکوریزا بر تحمل این گیاهان به سمیت عناصر سنگین به ویژه کادمیم صورت گرفته است (Hassan et al., 2013; Aghababaei and Raiesi, 2015). بر این اساس این آزمایش با هدف بررسی پاسخ های فیزیولوژیکی آفتابگردان و گلرنگ به تنش کادمیم در حضور قارچ میکوریزا و امکان بهبود گیاه پالایی کادمیم توسط این گیاهان در اثر تلقیح میکوریزیایی انجام شد.

#### مواد و روش ها

**آماده سازی خاک و تلقیح میکوریزا:** جهت انجام این آزمایش خاکی با بافت لوم شنی از اراضی کشاورزی حاشیه رودخانه زاینده رود تهیه و نمونه ای از آن در آزمایشگاه خاکشناسی آنالیز گردید. برخی خصوصیات خاک مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است. این خاک پس از عبور از الک ۲ میلی متری در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۲ اتمسفر به مدت ۲ ساعت در دو روز متوالی استریل شد. برای انجام این آزمایش از گلدان های پلاستیکی با ظرفیت ۸ کیلوگرم خاک استفاده شد. گلدان ها و وسایل دیگر قبل از استفاده با محلول ۳۵٪ هیپوکلریت سدیم (NaClO) تجاری ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو شدند و مقادیر مورد نیاز کودهای شیمیایی بر اساس نتیجه آنالیز خاک به گلدان ها اضافه شد. تیمارهای کادمیم به وسیله نمک کلرید کادمیم ( $CdCl_2$ ) اعمال و جهت ایجاد حالت تعادل بین کادمیم اضافه شده و خاک، کلیه گلدان ها به مدت ۴ ماه در دمای ۲۰ درجه

تولید و تجمع انواع گونه های اکسیژن های فعال (ROS) می شود که تجمع آنها می تواند منجر به تنش اکسیداتیو در گیاهان (Hall, 2002) و در نتیجه خسارت اکسیداتیو شدید به اندامک های سلولی و مولکول های زیستی مهم مانند چربی ها، پروتئین ها، کربوهیدرات ها و DNA شوند (Schützendübel and Polle, 2002). گیاهان برای حذف ROS از سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی شامل آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی (متابولیکی) استفاده می کنند. بیوستز و تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله SOD و CAT در پاسخ به تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت کادمیم (Gill and Tuteja, 2010) و سایر فلزات سنگین (Azcon et al., 2009) به اثبات رسیده است.

قارچ های میکوریزا می توانند اثرات منفی ناشی از سمیت فلزات سنگین را از طریق افزایش جذب عناصر غذایی (به ویژه فسفر) و توسعه رشد گیاه (Andrade et al., 2008)، جای گذاری فلزات سنگین در داخل میسلیم برون ریشه ای (Janouskova and Pavlíkova, 2010) و یا اتصال آنها را به گلومالین تولید شده توسط قارچ های میکوریزا (آقا بابایی و همکاران، ۱۳۹۲) تعدیل نمایند. به علاوه، این قارچ ها بر جذب و میزان تجمع کادمیم در اندام های مختلف گیاهی تأثیرگذار می باشند. هرچند اثرات آنها ممکن است بسته به غلظت کادمیم موجود در خاک، نوع گونه گیاهی و قارچ همزیست متفاوت باشد (Neagoe et al., 2013). تحقیقات نشان داده است که همزیستی میکوریزیایی می تواند باعث کاهش (Hu et al., 2014) و یا افزایش (Andrade et al., 2008) غلظت فلزات سنگین در اندام هوایی گیاهان شود. علاوه بر این، همزیستی میکوریزیایی قادر به تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاهان در خاک های آلوده به فلز سمی می باشد. این تغییرات نیز بسته به نوع گونه گیاهی، گونه قارچ میکوریزا و فلز آلوده کننده به شکل کاهش (Meier et al., 2011) و یا افزایش (Subramanian et al., 2011) در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گزارش شده است.

وجود منابع مختلف آلودگی های صنعتی، کشاورزی و

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

| بافت     | شدن | سید | رس | ماده آلی (OC) | ازت کل (N <sub>t</sub> ) | مواد خنثی کننده (T.N.V.) | فسفر قابل دسترس (P <sub>ava</sub> ) | پتاسیم قابل دسترس (K <sub>ava</sub> ) | کادمیم قابل دسترس (Cd <sub>ava</sub> ) | هدایت الکتریکی (EC)   | اسیدیته (pH) |
|----------|-----|-----|----|---------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--|-----------------------|--------------|
| شنی لومی | ۷۳  | ۱۲  | ۱۵ | ۰/۵۹          | ۰/۰۶                     | ۱۵                       | ۱۰                                  | ۱۴۹                                   | <۰/۰۱                                  | ۰/۷۲                  | ۷/۷          |
|          |     |     |    | درصد (%)      |                          |                          | (mgkg <sup>-1</sup> )               |                                       |  | (dS m <sup>-1</sup> ) |              |

سانتی گراد و رطوبت ظرفیت مزرعه خوابانده شدند. سطوح بذور آفتابگردان و گلرنگ برای ۵ دقیقه با NaClO ۰.۵٪ استریل و با آب مقطر شستشو گردید و بذور روی کاغذ صافی مرطوب در ظروف پتری جوانه دار شدند.

جهت تلقیح بذور و خاک واحد های آزمایشی از ماده تلقیح قارچ میکوریزا گونه *Glomus intraradices* (شامل مخلوطی از خاک، ریشه، اسپور و سایر اندامک های تکثیری قارچ) استفاده شد. بدین منظور مقدار ۲۰ کیلوگرم از خاک استریل را در داخل سینی های نشاء ریخته و به ازای هر کیلو گرم خاک، مقدار ۳۰ گرم از ماده تلقیح را در عمق یک سانتی متری سطح خاک مخلوط گردید. جهت حصول یکنواختی، همین مقدار از ماده تلقیح استریل شده قارچ، به سینی های شاهد اضافه شد. بذور پیش جوانه دار شده به عمق یک سانتی سطح خاک در سینی های نشاء کشت و آبیاری شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، تعداد ۱۰ گیاهچه آفتابگردان و گلرنگ از سینی نشاء به هر گلدان انتقال داده شد. پس از اطمینان از آغستگی میکوریزایی کافی، تعداد ۵ عدد گیاهچه یکدست آفتابگردان و گلرنگ در هر گلدان نگهداری و بقیه حذف شدند. نمونه های تازه برگ از برگ های جوان سوم و چهارم در مرحله رشد رویشی (۴۵ روز پس از کاشت) از هر گلدان تهیه و پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن با کاغذ صافی، در نیتروژن مایع (در دمای C<sup>o</sup> -۸۰) برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی نگهداری شدند. پس از ۳ ماه بخش های هوایی گیاهان از ناحیه طوقه برداشت و توزین شدند. خاک محتوی ریشه در روی الک بصورت ملایم با آب مقطر شستشو و ریشه ها پس از گرفتن آب اضافی توزین شدند.

### اندازه گیری غلظت کادمیم، فعالیت آنزیم های آنتی

اکسیدانت: ریشه ها و اندام های هوایی گیاهان به مدت ۳ ساعت در آون در دمای C<sup>o</sup> ۱۰۵ خشک گردیدند و بافت های خشک شده توزین و پس از هضم کردن در اسید، نمونه ها برای تعیین غلظت کادمیم بر مبنای روش Frank (۱۹۷۶) مورد استفاده قرار گرفتند. برای تهیه عصاره آنتی اکسیدان های محلول در آب مقدار ۵۰۰ میلی گرم برگ فریز شده با نیتروژن مایع، پودر و هموژنه گردید و با ۶ میلی لیتر عصاره بافر (mM Tris-HCl 0.05 M (pH 7.0), ۱ mM EDTA, ۳ MgCl<sub>2</sub>) مخلوط و با دور ۱۴۰۰۰ برای ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ گردید (Chang and Koa, 1988). فعالیت SOD با استفاده از روش تغییر یافته Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) و فعالیت کاتالاز با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه گیری گردید.

### طرح آزمایش و محاسبات آماری: در این تحقیق، دو

آزمایش جداگانه در دو گیاه آفتابگردان و گلرنگ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه اجرا شد. در هر کدام از این آزمایش ها، دو سطح تلقیح (تلقیح با قارچ میکوریزا و عدم تلقیح) به عنوان فاکتور اول و سطوح مختلف کادمیم (۰، ۲/۵، ۵ و ۲۵ میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک) به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. انتخاب سطوح تیمار کادمیم در این مطالعه با در نظر گرفتن میانگین غلظت کادمیم در خاک های زراعی آلوده و سطوح تنش زای کادمیم در گیاهان مدل آفتابگردان و گلرنگ بر مبنای مطالعات سایر محققین (Samani Majd et al., 2006; Shi et al., 2010) تعیین و اعمال گردید. عمل تصادفی کردن واحد های آزمایشی با استفاده از نرم افزار SAS و برنامه Plan انجام گردید. آنالیز

مشابهی در مورد نقش قارچ میکوریزا بر ارتقاء گیاه تثبیتی کادمیم (Phytostabilisation) توسط آفتابگردان در حضور قارچ *G. intraradices* و *G. mosseae* (Aghababaei and Hassan et al., 2015) و *Funneliformis mosseae* (Raiesi, 2015) و بهبود گیاه جذبی (Phytoextraction) کادمیم اندام هوایی آفتابگردان در تلقیح با قارچ *Rhizophagus irregularis* (Hassan et al., 2013) و *G. intraradices* (Andrade et al., 2008) گزارش شده است.

**فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان:** اثر تیمار کادمیم و تلقیح میکوریزا بر فعالیت آنزیم های SOD و CAT در آفتابگردان و گلرنگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). در سطوح ۲/۵، ۵ و ۲۵ میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک، فعالیت آنزیم های SOD و CAT در آفتابگردان و SOD در گلرنگ در مقایسه با خاک غیر آلوده افزایش ولی فعالیت آنزیم CAT در گلرنگ کاهش یافت. این مقادیر افزایشی در آفتابگردان برای SOD به ترتیب برابر ۲۸، ۶۵ و ۸۸، برای CAT برابر ۱۸، ۴۲ و ۶۴، و در گلرنگ برای SOD به ترتیب ۳۵، ۸۰ و ۱۰۶ و مقادیر کاهش برای CAT، ۷، ۱۵ و ۲۷ درصد بود. (شکل ۲). این نتایج نشان می دهد که با افزایش غلظت کادمیم در خاک، توأم با کاهش تدریجی رشد و تولید زیست توده گیاهی در اثر تنش و خسارت اکسیداتیو، فعالیت SOD در آفتابگردان و گلرنگ افزایش یافت. با این حال، فعالیت CAT در آفتابگردان افزایش و در گلرنگ کاهش یافت.

نتایج مشابهی توسط محققین دیگر بر روی آفتابگردان (Andrade et al., 2008; Neagoe et al., 2013; Aghababaei and Raiesi, 2015) و گلرنگ (Shi et al., 2010; Namjooyan et al., 2012) گزارش شده است. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان تحت سطوح سمی کادمیم به عنوان شاخص تحمل بهتر گیاهان به تنش و سمیت این فلز سنگین می باشد (Hall, 2002; Aghababaei and Raiesi, 2015). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در این مطالعه نشان می دهد که گیاهانی با ظرفیت آنتی اکسیدانتی بالاتر می توانند تحمل بیشتری به سمیت کادمیم داشته باشند. با این حال، تغییر

های آماری شامل تجزیه واریانس، مقایسه میانگین ها و بررسی روند تغییرات با استفاده از نرم افزار SAS، آزمون LSD و رسم نمودارها با نرم افزار EXCEL و آزمون های آماری رگرسیون (trend analysis) با استفاده از نرم افزار table curve دو بعدی صورت گرفت.

## نتایج و بحث

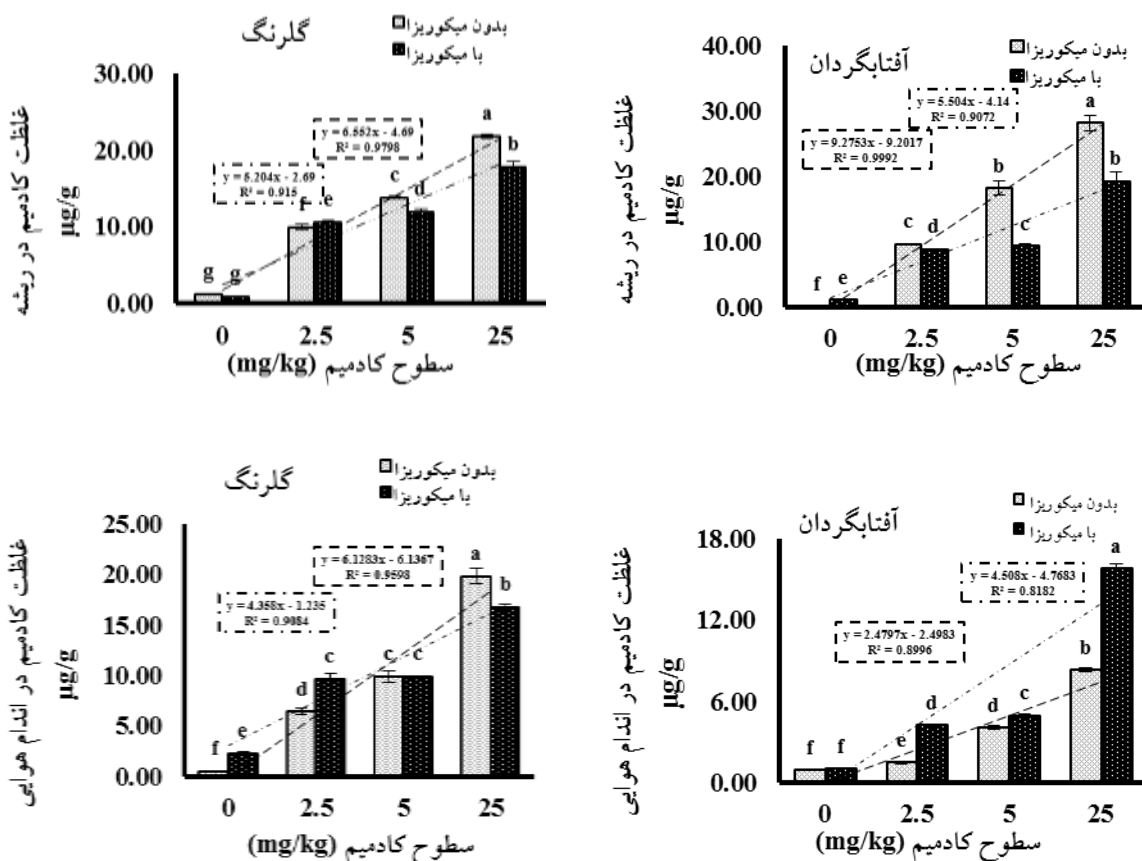
**غلظت کادمیم در ریشه و اندام هوایی:** اثر تیمار کادمیم، تلقیح با میکوریزا و برهمکنش کادمیم و میکوریزا بر غلظت کادمیم ریشه و اثر کادمیم و برهمکنش دو فاکتور بر غلظت کادمیم اندام هوایی آفتابگردان و گلرنگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار ولی اثر میکوریزا بر غلظت کادمیم اندام هوایی از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۲). با افزایش سطح کادمیم از ۲/۵ به ۵ و ۲۵ میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک، صرف نظر از تیمار تلقیح با میکوریزا، غلظت کادمیم در ریشه آفتابگردان به ترتیب ۴۹ و ۱۵۷، اندام هوایی آفتابگردان ۷۲ و ۱۱۶، ریشه گلرنگ ۲۴ و ۹۱ و اندام هوایی گلرنگ ۲۳ و ۱۲۷ درصد افزایش یافت (شکل ۱). در نتایجی مشابه با مطالعه اخیر، با افزایش سطوح کادمیم و سرب در خاک، غلظت این عناصر سمی در اندام های گیاهی آفتابگردان به طور معنی داری افزایش یافت (Motasharehzadeh et al., 2010). با این حال، مطالعات نشان داده است که غلظت کادمیم در گیاهان تحت تنش کادمیم، علاوه بر غلظت کادمیم خاک به نوع رقم و مدت مواجهه گیاه با تنش نیز بستگی دارد (Shi et al., 2010).

در اثر تلقیح با قارچ میکوریزا صرف نظر از سطح کادمیم، غلظت کادمیم در ریشه گیاهان تلقیح شده آفتابگردان و گلرنگ در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به ترتیب ۳۱ و ۱۲ درصد کاهش ولی در اندام هوایی آنها به ترتیب ۶۸ و ۶ درصد افزایش یافت (شکل ۱). مطالعه حاضر نشان می دهد که تلقیح قارچ میکوریزا در کاهش جذب کادمیم از خاک و تجمع آن در ریشه آفتابگردان و گلرنگ و افزایش انتقال و تجمع کادمیم در اندام هوایی آفتابگردان نقش داشته ولی تأثیر قابل ملاحظه ای بر تجمع کادمیم در اندام هوایی گلرنگ نداشته است. نتایج

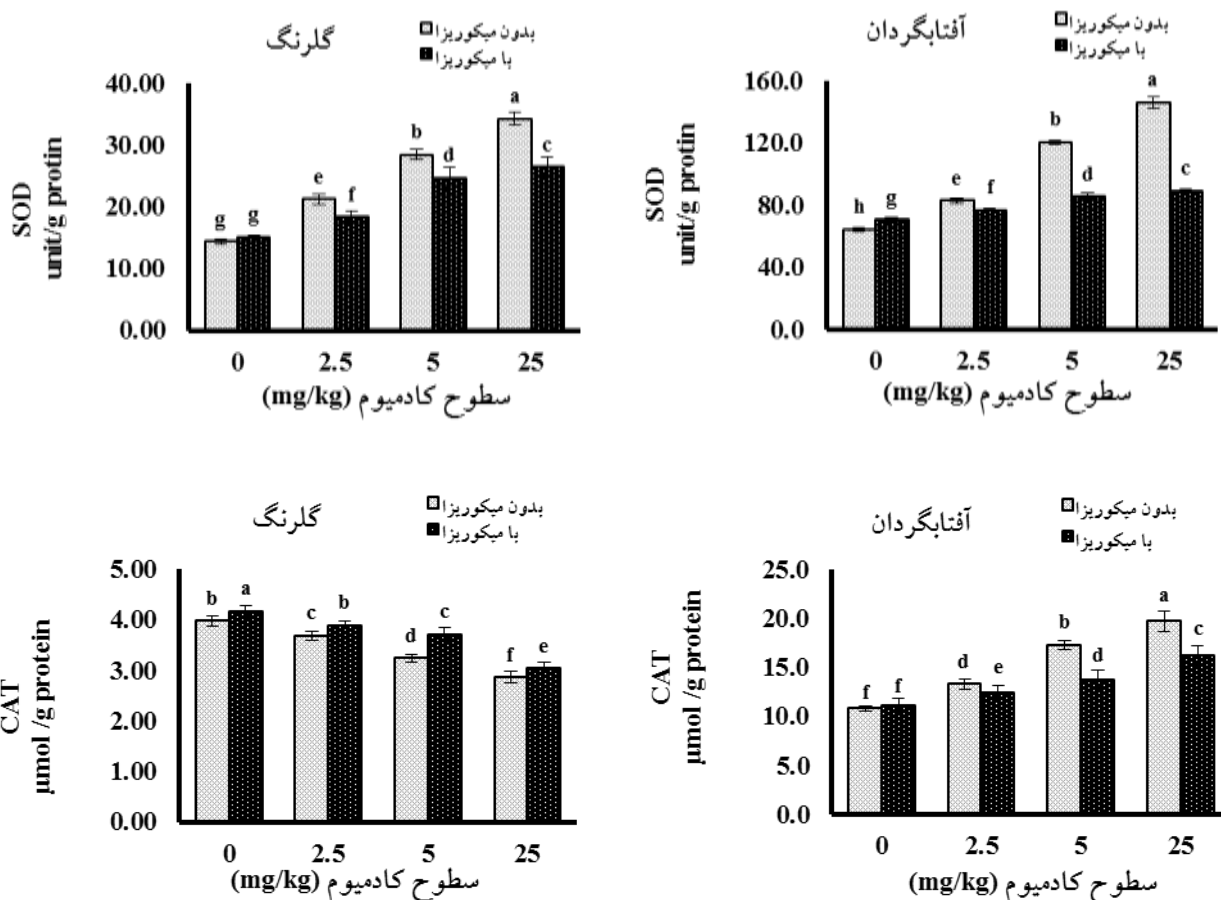
جدول ۲- سطح معنی دار اثر عوامل آزمایشی کادمیم و تلقیح با قارچ میکوریزا بر صفات کمی و کیفی آفتابگردان و گلرنگ در تجزیه واریانس دو طرفه (ANOVA)

| متغیر               | آفتابگردان |                |                  | گلرنگ    |                |                  |
|---------------------|------------|----------------|------------------|----------|----------------|------------------|
|                     | مقادیر F   |                | ضریب تغییرات (%) | مقادیر F |                | ضریب تغییرات (%) |
|                     | کادمیم     | تلقیح میکوریزا |                  | کادمیم   | تلقیح میکوریزا |                  |
| درجه آزادی          | ۳          | ۱              | ۳                | ۱        | ۳              | ۳                |
| وزن خشک ریشه        | ۳۹/۱۴ **   | ۱۹/۵۸ **       | ۰/۷۵ *           | ۱/۵۴     | ۰/۹۳ *         | ۰/۰۶ ns          |
| وزن خشک شاخساره     | ۱۱۵/۴۶ **  | ۱۰۵۱/۱۶ **     | ۹/۴۵ **          | ۲/۵۹     | ۱۸/۴۳ **       | ۲/۶۶ **          |
| غلظت کادمیم ریشه    | ۵۵۶/۲۸ **  | ۱۱۴/۴۱ **      | ۴۱/۲۰ **         | ۱۱/۱۸    | ۳۶۰/۹ **       | ۶/۱۴ **          |
| غلظت کادمیم شاخساره | ۷۴/۳۷ **   | ۱۸/۰۴ **       | ۱۲۴/۰۰ **        | ۵/۶۱     | ۲۸۹/۲ **       | ۱/۳۶ ns          |
| فعالیت SOD          | ۳۰۶۲/۶ **  | ۳۱۳۴/۲۵ **     | ۱۲۱۳/۵ **        | ۳/۵۸     | ۲۸۹/۸ **       | ۱۸/۰۸ *          |
| فعالیت CAT          | ۵۶/۷۰ **   | ۲۱/۰۰ **       | ۵/۵۳ *           | ۸/۸۷     | ۱/۳۸ **        | ۰/۰۳ ns          |

\* و \*\*: به ترتیب نشانگر اختلاف معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشند و ns: نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است.



شکل ۱- تاثیر تلقیح میکوریزا بر غلظت کادمیم در ریشه و اندام هوایی آفتابگردان و گلرنگ در سطوح مختلف تیمار کادمیم. در هر یک از نمودارهای بالا میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.



شکل ۲- تاثیر قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در برگ آفتابگردان و گلرنگ در سطوح تیمار کادمیم. در هر یک از نمودارهای بالا میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

(Aghababaei and Raiesi, 2015). همچنین، فعالیت SOD در ریشه ها و اندام های هوایی ذرت تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* در خاک های آلوده به آرسنیک کاهش یافت (Yu et al., 2009). هرچند برخی از مطالعات نتایج مغایری را گزارش کرده اند (Azcon et al., 2009; Tan et al., 2015). برای مثال Tan و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که تحت تنش کادمیم، فعالیت CAT در گونه *Solanum photeinocarpum* تلقیح شده با قارچ *Glomus versiforme* در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزایی بیشتر بود ولی فعالیت SOD تحت تأثیر همزیستی میکوریزایی قرار نگرفت. بنابراین می توان نتیجه گرفت که آغشتگی میکوریزایی می تواند در کاهش تولید و تجمع گونه های فعال اکسیژن مؤثر باشد و بدون صرف انرژی

فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تحت تنش کادمیم می تواند بسته به نوع گونه گیاهی، غلظت کادمیم خاک و نوع آنزیم آنتی اکسیدان متفاوت باشد (Rehman et al. 2017).

در اثر تلقیح با قارچ میکوریزا فعالیت آنزیم های SOD و CAT در آفتابگردان و SOD در گلرنگ کاهش ولی فعالیت آنزیم CAT در گلرنگ افزایش یافت. مقادیر کاهش در آفتابگردان به ترتیب ۲۲ و ۱۲ و در گلرنگ ۱۴ درصد و مقدار افزایشی در گلرنگ ۷ درصد بود (شکل ۲). نتایج مشابهی توسط سایر محققین (Azcon et al., 2009; Meier et al., 2011) گزارش شده است گرچه، کاهش غلظت کادمیم در اندام هوایی دلیل فعالیت کمتر آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاهان میکوریزایی آفتابگردان و ذرت عنوان شده است

گلرنگ کاهش یافت. این مقادیر کاهش برای وزن خشک ریشه آفتابگردان به ترتیب برابر ۸، ۱۷ و ۳۵، برای وزن خشک اندام هوایی آفتابگردان ۱۳، ۳۱ و ۵۱، برای وزن خشک ریشه گلرنگ ۳، ۱۲ و ۳۷ و برای وزن خشک اندام هوایی گلرنگ ۲۷، ۳۷ و ۴۸ درصد بود (شکل ۳). نتایج مشابهی توسط محققین دیگر برای آفتابگردان (Zou *et al.*, 2008; Shi and Cai, 2015) و گلرنگ (Aghababaei and Raiesi, 2015) گزارش شده است. (Soyad *et al.*, 2010; 2009)

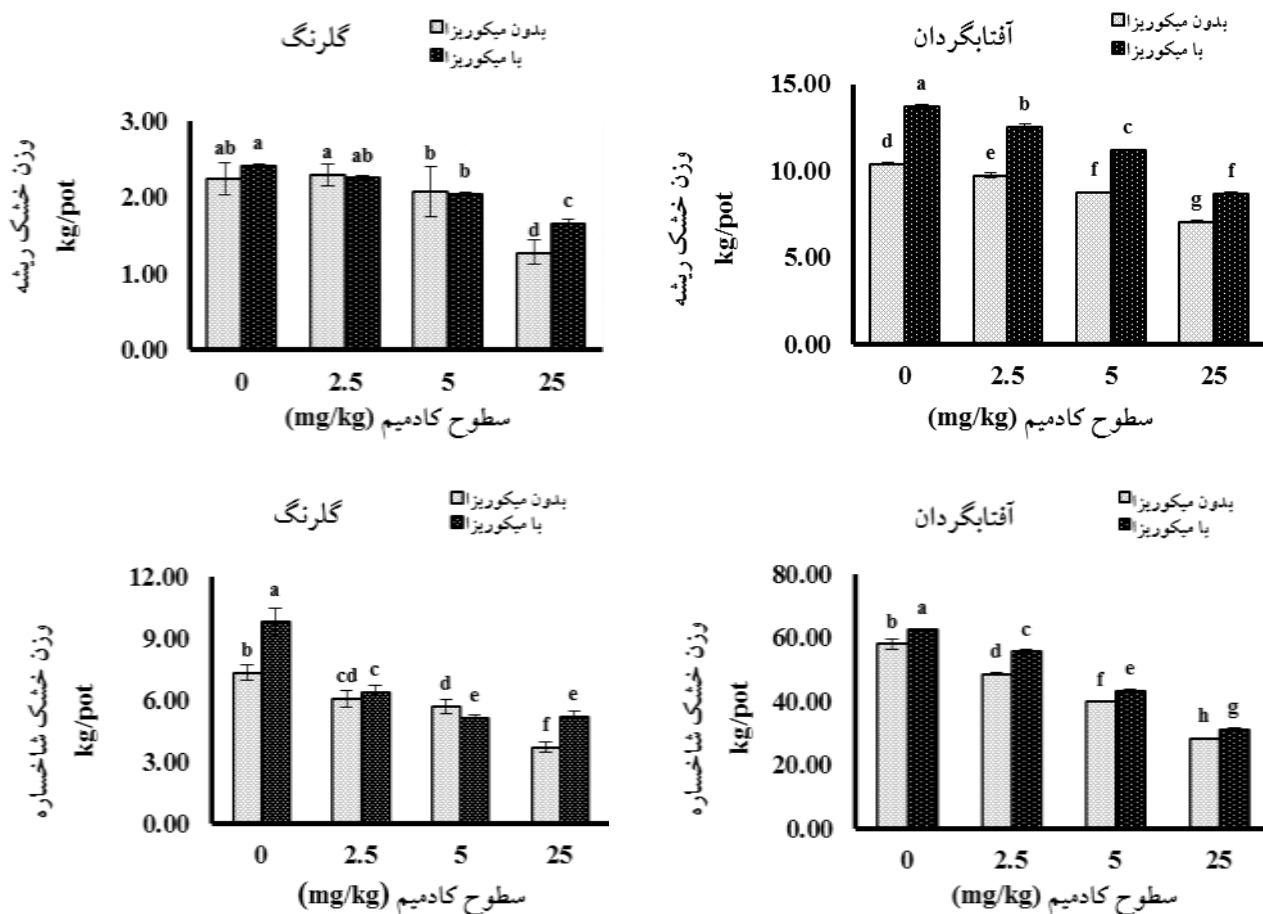
بر اساس نتایج مطالعه حاضر، اندام هوایی هر دو گیاه آفتابگردان و گلرنگ در مقایسه با ریشه به نسبت بیشتری تحت تاثیر اثرات منفی کادمیم قرار گرفته است. در حالی که Sewalem و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که اثر کادمیم بر بازداری ریشه های آفتابگردان بیشتر از اندام هوایی و در مورد سرب برعکس بود. نتایج آزمون رگرسیون نیز نشان داد که افزایش غلظت کادمیم خاک سبب کاهش رشد و نمو و تولید ماده خشک ریشه و اندام هوایی آفتابگردان و گلرنگ می شود (شکل ۳).

در اثر تلقیح ریشه گیاهان با قارچ میکوریزا، وزن خشک ریشه و اندام هوایی آفتابگردان و اندام هوایی گلرنگ در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به ترتیب ۲۸ و ۱۰ و ۱۶ درصد افزایش یافت (شکل ۳). این نتایج نشان داد که در کلیه سطوح تیمار کادمیم، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان میکوریزایی آفتابگردان بیشتر از انواع غیرمیکوریزایی بود. در حالی که، تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزا بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گلرنگ فقط در سطوح تیمار شاهد و ۲۵ میلی گرم کادمیم قابل ملاحظه بود (شکل ۳). نتایج مشابهی توسط سایر محققین برای آفتابگردان (Hassan *et al.*, 2013) و ذرت (Aghababaei and Raiesi, 2015) تحت تنش کادمیم گزارش شده است. هرچند پاسخ های رشد گیاه به همزیستی میکوریزایی تحت تنش کادمیم بسته به نوع گونه گیاهی و قارچ میکوریزا می تواند مثبت (Smith and Read, 2008; Aghababaei and Raiesi, 2015) خنثی (Liu *et al.*, 2011) یا منفی (Citterio *et al.*, 2005) باشد.

اضافی برای تولید این آنزیم ها از تنش و خسارت اکسیداتیو جلوگیری نماید. از طرفی، پاسخ فعالیت آنزیم CAT به همزیستی میکوریزایی در آفتابگردان و گلرنگ متضاد بود. به طوری که آغستگی میکوریزایی باعث کاهش فعالیت آنزیم CAT در برگ های گلرنگ و افزایش آن در آفتابگردان گردید. افزایش فعالیت آنزیم CAT در حضور قارچ میکوریزا نیز می تواند در راستای محافظت گیاه گلرنگ از سمیت کادمیم باشد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که همزیستی میکوریزایی ممکن است بسته به نوع گونه گیاهی و قارچ همزیست، غلظت کادمیم خاک و نوع آنزیم آنتی اکسیدان در بهبود سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در گیاهان تحت تنش فلزهای سنگین نقش متفاوتی ایفاء نماید.

تأثیر برهمکنش کادمیم و میکوریزا بر فعالیت آنزیم SOD در آفتابگردان در سطح احتمال ۱ درصد و بر فعالیت CAT در آفتابگردان و SOD در گلرنگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار ولی بر فعالیت CAT در گلرنگ از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۲). در سطوح ۲/۵، ۵ و ۲۵ میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در مقایسه با شاهد، در گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی فعالیت آنزیم های SOD و CAT در آفتابگردان و SOD در گلرنگ افزایش ولی فعالیت آنزیم CAT در گلرنگ کاهش یافت. مقایسه میانگین های برهمکنش کادمیم و میکوریزا و نتایج آزمون رگرسیون نشان داد که شیب افزایش فعالیت این آنزیم ها در گیاهان غیرمیکوریزایی بیشتر از گیاهان میکوریزایی بود.

**وزن زیست توده اندام هوایی گیاه:** اثر تیمار کادمیم، تلقیح با میکوریزا و برهمکنش آنها بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی آفتابگردان و وزن خشک اندام هوایی گلرنگ در سطح احتمال ۱ درصد و اثر تیمار کادمیم بر وزن خشک ریشه گلرنگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود. ولی، اثر میکوریزا و برهمکنش کادمیم و میکوریزا بر وزن خشک ریشه گلرنگ از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۲). در سطوح تیمار ۲/۵، ۵ و ۲۵ میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در مقایسه با شاهد وزن خشک ریشه و اندام هوایی آفتابگردان و



شکل ۳- تاثیر کادمیم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان آفتابگردان و گلرنگ تلقیح شده و نشده با میکوریزا. در هر یک از نمودارهای بالا میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

#### نتیجه‌گیری

آفتابگردان افزایش یافت. فعالیت SOD در گیاهان میکوریزایی آفتابگردان و گلرنگ از گیاهان غیرمیکوریزایی کمتر بود. ولی تلقیح با میکوریزا فعالیت CAT را در آفتابگردان کاهش و در گلرنگ افزایش داد. نتایج آزمایش نشان داد که همزیستی میکوریزایی می‌تواند به عنوان راهبردی مؤثر در افزایش تحمل آفتابگردان و گلرنگ به سمیت کادمیم و بهبود گیاه جذبی آفتابگردان در مناطق آلوده به کادمیم مورد توجه قرار گیرد. با این حال، تحقیقات بیشتری برای درک مفاهیم مدیریت تحمل فلزی و مکانیسم‌های حاکم بر بیش‌اندوزی فلز سنگین از طریق مطالعات مقایسه‌ای فیزیولوژیکی، ژنتیکی و پروتئومیکی مورد نیاز است.

در مطالعه حاضر، اثرات تلقیح قارچ میکوریزا گونه *Glomus intraradices* بر تجمع کادمیم و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رشد گیاهان آفتابگردان و گلرنگ در شرایط تنش کادمیم مورد تحقیق قرار گرفت. در این تحقیق میکوریزا به خوبی با آفتابگردان و گلرنگ ارتباط همزیستی برقرار کرد و بطور معنی‌داری میزان تجمع کادمیم و شرایط رشدی این گیاهان را تحت تأثیر قرار داد. در سطوح پائین کادمیم تلقیح با قارچ میکوریزا تأثیر معنی‌داری بر غلظت کادمیم در ریشه این گیاهان نداشت. در حالی که تحت غلظت بالای کادمیم در خاک غلظت کادمیم در اندام هوایی گلرنگ کاهش ولی در



## منابع

- آقابابایی، ف.، رئیسی، ف. و حسین پور، ع. (۱۳۹۲) اثر کرم خاکی و قارچ میکوریزا بر زیست توده میکروبی و فعالیت آنزیمی در خاک های آلوده شده به کادمیم در کشت آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.). نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۷: ۹۶۲-۹۴۹.
- مرادی، ل. و احسان زاده، پ. (۱۳۹۳) اثر کادمیم بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در ژنوتیپ های مختلف گلرنگ تحت شرایط آبکشت. علوم و فنون کشت های گلخانه ای. سال پنجم، شماره هجدهم.
- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology* 105: 121-126
- Aghababaei, F. and Raiesi, F. (2015) Mycorrhizal fungi and earthworms reduce antioxidant enzyme activities in maize and sunflower plants grown in Cd-polluted soils. *Soil Biology and Biochemistry* 86: 87-97.
- Amini, M., Khademi, H., Afyuni, M. and Abbaspour, K. C. (2005) Variability of available cadmium in relation to soil properties and land use in an arid region in central Iran. *Water, Air and Soil Pollution* 162: 205-218.
- Andrade, S. A. L., Silveira, A. P. D., Jorge, R. A., and de Abreu, M. F. (2008) Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *International Journal of Phytoremediation* 10: 1-13.
- Azcon, R., Peralvarez, M. D., Biro, B., Roldan, A. and Ruíz-Lozano, J. M. (2009) Antioxidant activities and metal acquisition in mycorrhizal plants growing in a heavy-metal multicontaminated soil amended with treated lignocellulosic agrowaste. *Applied Soil Ecology* 41: 168-177.
- Chang, C. J. and Koa, C. H., (1988) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism during senescence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness, *Journal of Plant Growth Regulation* 25: 11-15.
- Citterio, S., Prato, N., Fumagalli, P., Aina, R., Massa, N. and Santagostino, A. (2005) The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* induces growth and metal accumulation changes in *Cannabis sativa* L. *Chemosphere* 59: 21-9.
- Dhindsa, R. A., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. A. (1981) Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 126: 93-101.
- Frank, A. (1976) Automated wet ashing and multi-metal determination in biological materials by atomic absorption spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 279: 101-102.
- Ghani, A. & Wahid, A. (2007) Varietal difference for cadmium induced seedling mortality and foliar-toxicity symptoms in mung bean (*Vigna radiata*). *International Journal of Agriculture and Biology* 9: 555-558.
- Gill, S. G. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology & Biochemistry* 48: 909-930.
- Hall, J. L. (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53: 1-11.
- Hassan, S. E., Hijri, M. and St-Arnaud, M. (2013) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on trace metal uptake by sunflower plants grown on cadmium contaminated soil. *New Biotechnology* 30: 780-787.
- Hu, J., Wang, H., Wu, F., Wu, S., Cao, Z., Lin, X. and Wong, M. H. (2014) Arbuscular mycorrhizal fungi influence the accumulation and partitioning of Cd and P in bashfulgrass (*Mimosa pudica* L.) grown on a moderately Cd-contaminated soil. *Applied Soil Ecology* 73: 51-57.
- Janouskova, M. and Pavlíkova, D. (2010) Cadmium immobilization in the rhizosphere of arbuscular mycorrhizal plants by the fungal extraradical mycelium. *Plant and Soil* 332: 511-520.
- Liu, L. Z., Gong, Z. Q., Zhang, Y. L. and Li, P. J. (2011) Growth, cadmium accumulation and physiology of marigold (*Tagetes erecta* L.) as affected by arbuscular mycorrhizal fungi. *Pedosphere* 21: 319-327.
- Rehman, M. Z., Rizwan, M., Alib, S., Ok, Y. S., Ishaque, W., Saifullah, N. M. F. Akmal, F. & Waqar, M. (2017) Remediation of heavy metal contaminated soils by using *Solanum nigrum*: A Review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 143: 236-248.
- Meier, S., Borie, F., Curaqueo, G., Bolan, N. and Cornejo, P. (2011) Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on metallophyte and agricultural plants growing at increasing Cd level. *Applied Soil Ecology* 61: 280-286.
- Motesharezadeh, B., Savaghebi-Firoozabadi, G. R., Mirseyed Hosseini, H. and Alikhani, H. A. (2010) Study of the enhanced phytoextraction of cadmium in a calcareous soil. *International Journal of Environmental Research* 4: 525-532.
- Namjooyan, S., Khavari-nejad, F., Bernard, F., Namdiuyan, S. and Piri, H. (2012) The effect of cadmium on growth and antioxidant responses in the safflower (*Carthamus tinctorius* L.) callus. *Turkish Journal of Agriculture & Forestry* 36: 145-152.

- Neagoe, A., Lordache, V., Bergmann, H. and Kothe, E. (2013) Patterns of effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plants grown in contaminated soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 176: 273-286.
- Pourghasemian, N., P. Ehsanzadeh and M. Greger. (2013) Genotypical variation in safflower (*Carthamus spp.*) cadmium accumulation and tolerance affected by temperature and cadmium levels. *Environmental and Experimental Botany* 87: 218-226.
- Samani Majd, S., Taebi, A. and Afyuni, M. (2006) Lead and cadmium distribution in urbanroadside soils of Isfahan, Iran. *In: Proceedings of the 7th International Congress on Civil Engineering*, Tehran, Iran.
- Sayyad, G., Afyuni, M., Mousavi, S. F., Abbaspour, K. C., Richards, B. K. and Schulin, R. (2010) Transport of Cd, Cu, Pb, and Zn in calcareous soil under wheat and safflower cultivation a column study. *Geoderma* 154: 311-320.
- Schützendübel, A. and Polle, A. (2002) Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany* 53: 1351-1365.
- Sewalem, N., Elfeky, S. and El-Shintinawy, F. (2014) Phytoremediation of lead and cadmium contaminated soils using sunflower plant. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 10: 122-134.
- Shi, G., and Cai, Q. (2009) Cadmium tolerance and accumulation in eight potential energy crops. *Biotechnology Advances* 27: 555-561.
- Shi, G., Liu, C., Cai, O., Liu, O. and Hou, C. (2010) Cadmium accumulation and tolerance of two safflower cultivars in relation to photosynthesis and antioxidative enzymes. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology* 85: 256-263.
- Sheoran, V., Sheoran, A. S. and Navari-Izzo, F. (2016) Factors affecting phytoextraction: A review. *Pedosphere* 26(2): 148-166.
- Smith, S. E. and Read, D. J. (2008) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press, London, UK.
- Subramanian, K. S., Tenshia, J. S. V., Jayalakshmi, K. and Ramachandran, V. (2011) Antioxidant enzyme activities in arbuscular mycorrhizal (*Glomus intraradices*) fungus inoculated and non-inoculated maize plants under zinc deficiency. *Indian Journal of Microbiology* 51: 37-43.
- Tan, S. Y., Jiang, Q., Zhuo, F., Liu, H., Wang, Y. T., Li, S. S., Ye, Z. H. and Jing, Y. X. (2015) Effect of inoculation with *Glomus versiforme* on cadmium accumulation, antioxidant activities and phytochelatin of *Solanum photeinocarpum*. *PLoS ONE* 10: 1-16.
- Wahid, A., Arshad, M. and Farooq, M. (2010) Cadmium phytotoxicity: responses, mechanisms and mitigation strategies: a review. In *organic farming, pest control and remediation of soil pollutants*, Eds, Eric Lichtfouse, Pp. 371-403. Springer. The netherlands.
- Yu, Y., Zhang, S., Huang, H., Luo, L. and Wen, B. (2009) Arsenic accumulation and speciation in maize as affected by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57:3695-3701.
- Zou, J., Xu, P., Lu, X., Jiang, W. and Liu, D. (2008) Accumulation of cadmium in three sunflower (*Helianthus annus L.*) cultivars. *Pakistan Journal of Botany* 40:759-765.

## Effect of mycorrhizal fungus on growth and physiological parameters of sunflower and safflower under Cd stress.

Ramin Rostami<sup>1</sup>, Mashallah Daneshvar<sup>1\*</sup>, Ahmad Esmaili<sup>1</sup>, Morteza Zahedi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University,

<sup>2</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Isfahan University of technology.

(Received: 11/10/2017, Accepted: 06/02/2018)

### Abstract

A greenhouse experiment with potted plants was conducted to study the effect of arbuscular mycorrhiza (*Glomus intraradices*) fungal inoculation on the growth, cadmium concentration and The activates of antioxidant enzymes (Superoxide Dismutase (SOD) and Catalase (CAT)) in sunflower and safflower in four levels of Cd (0, 2.5, 5 and 25 mg Cd kg<sup>-1</sup> soil). Treatment were arranged in the experiment factorial in a completely randomized design with three replications. In this study, exposure to Cd decreased the root and shoot dry weight of both plants and CAT activity in safflower but increased root and shoot concentrations, SOD activity in both plants and the activity of CAT only in sunflower. Inoculation of both plants with AM fungi significantly increased root and shoot dry weights, shoot Cd concentration in sunflower shoot and CAT activity in safflower as compared to non-mycorrhizal plants. However, inoculation decreased Cd concentration in root and SOD activity in both plants and CAT activity only in sunflower. The results showed that mycorrhizal inoculation by increasing biomass production and changing the activity of antioxidant enzymes increased the tolerance of both sunflower and safflower the tolerance of these plants against cadmium toxicity and improve the phytoextraction in sunflower in contaminated soils.

**Keywords:** Cadmium, Mycorrhizal fungus, Antioxidant enzymes.

\*Corresponding author, Email: daneshvarm48@yahoo.com