نشریه دانش آب و خاک / جلد ۳۲ شماره ۱ صفحه‌های ۸۵ تا ۱۰۲/ سال ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

تأثیر قارچ میکوریزا روی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گندم (Triticum aestivume L.) در خاک‌های آلوده به آرسنیک

حسین صفرزاده[۱]، حمیدرضا توحیدی مقدم[۲]*، فرشاد قوشچی[۳]

تاریخ دریافت:۱۳۹۸/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۰

۱-دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، تهران

۲-استادیار، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، تهران

۳-دانشیار، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، تهران

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: tohidi_moghadam@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی نقش قارچ میکوریزا در کاهش خسارت آرسنیک، آزمایشی در ورامین به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح آرسنیک (صفر، ٤٠، ٨٠ و ١٢٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و دو سطح میکوریز شامل (بدون کاربرد قارچ میکوریزا و کاربرد قارچ میکوریزا) در ۳ تکرار بر روی گیاه گندم(*Triticum aestivume* L.) رقم SW در سال ۱۳۹۷ انجام شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که برهمکنش کاربرد آرسنیک و قارچ میکوریزا در تمامی صفات مورد بررسی معنی‌دار گردید. افزایش غلظت آرسنیک سبب کاهش شاخص سطح برگ، کلروفیل کل، وزن هزار دانه و وزن خشک هر بوته گردید در حالی‌که سبب افزایش محتوای پرولین برگ، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در اندام هوایی گیاه شد. کاربرد قارچ میکوریزا در سطوح مختلف آرسنیک سبب کاهش صدمات ناشی از آن شد به‌طوری‌که منجر به افزایش اجزاء عملکرد و کاهش محتوای پرولین، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در اندام هوایی گیاه گردید. بیشترین میزان کلنیزاسیون ریشه (٧٢/١ درصد) شاخص سطح برگ (٦/٨٨)، کلروفیل کل (١/٨٩ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، وزن هزار دانه (٤٢/٣ گرم) و وزن خشک تک بوته (٣١/٥ گرم) در تیمار بدون آرسنیک و کاربرد قارچ میکوریزا و بیشترین میزان آرسنیک اندام هوایی (٦/٧ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) مالون‌دی‌آلدئید (١٣/٧٧ میکرومول بر گرم وزن تازه)، پرولین (٤/٠٦ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ) سوپراکسیددیسموتاز ، کاتالاز و پراکسیداز به ترتیب با ٥١٠/٢، ١٨٢/٢ و ١٤/١٨ واحد فعالیت، در تیمار بالاترین سطح آرسنیک و تیمار بدون قارچ مشاهده شد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، کاربرد قارچ میکوریزا می‌تواند باعث کاهش اثرات مخرب تنش آرسنیک شود و همزیستی با گیاه گندم منجر به افزایش اجزاء عملکرد گندم و غلظت فسفر در اندام هوایی گیاه شد.

واژه‌های کلیدی: آرسنیک، اجزاء عملکرد، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، گندم، عناصر سنگین

The Effect of Mycorrhizal Fungus on Physiological and Biochemical Properties of Wheat (Triticum aestivume L.) in Arsenic Contaminated Soils

Hoseein Safarzadeh[1], Hamid Reza Tohidi-Moghadam[2*], Farshad Ghooshchi[3]

Received: 2020-02-14 Accepted: 2021-02-28

1-Graduated MSC. student, Agronomy Dept., Isalamic Azad University, Pishva-Varamin Branch, Tehran
2-Assist. Prof., Agronomy Dept., Isalamic Azad University, Pishva-Varamin Branch, Tehran
3-Assoc. Prof., Agronomy Dept, Isalamic Azad University, Pishva-Varamin Branch, Tehran
*Corresponding Author Email: tohidi_moghadam@yahoo.com

Abstract

In order to study the effect of mycorrhizal fungus application to reduced adverse effects of arsenic on wheat, a greenhouse experiment was conducted in Varamin, Tehran, Iran in a completely randomized design with three replications in 2018. The treatments included four levels of arsenic (0, 40, 80 and 120 mg kg^{-1} of soil) and two levels mycorrhiza fungus application (with and with out mycorrhiza fungus application). The results showed that intraction effect of arsenic and fungal treatment was significant for all experimental traits. The increasing in arsenic levels caused a significant decreased in leaf area index, chlorophyll content, grain weight and total dry weight per plant, whereas, proline content, superoxide dismutase and catalase enzyme activity were increased. Also the results showed that mycorrhiza fungus application reduced adverse effects of arsenic and led to increas in yield components and decreased proline content and antioxidant activity in leaves. The highest root colonization (72.1 %), leaf area index (6.88), total chlorophyll content (1.89 mg g^{-1} FW), thousand grain weight (42.3 g) and total dry weight per plant (31.5 g) were achieved in without arsenic + fungal application. The highest shoot arsenic content (6.7 mg g^{-1} DW) malondialdehyde (13.77 µmol.g FW^{-1}), prolin (4.06 mg.g^{-1} FW), superoxide dismutase, catalase and peroxidase enzyme activity (510.2, 182.2 and 14.18 unit activity,) were observed in 120 mg kg arsenic without fungal treatment. Based on results of the present study mycorrhiza fungus application reduces the harmful effects of arsenic stress and symbiosis with wheat plant results in higher yield components of wheat and concentration of phosphorus in plant shoot.

Keywords: Arsenic, Antioxidant activity, Component yield, Heavy metals, Wheat

مقدمه

در دهه گذشته ورود آلاینده‌ها با منشاء انسانی مانند فلزات سنگین به محیط‌زیست، به مقدار زیادی افزایش یافته است که این به عنوان یک خطر جدی برای حیات زمین به شمار می‌رود. ورود این آلاینده‌ها به ویژه ورود فاضلاب‌ها به خاک باعث انباشته شدن بیش از حد فلزات سنگین مانند سرب، کادمیوم، روی، مس و نیکل در خاک می‌گردد (بانو و اشفق ۲۰۱۳). فلزات سنگین از منابع آلاینده محیط زیست از جمله خاک می‌باشند که در صورت تجمع در خاک و جذب به وسیله گیاه به زنجیره‌های غذایی وارد می‌شوند و مسمومیت‌هایی را در گیاهان و یا افراد تغذیه کننده از آنها ایجاد می‌کنند (توحیدی مقدم ۲۰۱۷). این فلزات به لحاظ طبیعت غیرقابل تجزیه، سمیت شدید، قابلیت تجمع و سرطان‌زائی، نه تنها حیات موجودات آبزی را به مخاطره می‌اندازد بلکه آب‌های پذیرنده را جهت مصارف گوناگون از جمله آشامیدن نامطلوب می‌سازند (شی و همکاران ۲۰۱۹). میزان جذب و تجمع آرسنیک در گیاهان به شرایط خاک و میزان سایر عناصر غذایی مرتبط است (ونگ و

همکاران ۲۰۰٦). گندم یکی از محصولات مهم کشاورزی در مناطق آلوده به آرسنیک ایران در که استان‌های کردستان (بیجار و قروه) و آذربایجان غربی و شرقی شهرستان (هشترود) می‌باشد که بیشترین سطح زیر کشت (حدود ۹۰ درصد) محصولات زراعی این مناطق را به خود اختصاص داده است (خسروی و پرداختی، ۲۰۱۸). به دلیل نقش بسیار مهم گندم در تغذیه انسان، بررسی نحوه جذب، انتقال و تجمع آرسنیک در بخش‌های مختلف این گیاه بسیار مهم است (مهدیه و همکاران ۲۰۱۲). زدودن فلزات سنگین از خاک های آلوده با روش‌های سنتی فیزیکی و شیمیایی ناکارآمد و بسیار هزینه‌بر است. بنابراین تلاش‌هایی برای ایجاد فن‌آوری‌های مؤثر و ارزان برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین انجام شده است (گاد ۲۰۰٤). همزیستی بین گیاهان و میکوریز یکی از وسیع‌ترین همزیستی‌های دو طرفه بین گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک است. همزیستی این قارچ‌ها با گیاهان منجر به بهبود جذب مواد غذایی از جمله فسفر، نیتروژن و ریزمغذی‌ها می‌گردد (جوادی ۲۰۰۹). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نه تنها برای جذب مواد غذایی به میزبان کمک می‌کند بلکه تحمل گیاه به فاکتورهای محیطی غیرزیستی نظیر تنش فلزات سنگین را بهبود می‌بخشند (جهرومی و همکاران ۲۰۰۸). این قارچ‌ها از طریق اتصال فلز سنگین به کیتین دیواره سلول (هیلدبرندت و همکاران ۲۰۰۷) و ترشح گلومالین (گنزالس-چاوز و همکاران ۲۰۰۸) غلظت فلز سنگین را در آن محل کاهش می‌دهند و از طریق همزیستی با گیاهان، انباشت فلزات سنگین را کاهش می‌دهند (آزکون و همکاران ۲۰۱۳). بنابراین مطالعه اثر فلزات سنگین بر گیاهان از یک طرف برای شناسایی گیاهان مقاوم و استفاده از آن‌ها در پاکسازی خاک‌های آلوده و از طرف دیگر به منظور ایجاد ژنوتیپ‌های مقاوم ضروری به نظر می‌رسد. به همین منظور در این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف آرسنیک بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گندم مورد بررسی قرار گرفته است.

آشکارترین علائم سمیت آرسنیک شامل ممانعت رشد، کلروز، نکروز و پژمردگی می‌باشد. علت آن این است که در سطح سلولی غلظت‌های بالای آرسنیک تولید اکسیژن‌های فعالی (ROS) مانند O^{2-} و H_2O_2 را تحریک می‌کند (گاژسکا و سکودوسکا ۲۰۰۷) و با پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء تنش اکسیداتیو را القا می‌کنند (سعیدی-سار و همکاران ۲۰۰۷). همچنین آرسنیک با فعال نمودن آنزیم لیپوکسی ژناز (LOX) نیز می‌تواند موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشای گردد (عظیمی و همکاران ۲۰۱٦). زدودن شبه‌فلز از خاک‌های آلوده با روش‌های سنتی فیزیکی و شیمیایی، ناکارآمد و بسیار هزینه‌بر است. بنابراین تلاش‌های برای ایجاد فن‌آوری‌های مؤثر و ارزان برای پالایش خاک‌های آلوده به شبه فلزات سنگین انجام شده است (گاد ۲۰۰٤). همزیستی بین گیاهان و قارچ میکوریزا یکی از وسیع‌ترین همزیستی‌های دو طرف بین گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک است. بنابراین مطالعه اثر فلزات سنگین بر گیاهان از یک طرف برای شناسایی گیاهان مقاوم و استفاده از آن‌ها در پاکسازی خاک‌های آلوده و از طرف دیگر به منظور ایجاد ژنوتیپ‌های مقاوم ضروری به نظر می‌رسد. به همین منظور در این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف آرسنیک بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گندم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در فروردین سال ۹۷ در گلخانه‌ای در شهر ورامین (واقع در ٤۰ کیلومتری جنوب شرقی تهران) انجام شد. این طرح به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایهٔ کاملا تصادفی در ۸ تیمار شامل ۲ عامل، عامل اول: آرسنیک در چهار سطح که شامل صفر میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (شاهد)، ٤۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، ۸۰

میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و عامل دوم قارچ میکوریز *Rhizophagus. intraradices* (*Glomus intraradices*) در دو سطح عدم استفاده از قارچ و استفاده از قارچ. مقادیر ٤٠ و ٨٠ و ١٢٠ میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک (مهدیه و همکاران ۱۳۹۱) از منبع سدیم آرسنات ($Na_2HAsO_47H_2O$) در رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) به خاک مورد نظر اضافه و به طور متناوب هم زده شدند و سه چرخهٔ مرطوب کردن (تا رطوبت ظرفیت زراعی) و خشک کردن (تا رطوبت هوا خشک) جهت اختلاط کامل آرسنیک با خاک اعمال شد. پس از آلوده کردن خاک با تیمارهای مختلف فلز سنگین آرسنیک، اقدام به اعمال تیمار تلقیح قارچی شد. به همین منظور در گلدان‌های مربوط به تیمار قارچی قبل از کشت و در زیر بذور، مقدار ۱۰۰ گرم مایه تلقیح قارچی (تهیه از شرکت زیست فناور توران، سمنان) با پتانسیل در حدود ۲۵۰ پروپاگول در سانتیمتر مکعب به صورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی ۲ سانتیمتر اضافه شد. سپس گلدان‌ها به مدت ٤ هفته درشرایط گلخانه‌ای انکوباسیون شدند. سطوح شاهد هر کدام با مقدار ۱۰۰ گرم خاک استریل تیمار شدند. تعداد ۱۰ عدد بذر گندم رقم SW در گلدان‌های ۱۰ کیلویی (با قطر ۵۰ سانتی‌متر) کاشته شد.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده شده در آزمایش.

کلاس بافت	As	Zn	Cu	Mn	Fe	P	K	EC	pH	N
	(mg kg^{-1})							(dS m^{-1})		(%)
لومی-رسی	ناچیز	۰/۵۲	۲/۲	۷/۰۱	۳/۹۸	۸/۷	٥٥٦/٤	۰/٤٧	۷/۱	۰/۰۲

پس از عملیات کاشت و حذف بوته‌های اضافی، آبیاری گلدان‌ها تا انتهای فصل رشد به طور مرتب صورت گرفت. در مرحله سنبله‌دهی اقدام به نمونه‌گیری از گیاهان برای اندازه‌گیری صفت شاخص سطح برگ و صفات فیزیولوژیک نمودیم. از بالاترین برگ بالغ هر گیاه برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک استفاده شد. بدین منظور نمونه‌ها در نیتروژن مایع فریز و تا زمان انجام تجزیه‌های بیوشیمیایی در فریزر ۸۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در انتهای فصل رشد ٥ بوته انتخاب گردید و اندازه‌گیری-های مربوط به منظور تعیین تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه و وزن خشک بوته، در مرحله رسیدگی مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه‌گیری درصد کلنیزاسیون ریشه بعد از رنگ‌آمیزی، با استفاده از روش تقاطع خطوط شبکه[1] اندازه‌گیری شد (جیبووانتی و موس ۱۹۸۰).

برای سنجش مقدار کلروفیل ۰/۲ گرم از نمونه برگی در استون ۸۰ درصد سائیده شد. پس از صاف کردن به وسیله کاغذ صافی، جذب آن‌ها در طول موج‌های ٦٤٦/٨، ٦٦٣/٢٠ و ٤٧٠ نانومتر خوانده شد. جهت صفر کردن دستگاه از استن ۸۰ درصد (محلول بلانک) استفاده شد. نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید (لیچتنتالر ۱۹۸۷).

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشا با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به عنوان فرآوردهٔ نهایی پراکسیداسیون لیپیدی غشاء انجام گرفت. نمونه‌های منجمد شده به میزان ۰/۳ گرم در ۳ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزن به حجم) عصاره‌گیری شد. سپس به ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۱ میلی‌لیتر تیوباربی توریک اسید ۰/۵ درصد (وزن به حجم) اضافه شد

[1] Grindline Intersect Method

و در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. سپس، لوله‌ها از حمام خارج و پس از سرد شدن مالون‌دی‌آلدئید با اندازه گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر و به صورت میکرومول بر گرم وزن تازه بیان گردید (هلث و پکر ۱۹٦۹).

به منظور اندازه‌گیری پرولین برگ، ۰/۲ گرم بافت برگ توزین و در هاون چینی در ۳ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به خوبی سائیده شد. همگن حاصل با ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال اضافه شد. پس از بستن درب لوله‌ها، به مدت ۱ ساعت درحمام آب گرم (^{o}C ۱۰۰) قرار داده شد. پس از سرد شدن لوله‌ها به هر کدام از آن‌ها ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید و با استفاده از دستگاه ورتکس به مدت ۱۵ ثانیه لوله‌ها تکان داده شدند. فاز روئی را که به رنگ قرمز و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود، برداشته و همزمان با نمونه‌های استاندارد در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد (بیتس ۱۹۷۳).

برای عصاره‌گیری و سنجش فعالیت آنزیمی، ۰/۲ گرم از بافت گیاهی تازه منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار، pH= ۷ در دمای ٤-۰ درجه سانتی‌گراد سائیده و عصاره‌گیری شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤-۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از محلول بافر با اسیدیته ۷/۲ انجام گرفت (گیانوپولیتیس و رایس ۱۹۷۷). مخلوط واکنش، شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۲، ال-متیونین ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی می‌باشد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفت و سپس جذب آن‌ها در طول موج ٥٦۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. همچنین از یک لوله‌ی آزمایش حاوی مخلوط واکنش به جز عصاره‌ی آنزیمی بعنوان شاهد (بلانک) استفاده شد. یک واحد فعالیت سوپراکسیددیسموتاز به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که منجر به مهار ۵۰ درصد احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم می‌گردد. فعالیت آنزیمی پراکسیداز با افزودن مقادیر مناسب از عصاره‌ی آنزیمی، بافر، گایاکول با غلظت نهائی ۲۸ میلی‌مولار و پراکسیدهیدروژن با غلظت نهائی ۵ میلی‌مولار در طول موج ٤۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده، و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد (قناتی و همکاران ۲۰۰۲). برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز از عصاره آماده شده در مرحله قبل استفاده شد (ککمک و هورث ۱۹۹۱). مخلوط واکنش شامل عصاره‌ی آنزیمی، بافر پتاسیم فسفات و پراکسیدهیدروژن با غلظت نهائی ۱۰ میلی‌مولار بود. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر پیگیری و به ازای میلی‌گرم پروتئین در عصاره‌ی آنزیمی بیان شد.

غلظت آرسنیک در اندام هوایی به روش مهارگ و جاردین (۲۰۰۳) و با دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی (Shimadzu 6200) در طول موج ۱۹۳/۷ و برای اندازه‌گیری فسفر از روش رنگ سنجی (رنگ زرد مولیبدات وانادات) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Varian 4200) در طول موج ٦٦۰ نانومتر محاسبه شد (بی نام ۱۹۸۰). در این آزمایش، تجزیه‌های آماری اطلاعات جمع آوری شده در

طی آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS انجام گرفت. برای انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

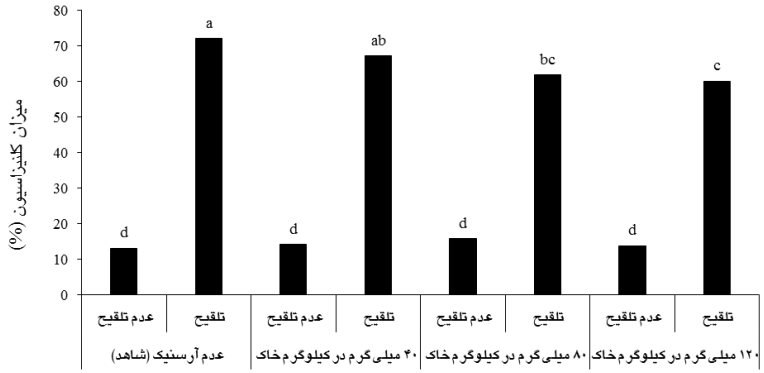
درصد کلنیزاسیون تحت تأثیر اثر اصلی آرسنیک (p<۰/۰۵)، تیمار قارچ (p<۰/۰۱) و اثر متقابل آن‌ها (p<۰/۰۵) قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین میزان کلنیزاسیون در تیمار عدم آرسنیک+تلقیح با میانگین ۷۲/۱ درصد مشاهده شد (شکل ۱). کمترین میزان کلنیزاسیون در همین سطح آرسنیک (شاهد) و عدم تلقیح با میانگین ۱۳/۰۷ درصد بدست آمد. سایر تیمارهای عدم تلقیح در سطوح مختلف آرسنیک، در همین گروه آماری قرار داشتند. تیمارهای ٤٠، ٨٠ و ١٢٠ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک، باعث کاهش ٦/٧، ١٤/١ و ١٦/٧ درصدی کلنیزاسیون نسبت به شرایط عدم آرسنیک شدند (شکل ۱). نتایج سایر محققین حاکی از متغییر بودن میزان کلنیزاسیون در شرایط آلودگی به آرسنیک بود که از آن جمله می‌توان به گزارش کریستوفر و همکاران (۲۰۰۹) مبنی بر عدم تفاوت معنی‌دار در درصد کلنیزاسیون اشاره کرد. همچنین گزارش‌هایی مبنی بر کاهش (گارک و همکاران ۲۰۱۵) و افزایش (ال عاجلی و همکاران ۲۰۰۵) درصد کلنیزاسیون در شرایط سمیت با آرسنیک وجود دارد. این تفاوت در پاسخ گیاه به تیمار تلقیح را می‌توان ناشی از نوع گیاه میزبان، شرایط محیطی و میزان انرژی فراهم شده توسط میزبان و نحوه پاسخ قارچ میکوریز به این فرآورده‌ها دانست. اگر چه در تیمار عدم تلقیح، بین درصد کلنیزاسیون و صفات مورد بررسی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ٤) اما در تیمار تلقیح، درصد کلنیزاسیون با شاخص سطح برگ (r=۰/٦٢**)، کلروفیل کل (r=۰/٧٤**)، وزن هزار دانه (r=۰/٦٤*) و وزن خشک بوته (r=۰/٧٧**) رابطه مستقیم وجود داشت. همچنین در تیمار تلقیح، با افزایش میزان کلنیزاسیون، از میزان آرسنیک اندام هوایی کاسته شد. از نتایج تحقیق حاضر می‌توان اینگونه استنباط کرد که تلقیح قارچ میکوریز موجب بهبود شاخص‌های مهم گیاهی اعم از شاخص سطح برگ و کلروفیل گیاه شده است که در نهایت افزایش عملکرد زیستی و اقتصادی را به همراه داشت.

بیشترین میزان شاخص سطح برگ در تیمار عدم مصرف آرسنیک (کاربرد و عدم کاربرد قارچ) با میانگین ٦/٨٣ و ٦/٨٨ مشاهده شد (جدول ۳). تیمار آرسنیک باعث کاهش معنی‌دار شاخص برگ شد بطوریکه در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک کمترین شاخص سطح برگ با میانگین ٦/٠١ بدست آمد که نسبت به تیمار برتر ۱۲ درصد کاهش نشان داد. در هر سطح از تیمار آرسنیک، کاربرد قارچ میکوریزا موجب افزایش شاخص سطح برگ شد بطوریکه در غلظت‌های ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم، کاربرد قارچ میکوریزا اختلاف معنی‌داری نسبت به عدم کاربرد داشت. در رابطه با تأثیرات منفی فلزات سنگین بر روی رشد گیاهان کاهش سطح برگ در گندم‌های تحت تیمار غلظت ۰/۲ میلی مولار نیکل گزارش شده است (گاژسکا و همکاران ۲۰۰٦). فلزات سنگین بر فرآیندهای همواستازی نظیر جذب آب، انتقال، تعرق و متابولیسم مواد غذایی و جذب نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم (تریپاتی و همکاران ۲۰۱٤) تأثیر می‌گذارند، و از این طریق رشد و بیوماس گیاه را کاهش می‌دهند. افزایش سطح برگ گیاه در تیمار استفاده از میکوریز (در سطوح مختلف آرسنیک) می‌تواند ناشی از تأثیر بیشتر این قارچ در توسعه سطح پشتی نوک ریشه که جایگاه اصلی طویل شدن سلول و جذب عناصر غذایی است و در نهایت افزایش فراهمی آب و عناصر غذایی به منظور افزایش تقسیم سلولی سطح برگ و افزایش آن باشد (نئومن و جورج ۲۰۰۵).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک گندم تحت تاثیر تیمارهای آرسنیک و قارچ میکوریزا.

منابع تغییر	درجه آزادی	میزان کلنیزاسیون	شاخص سطح برگ	کلروفیل کل	مالون‌دی‌آلدئید	پرولین	آرسنیک اندام هوایی	فسفر اندام هوایی	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پراکسیداز	وزن هزار دانه	وزن خشک بوته
آرسنیک	۳	۳۵/۶۳*	۰/۶۳ **	۰/۱۷ **	۲۶/۶۴ **	۷/۸۳ **	۳۲/۶۱ **	۵۹/۵۳ **	۱۷۶۴۰۴/۸ **	۱۴۶۳۶/۳ **	۱۳۷/۳ **	۳۱/۲۰ **	۱۲۸/۹ **
قارچ	۱	۱۵۶۹۶/۹ **	۰/۰۵ **	۰/۰۳ **	۱۵/۹۲*	۱/۴۵ **	۳/۸۶ **	۷/۰۶ **	۸۶۶۸/۹*	۳۲۹۳/۵ **	۶/۵۴ **	۱۸/۰۲ **	۵۴/۴۵ ns
اثر متقابل	۳	۵۷/۵۵ *	۰/۲۸ **	۰/۰۷ **	۱۳/۷۹ **	۳/۶۱ **	۰/۳۱ **	۱/۳۸ **	۷۶۹۴۳/۳ **	۶۸۳۱/۱ **	۶۰/۰۳ **	۱۶/۵۰ **	۶۳/۴۰ **
خطا آزمایشی	۱۶	۱۰/۹۱	۰/۰۰۲۶	۰/۱۰۰	۳/۱۶	۰/۰۴	۰/۰۲۳	۰/۰۴۳	۲۴۴/۹	۵۸/۲۰	۰/۰۴۳	۱/۰۵	۱۲/۴۵
ضریب تغییرات (٪)		۸/۳۱	۴/۸	۲/۰۹	۱۷/۱۳	۷/۹۰	۳/۹۱	۳/۹۰	۴/۵۴	۶/۲۸	۲/۳۸	۲/۶۲	۱۴/۰۷

ns، * و ** به ترتیب بدون اثر معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.



شکل ۱- مقایسه میانگین‌های درصد کلنیزاسیون گیاه گندم تحت تأثیر برهمکنش سطوح آرسنیک و قارچ میکوریزا.

غلظت رنگدانه‌های کلروفیل تحت تأثیر بر همکنش آرسنیک و میکوریزا قرار گرفت (جدول ۲). تیمار آرسنیک موجب کاهش غلظت کلروفیل کل شد بطوریکه بیشترین و کمترین غلظت کلروفیل کل در تیمار عدم مصرف آرسنیک + کاربرد قارچ میکوریزا (۸۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک + عدم مصرف قارچ میکوریزا (۱/٤٥ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد که اختلافی ۲۳ درصدی داشتند. اثر بازدارندگی فلزات سنگین بر بیوسنتز کلروفیل در تحقیقات دیگری نیز توسط محققین گزارش شده است (پاترا و همکاران ۲۰۰٤). نتایج تحقیقات دیر و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که کاهش کلروفیل بافت برگ می‌تواند به دلیل کاهش محتوای آهن، کاهش کارایی آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز کلروفیل و جایگزینی مولکول مرکزی منیزیم توسط فلزات سنگین باشد. فلزات سنگین به علت افزایش تجزیه رنگدانه کلروفیل باعث کاهش در میزان کلروفیل در بافت‌های تیمار شده با فلز می‌شوند (آسیدو ۲۰۱۳). مکانیسم‌های عملکردی اولیه سمیت فلزات سنگین این است که جانشین یون‌های ضروری می‌شوند، مثلاً نیکل جایگزین منیزیم می‌شود (بوید ۲۰۰۷). مطابق با نتایج این پژوهش پندی و شارما (۲۰۰۲) نشان دادند که غلظت‌های بالای نیکل، کادمیوم و کبالت منجر به کاهش قابل توجه در غلظت کلروفیل a و bدر گیاه کلم شده است. در شرایط سمیت آرسنیک، محتوای بالای کلروفیل در برگ گیاهان تلقیح شده با میکوریز به سبب بهبود تغذیه گیاه میزبان به خصوص فسفر و نیتروژن نسبت داده می‌شود. نتایج تحقیقات پریرا و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که 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. از دلایل دیگر این امر می‌توان به نکته اشاره کرد که قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار جذب فعال بیش از حد فلزات سنگین را از طریق ریشه‌ها کاهش می‌دهند درصورتی‌که جذب فعال سایر عناصر مثل نیتروژن و فسفر را حفظ می کند (نئومن و جورج ۲۰۰۵).

جدول ۳- مقایسه میانگین دوگانه صفات مورد بررسی تحت تاثیر اثر متقابل آرسنیک و قارچ میکوریزا

آرسنیک	قارچ میکوریزا	شاخص سطح برگ	کلروفیل کل (mg g^{-1} FW)	مالون‌دی‌آلدئید (µm g^{-1} FW)	پرولین (mg g^{-1} FW)	فسفر اندام هوایی (%)	وزن هزار دانه (g)	وزن خشک تک بوته (g)
عدم آرسنیک	عدم تلقیح	٦/٨٣ a	١/٨٥ a	٩/٤٥ bcd	١/٢٠ e	٠/٣٥ a	٤١/٤ ab	٢٩/٣ a
(شاهد)	تلقیح	٦/٨٨ a	١/٨٩ a	٧/٢٩ d	١/١٠ e	٠/٣٨ a	٤٢/٣ a	٣١/٥ a
٤٠ میلی‌گرم در	عدم تلقیح	٦/٤٧ bc	١/٧٦ b	٨/٨١ bcd	٢/٨٣ c	٠/٣٧ a	٣٩/٦ bcd	٢٥/٠ ab
کیلوگرم خاک	تلقیح	٦/٥٥ b	١/٨٦ a	٨/٤٦ cd	٢/٠٦ d	٠/٤٠ a	٤٠/٧ abc	٢٨/٠ ab
٨٠ میلی‌گرم در	عدم تلقیح	٦/٣١ d	١/٦٧ c	١١/٧٦ abc	٣/٤٦ b	٠/٣٣ b	٣٧/١ e	٢٢/٥ bc
کیلوگرم خاک	تلقیح	٦/٤٢ c	١/٧٦ b	١٠/٠٧ bcd	٢/٨٦ c	٠/٢٤ b	٣٩/١ cd	٢٥/٣ ab
١٢٠ میلی‌گرم در	عدم تلقیح	٦/٠١ f	١/٤٥ e	١٣/٧٧ a	٤/٠٦ a	٠/٢٥ b	٣٥/٢ f	١٧/٣ c
کیلوگرم خاک	تلقیح	٦/١٤ e	١/٥٢ d	١٢/٤٥ ab	٣/٥٦ b	٠/٢٧ b	٣٨/١ de	٢١/٣ bc

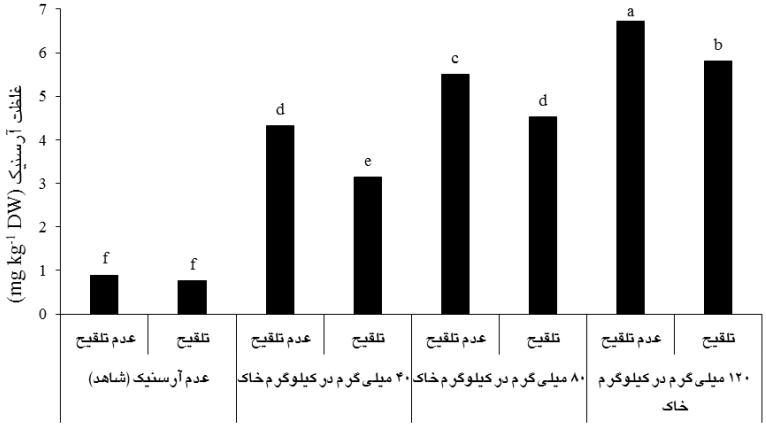
در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ٥ درصد می‌باشند.

غلظت مالون‌دی‌آلدئید (به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا) تحت تأثیر بر همکنش آرسنیک و قارچ میکوریزا قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک و عدم تلقیح (۱۳/۷۷ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد، اگرچه تفاوت معنی‌داری با تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک + کاربرد قارچ میکوریزا نداشت (جدول ۳). کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمار عدم مصرف آرسنیک و تیمارهای تلقیح و عدم تلقیح مشاهده شد. رادیکال‌های آزاد منجر به صدمه دیدن لیپیدها می‌شود. پایداری غشاء سلولی به طور گسترده‌ای به منظور نشان دادن میزان مقاومت استفاده می‌شود و پایداری بالای غشاء سلولی با مقاومت آن‌ها به تنش‌های غیرزیستی همبستگی دارد. بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در شرایط کاربرد آرسنیک، به دلیل خسارت دیدن غشاء سلولی از غلظت بالای عناصر سنگین است. بعضی گزارشات نشان می‌دهند که قارچ میکوریزا با جذب و انباشت فلزات سنگین در هیف و همین‌طور آربوسکولار خود باعث کاهش جذب فلزات سنگین توسط گیاه می‌گردد (بوید ۲۰۰۷). که به این وسیله از جذب و خسارت دیدن گیاه جلوگیری می‌شود. در واقع قارچ مانند فیلتری مانع وارد شدن فلزات سنگین مانند آرسنیک به سلول‌های گیاه می‌شود و بدینوسیله باعث کاهش آسیب گیاهان در اثر فلزات سمی می‌گردند.

غلظت پرولین برگ نیز تحت تأثیر برهمکنش دو تیمار اعمال شده قرار گرفت (جدول ۲) و با اعمال تنش آرسنیک افزایش یافت. بیشترین غلظت پرولین برگ در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک و عدم کاربرد قارچ میکوریزا مشاهده شد اگرچه در همین سطح آرسنیک، کاربرد قارچ موجب کاهش پرولین برگ شد (جدول ۳). تجمع پرولین موجب کاهش آسیب به غشاء و پروتئین‌ها می‌گردد. پرولین از طرق فرایندهای شیمیایی و فیزیکی سبب کاهش آسیب‌های تنش اکسیداتیو یون‌های هیدروکسیل و سوپراکسید می‌گردد (کشاورز و همکاران ۲۰۱٦). در پژوهش حاضر مشاهده گردید که گیاه گندم به منظور دفاع در برابر تنش حاصل از فلز سنگین آرسنیک، میزان پرولین را افزایش داد (اوله ۲۰۱٦). در این پژوهش استفاده از قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش آرسنیک، باعث کاهش غلظت پرولین شد که علت آن می‌تواند افزایش حجم ریشه از طریق افزایش میسلیوم‌ها و هیف‌ها در گیاهان تیمار شده با قارچ میکوریزا باشد که به سبب توسعه ریشه، افزایش سطح تماس ریشه با خاک و در نهایت افزایش جذب آب می‌گردد (نئومن و جورج ۲۰۰۵). از اینرو با کاهش سطح تنش سبب کاهش محتوای پرولین برگ‌ها می‌گردد.

میزان آرسنیک اندام هوایی تحت تأثیر اثرات اصلی تیمارهای اعمال شده و برهمکنش آن‌ها قرار گرفت (جدول ۲). کمترین میزان آرسنیک اندام هوایی در تیمار عدم آرسنیک مشاهده شد (شکل ۲). هر دو تیمار تلقیح و عدم تلقیح در یک گروه آماری قرار داشتند. با افزایش غلظت آرسنیک تیمار شده، میزان آرسنیک اندام هوایی نیز افزوده شد به نحوی که بیشترین غلظت آرسنیک اندام هوایی در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک + عدم تلقیح با میانگین ٦/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک مشاهده شد. در هر سه سطح تیمار ٤۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک، تلقیح قارچ به ترتیب باعث کاهش ۲۷، ۱۷/٦ و ٥/۸ درصدی غلظت آرسنیک اندام هوایی شد. از دلایل این امر می‌توان به افزایش زیست توده گیاه و رقیق شدن غلظت آرسنیک در اندام هوایی اشاره کرد. در همین راستا، گزارش شده که تیمار کردن گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) با قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده به آرسنیک، موجب افزایش رشد گیاه، کاهش غلظت آرسنیک در برگ‌ها و کاهش صدمات ناشی از آرسنیک شده است (کوزولینو و

همکاران ۲۰۱۰). به دلیل تشابه آرسنات و فسفات معدنی (ژاو و همکاران ۲۰۱۰)، در سطوح بالای آرسنیک، رقابتی بین فسفر و آرسنیک در ورود به سیتوپلاسم سلولی و انجام فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه رخ می‌دهد که در نتیجه جذب فسفر کاهش می‌یابد. با توجه به جدول ٤، رابطه منفی بین فسفر و آرسنیک اندام هوایی در هر دو شرایط عدم تلقیح ($r = -۰/٦٢^{*}$) و تلقیح ($r = -۰/٧٠^{**}$) وجود داشت. از آنجا که فسفر نقش اساسی در تولید و انتقال انرژی دارد، با افزایش سمیت آرسنیک و کاهش جذب فسفر، زیست توده گیاه نیز کاهش می‌یابد.



شکل ۲- مقایسه میانگین‌های غلظت آرسنیک در اندام هوایی گیاه گندم تحت تأثیر برهمکنش سطوح آرسنیک و قارچ میکوریزا.

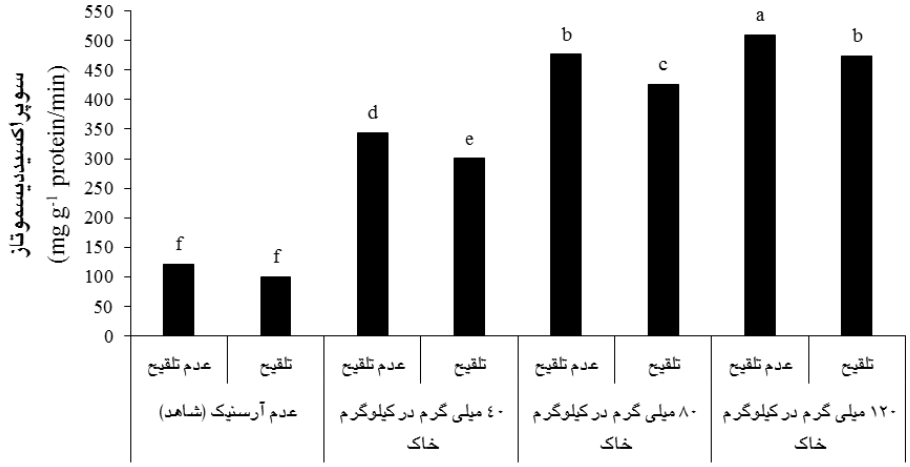
غلظت فسفر اندام هوایی تحت تأثیر بر همکنش دو تیمار آرسنیک و قارچ میکوریزا معنی‌دار بود (جدول ۲) بطوریکه دو تیمار عدم مصرف آرسنیک و مصرف ٤٠ میلی‌گرم آرسنیک (در سطوح مختلف قارچ میکوریزا) دارای بیشترین درصد فسفر در وزن خشک برگ بودند و همگی در گروه برتر قرار داشتند. با افزایش شدت تنش آرسنیک (۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم) غلظت فسفر اندام هوایی به طور معنی‌داری کاهش یافت اگرچه در هر سطح از تیمار آرسنیک، کاربرد قارچ باعث افزایش غلظت فسفر اندام هوایی شد اما این افزایش معنی‌دار نبود (جدول ۳). این نتایج با یافته‌های دیگر محققین مطابقت دارد (آسیدو ۲۰۱۳). با افزایش غلظت آرسنیک، مقدار فسفر در اندام هوایی کاهش یافت ولی این کاهش در گیاهان تلقیح شده با قارچ کمتر بود. تیمار با قارچ میکوریزا باعث جذب فسفر در شرایط غلظت بالای آرسنیک گردید. مکانیسم‌های مختلفی در ارتباط با تأثیر قارچ بر رشد رویشی گیاهان ذکر شده، یکی از مهمترین این مکانیسم‌ها تأثیر قارچ بر جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک است و زمانی که غلظت فلز سنگین در خاک بالا میرود از تحرک فسفر و سرعت انتشار این عنصر در خاک کاسته می‌شود. قارچ‌های میکوریزا قادرند با استفاده از گسترش ریسه‌های خارجی و تغییر مرفولوژی ریشه گیاهان، سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی به ریشه را افزایش دهند (عظیمی و همکاران ۲۰۱٦). همچنین تولید و ترشح آنزیم فسفاتاز توسط ریسه‌های قارچ میکوریزا باعث می‌شود که فسفات غیرمحلول و تثبیت شده در خاک به فرم محلول درآید و برای ریشه قابل جذب گردد (بانو و اشفق ۲۰۱۳).

میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز تحت تأثیر اثر متقابل دو تیمار اعمال شده قرار گرفت (جدول ۲) بطوریکه با افزایش غلظت آرسنیک، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزایش یافت (شکل ۳). اگرچه در هر سطح از تیمار آرسنیک، تیمار قارچ میکوریزا باعث کاهش

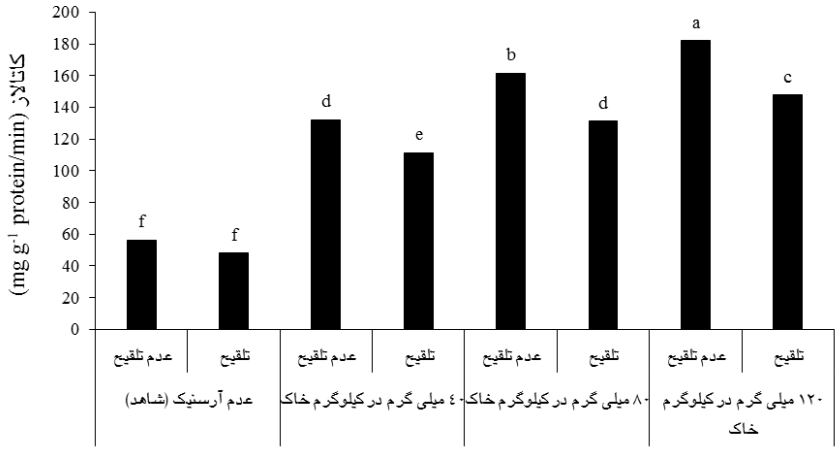
معنی‌دار فعالیت این آنزیم نسبت به عدم مصرف قارچ شد. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیمی در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک + عدم کاربرد قارچ (۵۱۰/۲ میلی‌گرم بر گرم پروتئین وزن تر بر حسب تغییرات جذب در دقیقه) و تیمار عدم مصرف آرسنیک + کاربرد قارچ میکوریزا (۱۰۰/٤ میلی‌گرم بر گرم پروتئین وزن تر بر حسب تغییرات جذب در دقیقه) مشاهده شد. آنزیم سوپراکسیددیسموتاز یک آنزیم کلیدی برای محافظت سلول در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌باشد که سبب تسریع در تبدیل O_2^- به H_2O_2 و O_2 می‌شود. تحقیقات حاصل از پژوهش پارلاک (۲۰۱٦) نشان داد که افزایش غلظت نیکل سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گیاهچه‌های گندم گردید. در این پژوهش استفاده از قارچ در سطوح مختلف آرسمنیک سبب کاهش فعالیت آنزیمی شد که علت آن را می‌توان به توسعه حجم ریشه و افزایش فراهمی آب نسبت داد (نئومن و جورج ۲۰۰۵). از اینرو با کاهش سطح تنش، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن نیز کاهش می‌یابد و بالطبع فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز برگ‌ها نیز کاهش می‌یابد. نتایج مشابهی قبلاً توسط سایر محققین گزارش شده است (اوله ۲۰۱٦).

فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز تحت تأثیر دو تیمار اعمال شده قرار گرفت (جدول ۲) بطوریکه بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک + عدم کاربرد قارچ میکوریزا با میانگین ۱۸۲/۲ میلی‌گرم بر گرم پروتئین وزن تر بر حسب تغییرات جذب در دقیقه مشاهده شد (شکل ٤). کمترین میزان فعالیت نیز در تیمار عدم مصرف آرسنیک + کاربرد قارچ میکوریزا مشاهده شد اگرچه با تیمار عدم کاربرد قارچ میکوریزا تفاوت آماری نداشت (شکل ٤). فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اثر متقابل دو تیمار آرسنیک و قارچ میکوریزا معنی‌دار شد (جدول ۲) بطوریکه با افزایش غلظت آرسنیک خاک، فعالیت این آنزیم نیز افزایش پیدا کرد (شکل ۵). اگرچه در هر سطح از تیمار آرسنیک، کاربرد قارچ میکوریزا موجب کاهش فعالیت این آنزیم شد. بیشترین فعالیت آنزیمی پراکسیداز در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم و عدم کاربرد قارچ میکوریزا مشاهده شد (جدول ۵). سایر پژوهشگران نیز افزایش فعالیت آنزیم آنتی-اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز تحت تنش فلزات سنگین از قبیل کادمیوم، جیوه، نیکل و سرب را نیز قبلاً گزارش کرده اند (آزکون و همکاران ۲۰۱۳). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌تواند ناشی از این واقعیت باشد که این آنزیم‌ها در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی گیاهان در شرایط تنش اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین مشارکت دارد (توحیدی مقدم ۲۰۱۷). کاتالاز و پراکسیداز آنزیم‌های مهم دیگری هستند که در شرایط تنش فعال می‌شوند. این آنزیم‌ها قادر به هضم و حذف پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌باشند (خاتون و همکاران ۲۰۰۸). بدین ترتیب که پراکسید هیدروژن (H_2O_2) که محصول سمی حاصل از عملکرد SODاست، توسط این آنزیم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (کشاورز و همکاران ۲۰۱٦). قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار نه تنها برای جذب مواد مغذی به میزبان کمک می‌کنند بلکه تحمل گیاه به فاکتورهای محیطی غیر زیستی را بهبود می‌بخشند (جهرومی و همکاران ۲۰۰۸). این قارچ‌ها از طریق اتصال فلز سنگین به کیتین دیواره سلول (هیلدربرانت و همکاران ۲۰۰۷) و ترشح گلومالین (گنزالس-چاوز و همکاران ۲۰۰٤) غلظت فلز سنگین را در آن محل کاهش می‌دهند و از طریق همزیستی با گیاهان برای انباشت فلزات سنگین در ریشه گیاهان به شکل غیر سمی شرکت می‌کنند (ونگ و همکاران ۲۰۰٦). بنابراین به نظر می‌رسد که قارچ‌های میکوریزا از طریق کاهش جذب فلزات سنگین و در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از جذب فلزات سنگین، سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز می-شود. گیاهان رشد یافته در حضور فلزات سنگین، کاهش

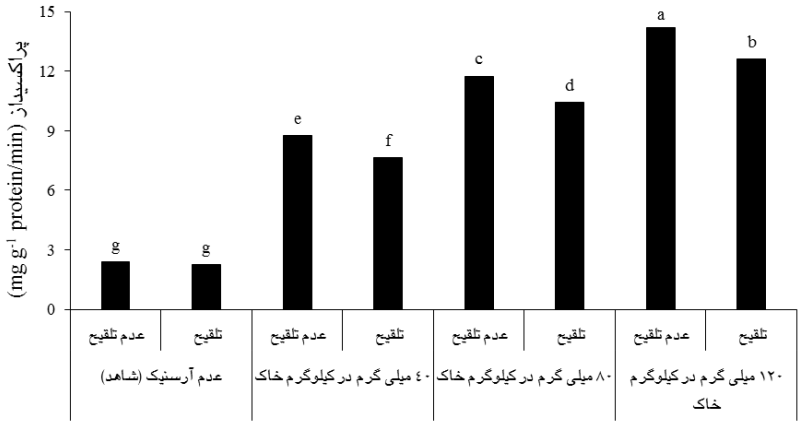
در جذب آب، میزان فتوسنتز، جذب مواد غذایی و وزن دانه-ها را نشان دادند. استفاده از قارچ میکوریزا می‌تواند سبب توسعه مریستم طولی ریشه‌ها گردیده و سبب کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز برگ‌ها گردد.



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گیاه گندم تحت تأثیر برهمکنش سطوح آرسنیک و قارچ میکوریزا.



شکل ۴- مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه گندم تحت تأثیر برهمکنش سطوح آرسنیک و قارچ میکوریزا.



شکل ۵- مقایسه میانگین‌های فعالیت پراکسیداز در گیاه گندم تحت تأثیر برهمکنش سطوح آرسنیک و قارچ میکوریزا.

وزن هزار دانه تحت تأثیر اثر متقابل آرسنیک و قارچ میکوریزا قرار گرفت (جدول ۲) و روند کاهش داشت. اگرچه تا تیمار ٤٠ میلی‌گرم آرسنیک این کاهش در وزن هزار دانه تفاوت آماری چندانی نداشت (جدول ۳). بیشترین وزن هزار دانه در تیمار عدم مصرف آرسنیک + کاربرد قارچ میکوریزا با میانگین ٤٢/٣ گرم مشاهده شد (جدول ۳). کمترین وزن هزار دانه با میانگین ۳۵/۲ گرم در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک + بدون کاربرد قارچ میکوریزا بدست آمد که نسبت به تیمار برتر ١٦ درصد کاهش نشان داد. به نظر می‌رسد که کاهش رشد مریستم انتهایی ریشه و کاهش جذب آب و مواد غذایی در سطوح مختلف آرسنیک و همچنین کاهش ظرفیت دستگاه فتوسنتزی گیاه به دلیل تخریب رنگدانه های فتوسنتزی (گاوسکا و همکاران ٢٠٠٦) و کاهش میزان آسیمیلات تولیدی و انتقال آن به مخزن‌های تولیدی سبب کاهش وزن دانه‌ها گردیده است. قارچ‌های میکوریزا می‌توانند سرعت و میزان فتوسنتز را در گیاه همزیست افزایش دهند. تحت این شرایط با فراهمی آب و عناصر غذایی و افزایش تولید مواد فتوسنتزی سبب افزایش وزن دانه‌های تشکیل شده خواهد گردید. این افزایش احتمالاً در اثر بهبود شرایط تغذیه‌ای و افزایش جذب آب در گیاه میزبان می‌باشد (ونگ و همکاران ٢٠١٦). کاربرد قارچ میکوریزا تحت این شرایط سبب افزایش وزن هزار دانه می‌گردد. به‌طوریکه کمترین وزن هزار دانه مربوط به کاربرد آرسنیک با غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم خاک به دست آمد. کاربرد قارچ میکوریزا تحت این شرایط سبب افزایش معنی‌دار وزن هزار دانه می‌گردد. کاربرد قارچ میکوریزا در سطوح مختلف خاک‌های آلوده به آرسنیک از طریق دور نگه داشتن آرسنیک از گیاه از اثرات سمی آن جلوگیری نموده و با افزایش فراهمی آب و عناصر غذایی و افزایش میزان تولیدات فتوسنتزی برای گیاه سبب افزایش وزن دانه‌های تشکیل شده می‌گردد. تحقیقات سایر محققین در این رابطه نشان داد که قارچ‌های میکوریزا سبب کاهش جذب فلزات سنگین از طریق ریشه‌ها می‌شوند (شی و همکاران ۲۰۱۹).

وزن خشک تک بوته نیز همانند وزن هزار دانه، تحت تأثیر اثر متقابل دو تیمار اعمال شده قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین وزن خشک بوته در تیمار بدون آرسنیک بدست آمد. در این سطح از آرسنیک، بین سطوح قارچ میکوریزا تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). کمترین وزن خشک بوته در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک + عدم کاربرد قارچ میکوریزا با میانگین ۱۷/۳ گرم در بوته مشاهده شد. کاربرد سطوح مختلف آرسنیک سبب کاهش وزن خشک هر

بوته گردید به طوریکه کمترین آن مربوط به سطح کاربرد آرسنیک با غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به دست آمد. احتمالاً محتوای پایین کلروفیل گیاهچه‌های گندم باعث کاهش زیست توده گیاه تحت شرایط تنش ناشی از فلز سنگین آرسنیک گردیده است. نتایج تحقیقات سایر محققین نشان داده است که فلزات سنگین از طریق کاهش میزان کلروفیل در برگ‌ها و کاهش فتوسنتز موجب کاهش رشد و بیوماس گیاهان می‌گردد (پاکدامن و همکاران ۲۰۱۳). فلزات سنگین بر فرآیندهای همواستازی نظیر جذب آب، انتقال، تعرق و متابولیسم مواد غذایی و جذب کلسیم، منیزیم، پتاسیم و فسفر (تریپاتی و همکاران ۲۰۱٤) تأثیر می‌گذارند و از این طریق رشد و بیوماس گیاه را کاهش می‌دهند. بنابراین تحت این شرایط با فراهمی آب و عناصر غذایی و افزایش تولید مواد فتوسنتزی سبب افزایش بیوماس گیاه خواهد گردید. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که فلزات سنگین باعث بروز ناهنجاری‌های کروموزومی شده و در نتیجه باعث کاهش رشد گیاه می‌گردد (قاسمی و همکاران ۲۰۰۹). از دیگر عوامل کاهش رشد ناشی از سمیت عناصر سنگین، کاهش فتوسنتز و تنفس، کاهش متابولیسم کربوهیدرات‌ها و ایجاد کلروز است که به دنبال آن توده زنده نیز کاهش می‌یابد (گاوسکا و همکاران ۲۰۰٦). نتایج تحقیقات نشان داد که قارچ *G. intraradices* بر جذب مواد غذایی گیاه پیاز تأثیر داشته و باعث افزایش رشد گیاه پیاز می شود (گوسوس و محمد ۲۰۰۹). قارچ‌های میکوریزا می‌توانند سرعت و میزان فتوسنتز را در گیاه همزیست افزایش دهند. این افزایش احتمالاً به علت جذب بیشتر عناصر غذایی و آب در گیاه میزبان و در نتیجه بهبود شرایط رشدی گیاه می‌باشد (ونگ و همکاران ۲۰۱٦). دلیل عدم تفاوت معنی‌دار بین سطوح عدم کاربرد و همچنین کاربرد قارچ میکوریزا می‌تواند ناشی از این واقعیت باشد که بخشی از افزایش کربن تثبیت شده حاصل از کاربرد قارچ میکوریزا توسط گیاه صرف تأمین کربن قارچ میکوریزا می‌گردد. بنابراین گیاه میکوریزایی انرژی بیشتری نسبت به شاهد مصرف می‌کند و همین امر بخشی از افزایش کربن ناشی از کاربرد قارچ میکوریزا در گیاهان تلقیح شده را مستهلک می‌سازد.

نتیجه‌گیری کلی

افزایش غلظت آرسنیک در محیط رشد گندم، سبب کاهش شاخص سطح برگ، وزن هزار دانه و وزن خشک اندام هوایی گردید. در رابطه با صفات فیزیولوژیک نیز این افزایش غلظت آرسنیک سبب کاهش کلروفیل کل و فسفر اندام هوایی و افزایش میزان پرولین، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در اندام‌های هوایی گردید. کاربرد قارچ میکوریزا در شرایط اعمال آرسنیک، سبب افزایش اجزاء عملکرد گندم شد که علت آن را می‌توان بهبود شرایط محیطی و گسترش حجم ریشه گیاه و همچنین عدم انتقال آرسنیک از ریشه به اندام هوایی دانست. به همین دلیل، کاربرد قارچ میکوریزا سبب افزایش محتوای کلروفیل کل برگ و کاهش فعالیت‌های آنتی-اکسیدانی در شرایط سمیت عناصر سنگین گردید.

جدول ۴- ضریب همبستگی پیرسون بین صفات مورد بررسی گندم.

		۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
عدم تلقیح	میزان کلنیزاسیون (۱)	۱											
	شاخص سطح برگ (۲)	-۰/۱۸ ns	۱										
	کلروفیل کل (۳)	-۰/۱۳ ns	۰/۹۵ **	۱									
	مالون‌دی‌آلدئید (٤)	۰/۳۷ ns	-۰/۷۰ **	-۰/۷۰ **	۱								
	پرولین (٥)	۰/۲٦ ns	-۰/۹٥ **	-۰/۸۷ **	۰/٥۹ *	۱							
	ارسنیک اندام هوایی (٦)	۰/۱۷ ns	-۰/۹٦ **	-۰/۸٦ **	۰/٦۱ *	۰/۹۷ **	۱						
	فسفر اندام هوایی (۷)	-۰/۰۹ ns	۰/٦۲ *	۰/٦۳ *	۰/٤۳ ns	-۰/٦٤ *	-۰/٦۲ *	۱					
	کاتالاز (۸)	۰/۲۱ ns	-۰/۹٤ **	-۰/۸۳ **	۰/٦۰ *	۰/۹٦ **	۰/۹۹ **	-۰/٦۸ *	۱				
	پراکسیداز (۹)	۰/۲٦ ns	-۰/۹٥ **	-۰/۸٤ **	۰/٦۷ *	۰/۹۷ **	۰/۹۸ **	-۰/٦۱ *	۰/۹۷ **	۱			
	سوپراکسیددیسموتاز (۱۰)	۰/۲۰ ns	-۰/۹۷ **	-۰/۸۸ **	۰/٦٥ *	۰/۹۳ **	۰/۹۹ **	-۰/٦٦ *	۰/۹۸ **	۰/۹۹ **	۱		
	وزن هزار دانه (۱۱)	-۰/۱٦ ns	۰/۸۹ **	۰/۸۳ **	۰/۷٤ **	-۰/۸۷ **	-۰/۸۹ **	۰/٦٥ *	-۰/۸۹ **	۰/۸۸ **	-۰/۹۱ **	۱	
	وزن خشک بوته (۱۲)	۰/۲۰ ns	۰/۷۷ **	۰/۷۷ **	-۰/۱٦ ns	-۰/۷۷ **	-۰/۷۷ **	۰/٦۳ *	-۰/۷٥ **	-۰/٦۸ *	-۰/۷۷ **	۰/٦۷ *	۱
تلقیح	میزان کلنیزاسیون (۱)	۱											
	شاخص سطح برگ (۲)	۰/۸٥ **	۱										
	کلروفیل کل (۳)	۰/۷٤ **	۰/۹۰ **	۱									
	مالون‌دی‌آلدئید (٤)	-۰/٦۳ *	-۰/۸٦ **	-۰/۸۷ **	۱								
	پرولین (٥)	-۰/۸٤ **	-۰/۹٥ **	-۰/۸٦ **	۰/۸۳ **	۱							
	ارسنیک اندام هوایی (٦)	-۰/۸۸ **	-۰/۹۷ **	-۰/۸٥ **	۰/۸۱ **	۰/۹۷ **	۱						
	فسفر اندام هوایی (۷)	۰/۷۲ **	۰/٦۳ *	۰/٦۱ *	-۰/٦٤ *	-۰/۷۰ **	-۰/۷۰ **	۱					
	کاتالاز (۸)	-۰/۸۸ **	-۰/۹٥ **	-۰/۷۷ **	۰/۷۷ **	۰/۹٥ **	۰/۹۹ **	-۰/۷۲ **	۱				
	پراکسیداز (۹)	-۰/۸۹ **	-۰/۹٥ **	-۰/۷٦ **	۰/۸۰ **	۰/۹۲ **	۰/۹٦ **	-۰/٦٤ *	۰/۹۷ **	۱			
	سوپراکسیددیسموتاز (۱۰)	-۰/۸٥ **	-۰/۹٦ **	-۰/۸۱ **	۰/۷۸ **	۰/۹۷ **	۰/۹۹ **	-۰/٦۹ *	۰/۹۹ **	۰/۹۷ **	۱		
	وزن هزار دانه (۱۱)	۰/٦٤ *	۰/۸۳ **	۰/۷۲ **	-۰/۸٥ **	-۰/۸۷ **	-۰/۸٦ **	۰/۷۳ **	-۰/۸٦ **	-۰/۸٤ **	-۰/۸۸ **	۱	
	وزن خشک بوته (۱۲)	۰/۷۷ **	۰/۷٤ **	۰/۷۰ *	-۰/۳۸ ns	-۰/۷۷ **	-۰/۷۹ **	۰/٥۰ ns	-۰/۷٦ **	-۰/٦۹ *	-۰/۷۹ **	۰/٥٦ ns	۱

ns، * و ** به ترتیب بدون اثر معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ٥ و ۱ درصد.

منابع مورد استفاده

Al-Agely A, Sylvia DM and Ma LQ, 2005. Mycorrhizae increase arsenic uptake by the hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.). Journal of Environment Quallity 34: 2181-2186. https://doi.org/10.2134/jeq2004.0411.

Anonymousy, 1980. Soil and Plant Testing, as a Basis of Fertilizer Recommendation. FAO soils bull 38/2:90-100.

Asiedu JB, 2013. Technical report on reclamation of small scale surface mined lands in Ghana: a landscape perspective. American Journal of Environmental Protection 1(2): 28-33.

Azcón R, Ferrol N and Azcón-Aguilar C, 2013. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. Journal of Arid Environments 75: 1292-1301.

Azimi R, Hossein Jafari S, Kianian MK, Khaksarzade V and Amini A, 2016. Studying arbuscular mycorrhiza symbiotic effects on establishment and morphological characteristics of Bromus kopetdaghensis in cadmium contaminated soil. Taiwan Water Conservanc 64(3): 82-91.

Bano SA and Ashfaq D, 2013. Role of mycorrhiza to reduce heavy metal stress. Natural Science 5(12): 16-20.

Bates LS, Waldern RP and Teave ID, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Boyd RS, 2007. The defense hypothesis of elemental hyper accumulation status, challenges and new directions. Plant and Soil 293: 153-176.

Bradford M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annual Review Biochemistry 72: 248-254.

Cakmak I and Horst W, 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max* L.). Plant Phisiology 83: 463-468.

Christophersen HM, Smith FA and Smith SE, 2009. Arbuscular mycorrhizal colonization reduces arsenate uptake in barley via downregulation of transporters in the direct epidermal phosphate uptake pathway. New Phytologist. 184: 962-974. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03009.x

Cozzolino V, Pigna M, Di Meo V, Caporale AG and Violante A, 2010. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphorus supply on the growth of *Lactuca sativa* L. and arsenic and phosphorus availability in an arsenic polluted soil under non-sterile conditions. Appllied Soil Ecology 45: 262-268. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.05.001

Dhir B, Sharmila P, Saradhi PP and Nasim SA, 2009. Physiological and antioxidantresponses of Salvinia natans exposed to chromium-rich wastewater, Ecotox-icology and Environmental Safety 72: 1790-1797.

Gadd GM, 2004. Microbial onfluence on metal mobility and application for bioremediation. Geoderma 122: 109-119.

Gajewska E and Skodowska M, 2007. Relations between tocopherol, chlorophyll and lipid peroxides contents in shoots of Ni-treated wheat. Journal of Plant Physiology 164: 364-366.

Gajewska E, Słaba M, Andrzejewska R and Skłodowska M, 2006. Nickel-induced inhibition of wheat root growth is related to H_2O_2 production, but not to lipid peroxidation. Plant Growth Regulation 49: 95-103.

Garg N, Singla P and Bhandari P, 2015. Metal uptake, oxidative metabolism, and mycorrhization in pigeonpea and pea under arsenic and cadmium stress. Turkey Journal of Agriculture and Foresty 39: 234-250. https://doi.org/10.3906/tar-1406-121.

Ghanati F, Morita A and Yokota H, 2002. Induction of suberin and increase of liginin content by exess boron in tabacco cell. Soil Science and Plant Nutrition 48(3): 357-364.

Ghasemi R, Ghaderian SM and Krämer U, 2009. Interference of nickel with copper and iron homeostasis contributes to metal toxicity symptoms in the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum inflatum*. New Pytologist 184: 566-580.

Giannopolitis C and Ries S, 1977. Superoxid desmutase. I.Occurence in higher plant. Plant Physiology 59: 309-314.

Giovannetti M and Mosse B, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84: 489-500. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x

Gonzalez-Guerrero M, Melville LH, Ferrol N, Lott JN, Azcon-Aguilar C and Peterson RL, 2008. Ultra structural localization of heavy metals in the extra radical 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.

Heath R L and Packer L. 1969. Photoperoxidation in isolated choloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Jahromi F, Aroca R, Porcel R and Ruiz-Lozano JM, 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.

Keshavarz H, Modarres-Sanavy SAM and Sadegh Gol Moghadam R, 2016. Impact of foliar application with Salicylic Acid on Biochemical Characters of Canola Plants under Cold Stress Condition. Notulae Scientia Biologicae 8(1):98-105. https://doi.org/10.15835/nsb.8.1.9766.

Khatun S, Ali MB, Hahn EJ and Paek KY, 2008. Cooper toxicity in withania somnifera: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Environmental and Experimental Botany 64: 279-285.

Khosravi M and Pardakhti A, 2018. Risk assessment of arsenic in some crops, the villages Gilakloo and Ghoojagh of Qorveh county, Kurdistan province. Human and Environment 15 (3): 47-57 (In Persin with English abstract).

Mahdiyeh Sh, Ghaderian SM and N Karimi, 2012. Evaluating the effect of phosphorus on arsenic uptake and accumulation in two cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Plant Production 19(2): 105-122. (In Persian with English abstract)

Meharg AA., and Jardine L, 2003. Arsenite transport into paddy rice (*Oryza sativa*) roots. New New Phytologist 157: 39-44.

Pakdaman N, Ghaderian SM, Ghasemi R and Asemaneh T, 2013. Effects of calcium/magnesium quotients and nickel in the growth medium on growth and nickel accumulation in *Pistacia atlantica*. Journal of Plant Nutrition 36: 1708-1718.

Pandey N and CP Sharma, 2002. Effect of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. Plant Science 163: 753-758.

Parlak KU, 2016. Effect of nickel on growth and biochemical characteristicsof wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences 76: 1-5.

Patra M, Bhowmic N, Bandopadhyay B and A Sharma, 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental and Experimental Botany 52: 199-223.

Pereira E, Coelho V, Tavares RM, Lino-Neto T and Baptista P, 2012. Effect of competitive interactions between ectomycorrhizal and saprotrophic fungi on Castanea sativa performance. Mycorrhiza 22: 41-49.

Saeidi-Sar S, Khavari-Nejad RA, Fahimi H, Ghorbanli M and Majd A, 2007. Interactive effects of Gibberellin A_3 and ascorbic acid on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in *Glycine max* seedlings under nickel stress. Russian Journal of Plant Physiology 54(1): 74-79.

Shi G, Ma H, Chen Y, Liu H, Song G, Cai Q, Lou L and Rengel Z. 2019. Low arsenate influx rate and high phosphorus concentration in wheat (*Triticum aestivum* L.): a mechanism for arsenate tolerance in wheat plants. Chemosphere 214: 94-102

Tohidi Moghadam HR, 2017. Super absorbent polymer mitigates deleterious effects of arsenic in wheat. Rhizosphere. 3(1): 40-43. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.12.003.

Tripathi RD, Tripathi P, Dwivedi S, Kumar A, Mishra A, Chauhan PS, Norton GJ and Nautiyal CS, 2014. Roles for root iron plaque in sequestration and uptake of heavy metals and metalloids in aquatic and wetland plants. Metallomics 6: 1789-1800.

Ullah HA, 2016. Alleviating effect of exogenousm application of ascorbic acid on growth and mineral nutrients in cadmium stressed barley (*Hordeum vulgare*) seedlings. International Journal of Agriculture and Biology 18(1): 73-79.

Wang HY, Wen SL, Chen P, Zhang L, Cen K, and Sun GX, 2016. Mitigation of cadmium and arsenic in rice grain by applying different silicon fertilizers in contaminated fields. Environment Science and Pollution Research 23: 3781-3788.

Wang S, Catherine N and Mulligan CN, 2006. Natural attenuation processes for remediation of arsenic contaminated soils and groundwater. Hazardous Materials 138: 459-470.

Zhao FJ, McGrath SP and Meharg AA, 2010. Arsenic as a food chain contaminant: mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies. Annual Review Plant Biolology 61: 535-559. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112152.