اثر کادمیوم در خاک بر زوال دانهال‌های سرو نقره‌ای و نقش بهبود دهنده قارچ میکوریزا و باکتری محرک رشد

حامد عالی‌پور[۱*]، علی نیکبخت[۱و۲]، نعمت الله‌اعتمادی[۱]، محسن سلیمانی[۳] و فرهاد رجالی[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۱)

چکیده

زوال درختان یک بیماری فیزیولوژیکی پیچیده است که از برهم‌کنش بین عوامل متعددی منشأ می‌گیرد که یکی از عوامل آن تنش فلزات سنگین است و درنهایت منجر به مرگ تدریجی درخت می‌شود. این مطالعه در طی سال‌های ۹۶-۱۳۹۵ به‌منظور بررسی پاسخ گیاه سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica* G) به تلقیح با قارچ‌های میکوریزا (*Rhizophagus irregularis* و *Funneliformis mosseae* و ترکیب دو گونه) و باکتری محرک رشد *Pseudomonas flourescens* در حضور غلظت‌های مختلف کادمیوم (خاک زراعی بدون آلوده‌سازی و خاک آلوده به فلز سنگین کادمیوم در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. در این پژوهش برهم‌کنش قارچ در باکتری در کادمیوم بر غلظت پتاسیم و آهن، ارتفاع و سلامت ظاهری نهال سرو نقره‌ای معنی‌دار بود. با افزایش غلظت کادمیوم در غالب تیمارها میزان آغشتگی میکوریزایی، غلظت عناصر فسفر، پتاسیم و آهن، ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی و سلامت ظاهری گیاهان کاهش و درصد نشت یونی و محتوای پرولین افزایش یافت. اثر مثبت هردو میکروارگانیسم (قارچ و باکتری)، روی غلظت پتاسیم و آهن، ارتفاع، وزن خشک نهال و وضعیت ظاهری گیاه مشاهده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح نهال سرو نقره‌ای با ترکیب قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس می‌تواند اثر مثبتی بر رشد و بقای این گونه درختی در شرایط تنش کادمیوم داشته باشد، لذا به نظر می‌رسد که کاربرد این میکروارگانیسم‌ها در مناطق صنعتی می‌تواند به‌عنوان یک راهکار نوین برای جلوگیری از کاهش رشد و زوال درختان موجود در فضای سبز مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: مایه زنی میکوریزایی، باکتری سودوموناس فلورسنس، تنش فلزات سنگین، درختان سوزنی‌برگ، فضای سبز

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
۲. گروه پژوهشی مهندسی فضای سبز شهری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
۳. گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
۴. مؤسسه تحقیقات خاک وآب، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: h.ali@ag.iut.ac.ir

مقدمه

در مناطق خشک و نیمه‌خشک از سوزنی‌برگان بیشتر از پهن برگان در فضای سبز استفاده می‌شود که از دلایل آن می‌توان مقاومت بالاتر سوزنی‌برگان نسبت به پهن‌برگان در برابر شرایط سخت محیطی از جمله کمبود آب و خشکی، گرمای بالا و سرمای سخت زمستان را نام برد. امروزه کاشت گونه‌های سوزنی‌برگ در فضای سبز مناطق مختلف کشور بسیار توسعه یافته است (۱). از جمله گونه‌های سوزنی‌برگ می‌توان به سرو نقره‌ای اشاره کرد که به‌طور گسترده‌ای در فضای سبز شهری مناطق خشک و نیمه‌خشک تا نیمه‌مرطوب کشور استفاده می‌شود. گزارش‌ها نشان می‌دهد که سرو نقره‌ای در سال ۱۳۳۴ به باغ کشاورزی کرج وارد شده و در حال حاضر کاشت آن به‌همراه انواع سرو و کاج در بسیاری از مناطق آب‌وهوایی ایران به‌عنوان عنصر اصلی درختی بوستان‌ها و محوطه‌های سبز، جنگل‌کاری‌ها و فضای سبز نواحی صنعتی، حاشیه جاده‌ها و مزارع به‌طور گسترده‌ای کاربرد دارد (۱).

از طرفی، در مناطق صنعتی معمولاً غلظت بالایی از فلزات سنگین در خاک تجمع می‌یابد. لذا خاک‌های مجاور با مناطق صنعتی ممکن است دچار سمیت فلزات سنگین شوند. این فلزات سنگین می‌توانند مدت زمان طولانی در منطقه باقیمانده و اثرهای منفی بر اکوسیستم بر جای بگذارند، بنابراین غلظت بالای این فلزات سنگین می‌تواند موجب کاهش رشد و زوال درختان شود (۲۳). زوال درختان سوزنی‌برگ در مناطق زیادی از دنیا مشاهده شده است که کاهش رشد، رنگ پریدگی، کاهش حجم تاج پوشش و درنهایت مرگ درخت را به‌همراه دارد (۱). کادمیوم به‌عنوان یکی از سمی‌ترین فلزات با تشکیل کمپلکس‌های پیچیده با ترکیبات آلی مانند پروتئین‌ها از فعالیت ضروری سلول‌ها جلوگیری می‌کند و با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید گونه‌های فعال اکسیژن زوال غشا را فراهم می‌کند و میل ترکیبی شدیدی با گروه‌های سولفیدریل، هیدروکسیل و لیگاندهای حاوی نیتروژن دارد. در نتیجه این عنصر بسیاری از آنزیم‌های مهم را غیر فعال کرده و با ممانعت از فعالیت آنزیم روبیسکو تثبیت دی‌اکسیدکربن را در گیاه کاهش می‌دهد، در نتیجه باعث کاهش فتوسنتز می‌شود. همچنین منجر به اختلال در تنفس و سایر فرایندهای متابولیک در گیاه می‌شود (۲۹).

کادمیوم با تولید شکل‌های مختلفی از انواع اکسیژن فعال (ROS) واکنش سمی ایجاد کرده، موجب آسیب به پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و DNA شده و درنهایت منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (۳۰). گونه‌های فعال اکسیژن همچنین روی بیان ژن‌ها تأثیر گذاشته و موجب تغییر در بسیاری از فرایندها مانند رشد، چرخه سلولی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و پاسخ به تنش‌های غیر زنده می‌شوند (۱۴). با توجه به اینکه حضور این آلاینده‌ها در خاک، امکان ورود آنها را به چرخه غذایی انسان ممکن می‌سازد و همچنین به‌دلیل اثرهای مضر این آلاینده‌ها بر جوامع گیاهی لذا اصلاح خاک‌های آلوده به این آلاینده‌ها امری ضروری به نظر می‌رسد.

یکی از روش‌های ممکن به‌منظور کاهش اثرهای زیان‌بار آلاینده‌های جذب شده از محیط بر گیاهان، استفاده از قارچ‌های میکوریزا است. مدتهاست که اهمیت و نقش مفید قارچ‌های میکوریزا در استقرار گونه‌های درختی شناسایی شده و گزارش شده است که تلقیح تعدادی از گونه‌های درختی با این دسته از قارچ‌ها اثرهای سمی برخی از فلزات سنگین مانند کادمیوم را کاهش می‌دهد (۲۸). مکانیزم‌هایی که از طریق آنها قارچ‌های میکوریزا موجب کاهش جذب فلزات سنگین می‌شوند عبارت از تولید متابولیت‌های مختلف از قبیل متالوتیونین و گلومالین سطح بزرگ‌تر دیواره سلولی که می‌توان به فلزات سنگین متصل شده و ایجاد باند کند، محدودیت جابه‌جایی آپوپلاستی فلز سنگین، رسوب خارج از سلولی فلزات سنگین، تشکیل کلات‌های درون سلولی و افزایش بهبود رشد و زی‌توده گیاهان است (۱۶). این قارچ‌ها هم گیاه و هم جامعه میکروبی خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند و این امر بر توانایی ریزوسفر در اصلاح خاک‌های آلوده اثر می‌گذارد (۹).

مشاهده شده است که اکثر گونه‌های درختی به‌طور طبیعی

دارای همزیستی با میکوریزاها هستند. به‌عنوان مثال در صنوبر ۶۰ گونه متفاوت از قارچ‌های میکوریزا شناسایی شده است (۱۰) و در برخی موارد، اثر این قارچ‌ها روی رشد صنوبر تا حدود ۴۰۰ درصد گزارش شده است (۸). گیاهان میکوریزایی مقاومت بالایی در برابر انواع تنش‌های غیر زنده (مانند خشکی و فلزات سنگین) و زنده (مانند پاتوژن‌ها) دارند (۲۷). برای ارائه یک برنامه موفقیت آمیز در استفاده گیاهان از میکوریزا به‌منظور کاهش فلزات سنگین در سایت‌های آلوده، چند عامل باید در نظر گرفته شود که از آن جمله می‌توان به خواص، غلظت، توزیع، دسترسی و سمیت آلاینده‌ها، ویژگی‌های خاک از قبیل در دسترس بودن آب و عناصر غذایی، اثر گونه میکوریزا بر فعالیت جوامع میکروبی ریزوسفر، و اثرهای متقابل بین قارچ میکوریزا و گیاه میزبان تحت شرایط همزیستی اشاره کرد (۲۸). بسته به شرایط، استفاده از قارچ‌های میکوریزا می‌تواند به گیاهان مستقر در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین کمک کند که این امر به‌علت اثر مثبت میکوریزا بر تحمل گیاه است. اما از طرفی می‌تواند توانایی گیاهان برای استخراج فلزات سنگین را با کاهش جذب توسط ریشه و کاهش انتقال آنها به ساقه کاهش دهد (۲۳).

همچنین نقش باکتری‌های محرک رشد در تغییر وضعیت بیوشیمیایی ریزوسفر به‌منظور تثبیت یا حلالیت فلزات سنگین شناخته شده است که روی سمیت یا جذب این فلزات در گیاهان اثر خواهند گذاشت (۱۱). ریزوباکترهایی که با خاک و ریشه گیاه تعامل دارند و بر افزایش رشد گیاه مؤثرند را به‌طور کلی باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) می‌نامند (۲۱). غلظت بالای فلزات سنگین موجب ممانعت از رشد گیاهان شده و یکی از عوامل تولید اتیلن نیز محسوب می‌شود که مانع از توسعه ریشه و ساقه شده و تثبیت دی‌اکسید کربن را کاهش داده، انتقال قندها را محدود می‌کند. باکتری‌های محرک رشد حاوی یک آنزیم حیاتی ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱کربوکسیلات (ACC) دآمیناز هستند که تولید اتیلن را در گیاه (توسط سوخت وساز ACC و تبدیل آن به آمونیاک و آلفا کتوبوتیرات) کاهش می‌دهند (۲۳). تلقیح باکتری‌های حاوی ACC دآمیناز می‌تواند در حفظ رشد و نمو گیاهان در مواجه با شرایط تنش با کاهش میزان اتیلن تولیدی مؤثر باشد. باکتری‌های ACC دآمیناز می‌توانند اثرهای منفی ناشی از تولید اتیلن در شرایط تنش را کاهش دهند. گیاهانی که با باکتری ACC دآمیناز تیمار می‌شوند ممکن است به‌علت اتیلن کمتر، رشد ریشه گسترده‌تری داشته باشند و در نتیجه می‌توانند نسبت به تنش‌های مختلف مقاومت بیشتری را نشان دهند (۲۳). گزارشاتی مبنی بر اثر باکتری‌های محرک رشد در کاهش اثرهای منفی فلزات سنگین مانند کادمیوم در گیاهان در دسترس است (۲۲). در چندین پژوهش انجام شده تیمارهای میکوریزا، باکتری‌های محرک رشد و کاربرد تلفیقی آنها سبب افزایش رشد رویشی درختان در شرایط تنش فلزات سنگین شد (۲۲ و ۲۳).

هدف از انجام این پژوهش بررسی کارایی قارچ‌های میکوریزا و باکتری سودوموناس فلورسنس در بهبود تحمل به غلظت‌های بالای کادمیوم و زوال نهال سرو نقره‌ای است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در طی سال‌های ۹۶-۱۳۹۵ روی گونه درختی سرو نقره‌ای در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان و به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها عبارت بودند از پنج سطح آلودگی (خاک زراعی بدون آلوده سازی و خاک آلوده به فلز سنگین کادمیوم در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، چهار سطح قارچی (گونه *Funneliformis mosseae*، گونه *Rhizophagus irregularis*، مخلوط دو گونه و عدم حضور قارچ) و دو سطح باکتری (حضور و عدم حضور باکتری *P. flourescens*).

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی

بذور گونه‌های درختی سرو نقره‌ای از جنگل سرو نقره‌ای دانشگاه صنعتی اصفهان جمع‌آوری شد. به‌منظور کاهش تفرق

شکل ۱. مراحل تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی

صفات بین نهال‌های تولید شده توسط بذر، بذور از وسط توده جنگلی و از یک درخت جمع آوری شد، لذا پایه مادری در بین تمامی نهال‌های حاصل یکسان بود. سپس بذور به‌مدت یک ساعت در قارچ‌کش کاپتان (دو گرم بر لیتر) ضدعفونی شد. پس از آن بذور به‌مدت دو هفته در محیط پیت ماس برای رفع نیاز سرمایی در انکوباتور با دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از رفع نیاز سرمایی بذور، آنها را در شاسی و در گلخانه با دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد کشت و تا زمان جوانه‌زنی به‌صورت روزانه آبیاری شدند. شش ماه بعد از کشت بذور، نهال‌های حاصل به گلدان‌های شش لیتری مستقر در گلخانه علوم باغبانی انتقال یافت (شکل ۱). قبل از انتقال به گلدان، دو بار و با فواصل زمانی یک ماهه با کود کامل ۱۰-۵-۲۰ کوددهی صورت گرفت.

آماده‌سازی بستر کاشت

برای این آزمایش ابتدا نمونه خاک تهیه شده در اتوکلاو در دو نوبت در داخل کیسه‌های کنفی ضدعفونی شد و گلدان‌ها نیز با الکل ضدعفونی سطحی شدند. سپس خاک به‌طور مصنوعی با فلز کادمیوم (غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) آلوده شد. برای آلوده کردن خاک به کادمیوم، ابتدا مقدار لازم کلرید کادمیوم برای آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، جرم محاسبه شده کلرید کادمیوم به یک کیلوگرم از خاک افزوده و کاملاً با آن مخلوط شد و پیش‌ماده‌ای همگن به‌دست آمد. سپس این پیش‌ماده آلوده به‌طور کامل با توده خاک مخلوط شد. به‌منظور نزدیک کردن کار به شرایط طبیعی، بعد از افزودن کادمیوم به خاک به‌مدت دو ماه کشت صورت نگرفت ولی گلدان‌ها آبیاری شدند. بافت خاک مورد استفاده لومی رسی، پی اچ ۷/۸، هدایت الکتریکی ۰/۹۷ دسی زیمنس برمتر، درصد آهک ۳۵/۱ درصد، ماده آلی ۸/۲۷ گرم در کیلوگرم، نیتروژن کل ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، فسفر ۶/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم، پتاسیم قابل تبادل ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، آهن ۸/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و روی ۰/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

تلقیح گیاهان با قارچ و باکتری

در این پژوهش از دو گونه قارچی Rhizophagus irregularis (*Glomus intraradices*)، و Funneliformis mosseae (*Glomus mosseae*) و ترکیب دو گونه) و باکتری گونه

P. flourescens که از مرکز پژوهش‌ها خاک و آب کشور تهیه شد، استفاده شد. برای تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزا قبل از کاشت، خاک هر گلدان ۶۰ گرم (تقریباً ۶۰-۵۰ اسپور در گرم) مایهٔ تلقیح قارچ را دریافت کرد. برای تلقیح باکتری از سوسپانسیون باکتری سودوموناس فلورسنس استفاده شد به این ترتیب که محیط حاوی باکتری به گلدان‌ها مایه‌زنی شد.

صفات مورد بررسی و نحوه اندازه‌گیری آنها

بررسی همزیستی قارچ توسط روش Giovannetti و Mosse (۱۵) با کمی تغییرات صورت پذیرفت، بدین‌صورت که ریشه به‌همراه محلول KOH ۱۰ درصد به‌مدت نیم ساعت در دمای ۱۲۰ درجه اتوکلاو شد. پس از اینکه ریشه با آب مقطر شستشو شد، محیط ریشه با HCl ۱۰ درصد اسیدی شده و نیم ساعت بعد پس از خالی کردن HCl، ریشه درمحلول تریپان بلو به‌مدت چند ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شد و برای تعیین میزان آغشتگی میکوریزایی همزیستی توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. سپس درصد کلونیزاسیون از روش تلاقی خطوط شبکه مورد محاسبه قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری عناصر در گیاه به روش خاکسترگیری خشک عمل شد (۶). سپس میزان پتاسیم محلول به‌وسیله دستگاه فلیم فتومتر (مدل PFP7) اندازه‌گیری شد. آهن با دستگاه جذب اتمی (مدل Perkin Elmer AA3030) قرائت شد. اندازه‌گیری فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری صورت پذیرفت. اندازه‌گیری نشت یونی به‌روش بلوم و ابرکون از ۰/۱ گرم نمونه محاسبه شد (۷). اندازه‌گیری پرولین بر اساس روش بیتس و همکاران صورت پذیرفت (۳). اندازه‌گیری ارتفاع هر نهال از سطح زمین با دقت یک میلی‌متر به‌دست آمد. اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی به این صورت انجام شد که پس از اندازه‌گیری وزن تر، برای به‌دست آوردن وزن خشک، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

به‌منظور بررسی سلامت ظاهری، نهال‌ها بر اساس رنگ و میزان سوختگی فلس‌های برگی به سه درجه خوب (۱۰۰-۶۷ درصد فلس‌ها کاملاً سبز و بدون سوختگی و زردشدگی)، متوسط (۶۷-۳۳ درصد فلس‌ها کاملاً سبز و بدون سوختگی و زردشدگی) و ضعیف (۳۳ – ۰ درصد فلس‌ها کاملاً سبز و بدون سوختگی و زردشدگی) تقسیم‌بندی و رتبه‌دهی (خوب=۳، متوسط=۲ و ضعیف=۱) شدند (۱).

تجزیه‌های آماری

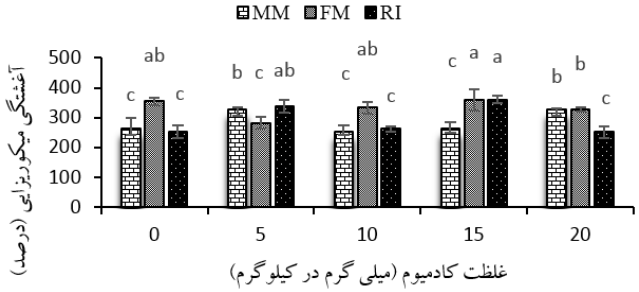
تجزیه واریانس داده‌های مربوط به هر صفت به کمک نرم‌افزار سیستم پردازش آماری SAS (نسخه ۹/۱) و Statistix و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای انجام محاسبات و رسم شکل‌ها از نرم‌افزار اکسل (نسخه ۲۰۱۳) استفاده شد.

نتایج

میزان آغشتگی میکوریزایی

تأثیر غلظت کادمیوم و گونه قارچی بر میزان آغشتگی میکوریزایی ریشه گیاه سرو نقره‌ای در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان آغشتگی میکوریزایی به مخلوط دو گونه (۳۵/۳ درصد) و کمترین آن به گونه ریزوفاگوس ایرگیولاریس (۳۴ درصد) تعلق داشت (شکل ۲). همچنین برهم‌کنش غلظت کادمیوم و قارچ میکوریزا بر میزان آغشتگی میکوریزایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطوح کادمیوم، میزان آغشتگی میکوریزایی کاهش یافت. بیشترین و کمترین مقدار برابر ۴۱/۳ و ۲۸/۸ درصد به‌ترتیب به تیمار مخلوط دو گونه در شرایط عدم آلودگی کادمیوم و گونه موسه در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم تعلق داشت (شکل ۲).

در مطالعه حاضر با افزایش غلظت کادمیوم خاک، میزان آغشتگی میکوریزایی نیز کاهش پیدا کرد که دلالت بر اثر منفی کادمیوم بر کاهش همزیستی میکوریزایی است. در پژوهشی یائو و همکاران (۳۰) گزارش کردند که میزان کلونیزاسیون ریشه در



شکل ۲. اثر متقابل غلظت کادمیوم در تلقیح میکوریزا روی درصد آغشتگی نهال سرو نقره‌ای. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

MM= مخلوط دوگونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات مورد اندازه‌گیری در تلقیح با قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس در غلظت‌های مختلف کادمیوم در نهال سرو نقره‌ای

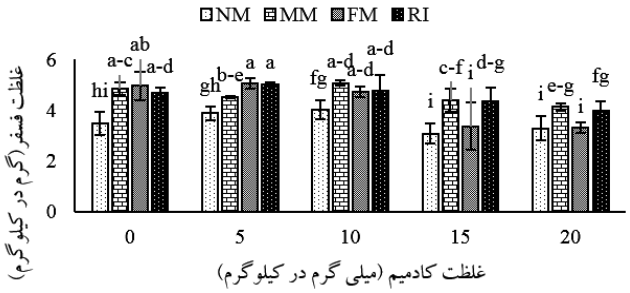
منابع تغییرات	df	میانگین مربعات								
		درصد آغشتگی ریشه	فسفر	پتاسیم	آهن	نشت یونی	پرولین	ارتفاع	وزن خشک اندام هوایی	سلامت ظاهری
قارچ (ق)	۳	۸۹۳۱**	۷/۱**	۲۶۱۸۶*	۱۳۲^{ns}	۲۳۲*	۰/۰۶۱^{ns}	۲۳**	۰/۱۱۵**	۲/۱۹**
کادمیوم (ک)	۴	۶۰/۴*	۵/۴**	۷۰۲۱۴**	۴۰۴**	۲۳۴۶**	۰/۲۲۸**	۴۳/۴**	۰/۴۵**	۳/۳۹**
باکتری (ب)	۱	۰/۳۰۰^{ns}	۱/۵**	۳۲۳۲۳۳**	۲۶۷^{ns}	۱۶۴^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۱۵/۴*	۰/۰۹۶*	۰/۱۳۳^{ns}
ق×ک	۱۲	۹۸/۷*	۰/۷**	۷۵۶۱۰**	۱۴۸۰**	۷۹/۵*	۰/۰۱۷**	۱۳/۷**	۰/۰۷۱**	۰/۴۰۴**
ق×ب	۳	۲۸/۹^{ns}	۰/۲^{ns}	۲۳۵۷۶*	۴۹۴*	۱۶/۵^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۴/۶۵^{ns}	۰/۰۲۷^{ns}	۰/۰۶۷^{ns}
ک×ب	۴	۱۲۰^{ns}	۰/۱^{ns}	۵۹۰۸۸**	۳۸۱*	۲۱/۸^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۹/۴۲*	۰/۰۸۸*	۰/۵۷۱**
ق×ک×ب	۱۲	۴۵/۴^{ns}	۰/۳^{ns}	۳۱۰۳۹**	۵۴۸**	۶۹/۶۵^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۵/۱۷*	۰/۰۳۶^{ns}	۰/۳۱۰*
خطا	۸۰	۴۳/۵	۰/۲	۸۴۵۲	۱۴۵	۴۵/۵	۰/۰۰۱	۲/۷۳	۰/۰۲۵	۰/۱۳۳
CV(٪)		۲۵/۵	۹/۹۹	۶/۷۹	۷/۸۲	۷/۸۲	۲۰/۱	۹/۲۰	۸/۶۷	۱۴/۷

*،** و ns به‌ترتیب نمایانگر معنی دار بودن در سطح پنج درصد، یک درصد و غیر معنی‌داری است.

اثر سمیت کادمیوم کاهش می‌یابد. کاهش درصد آغشتگی میکوریزایی در اثر فلزات سنگین می‌تواند به‌علت ممانعت از رشد و گسترش هیف در خاک باشد. کاهش درصد کلونیزاسیون، کاهش در تراکم اسپورها و حتی حذف کلونیزاسیون در اثر تجمع برخی فلزات سنگین گزارش شده است (۲۹). در مطالعات مختلف اثرات مثبت، منفی و خنثی فلزات سنگین بر درصد آغشتگی میکوریزایی بیان شده است (۲۰). این اثرات متفاوت نشان می‌دهد که نقش فلزات سنگین بر همزیستی میکوریزا ممکن است به عوامل دیگری از قبیل نوع گونه قارچی، نوع گیاه میزبان، مرحله رشدی گیاه، وضعیت عناصر غذایی و شرایط محیطی وابسته باشد (۲۳).

غلظت عناصر غذایی

تأثیر غلظت کادمیوم، قارچ میکوریزا و باکتری بر غلظت فسفر اندام هوایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین



شکل ۳. اثر متقابل غلظت کادمیوم در تلقیح میکوریزا روی علظت فسفر اندام هوایی (گرم در کیلوگرم) نهال سرو نقره‌ای. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

NM= عدم تلقیح، MM= مخلوط دوگونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*

جدول ۲. اثر تلقیح باکتری سودوموناس فلئورسنس روی غلظت عناصر فسفر، پتاسیم و آهن، نشت یونی، محتوای پرولین، ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی و سلامت ظاهری نهال سرو نقره‌ای

تیمار	فسفر (گرم در کیلوگرم)	پتاسیم (گرم در کیلوگرم)	آهن (میلی‌گرم در کیلوگرم)	نشت یونی (درصد)	پرولین (میکرومول در گرم)	ارتفاع (سانتی‌متر)	وزن خشک (گرم)	سلامت ظاهری
عدم باکتری	۴/۱۳^{b}	۱۳^{b}	۱۵۲^{a}	۲۸^{a}	۰/۱۶۹^{a}	۱۷/۶^{b}	۱/۷۹^{a}	۲/۵۲^{a}
باکتری	۴/۳۵^{a}	۱۴/۱^{a}	۱۵۵^{a}	۲۵/۷^{b}	۰/۱۶۵^{a}	۱۸/۳^{a}	۱/۸۴^{a}	۲/۴۵^{a}

† میانگین‌های که حروف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۳. اثر تلقیح قارچ میکوریزا روی غلظت عناصر فسفر، پتاسیم و آهن، نشت یونی، محتوای پرولین، ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی و سلامت ظاهری نهال سرو نقره‌ای

تیمار	پتاسیم (گرم در کیلوگرم)	فسفر (میلی‌گرم در کیلوگرم)	وزن خشک (درصد)	ارتفاع	پرولین (میکرومول در گرم)	نشت یونی (سانتی‌متر)	آهن (گرم)	سلامت ظاهری
عدم تلقیح	۳/۵۴^{c}	۱۳/۱^{b}	۱۵۳^{a}	۲۸/۶^{a}	۰/۱۳^{c}	۱۷/۸^{b}	۱/۷۴^{c}	۲/۲۶^{b}
موسه	۴/۲۸^{b}	۱۳/۵^{a}	۱۵۵^{a}	۲۸/۴^{a}	۰/۱۶^{b}	۱۸/۵^{ab}	۱/۸۸^{a}	۲/۷۳^{a}
ایرگیولاریس	۴/۵۵^{a}	۱۳/۶^{a}	۱۵۱^{a}	۲۷/۵^{a}	۰/۱۵^{b}	۱۶/۸^{c}	۱/۸۰^{bc}	۲/۲۳^{b}
مخلوط دو گونه	۴/۶۰^{a}	۱۳/۶^{a}	۱۵۶^{a}	۲۳/۶^{b}	۰/۲۳^{a}	۱۸/۸^{a}	۱/۸۴^{ab}	۲/۷۰^{a}

† میانگین‌های که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

برهم‌کنش بین غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا معنی‌دار بود اما سایر اثرهای متقابل بین تیمارها عدم معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱). بیشترین غلظت فسفر برابر ۵/۰۵ گرم در کیلوگرم وزن خشک به گیاهان تلقیح شده با گونه موسه میکوریزا در غلظت پنج میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم و کمترین آن برابر ۳/۰۷ گرم به گیاهان تلقیح نشده با میکوریزا در غلظت ۱۵ میلی‌گرم کادمیوم تعلق داشت (شکل ۳). اثر باکتری روی غلظت فسفر اندام هوایی در نهال سرو نقره‌ای مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین در بین گونه‌های قارچ میکوریزا مخلوط دو گونه بیشترین تأثیر را روی غلظت فسفر داشت (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که غلظت پتاسیم تحت تأثیر غلظت کادمیوم، قارچ میکوریزا، باکتری سودوموناس،

جدول ۴. اثر متقابل غلظت کادمیوم در تلقیح میکوریزا در باکتری روی غلظت پتاسیم (گرم در کیلوگرم وزن خشک اندام هوایی) نهال سرو نقره‌ای

غلظت کادمیوم	عدم باکتری				حضور باکتری			
	NM	FM	RI	MM	NM	FM	RI	MM
۰	۱۲/۷$^{h-j}$	۱۳/۱$^{g-j}$	۱۳$^{g-j}$	۱۳$^{g-j}$	۱۵/۸^{bc}	۱۳/۳$^{g-j}$	۱۳/۶$^{e-i}$	۱۹/۵^{a}
۵	۱۲/۱^{j}	۱۳/۶$^{f-i}$	۱۵/۱$^{b-e}$	۱۲/۳$^{h-j}$	۱۳/۶$^{f-i}$	۱۴/۸$^{c-f}$	۱۶/۶^{b}	۱۳/۶$^{f-i}$
۱۰	۱۳$^{g-j}$	۱۲/۵$^{h-j}$	۱۳/۱$^{g-j}$	۱۳/۱$^{g-j}$	۱۴/۴$^{c-g}$	۱۲/۸$^{h-j}$	۱۳/۳$^{g-j}$	۱۲/۷$^{h-j}$
۱۵	۱۲/۲^{ij}	۱۲/۷$^{h-j}$	۱۲/۹$^{g-j}$	۱۳/۱$^{g-j}$	۱۳/۸$^{d-h}$	۱۳$^{g-j}$	۱۲/۸$^{h-j}$	۱۳/۳$^{g-j}$
۲۰	۱۲^{j}	۱۵/۱$^{b-e}$	۱۳$^{g-j}$	۱۳$^{g-j}$	۱۵/۲$^{b-d}$	۱۳/۳$^{g-j}$	۱۳$^{g-j}$	۱۲/۸$^{h-j}$
میانگین	۱۲/۴	۱۳/۴	۱۳/۹	۱۲/۹	۱۴/۶	۱۳/۴	۱۳/۹	۱۴/۴

† میانگین‌های که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

NM= عدم تلقیح، MM= مخلوط دوگونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*

جدول ۵. اثر متقابل غلظت کادمیم در تلقیح میکوریزا در باکتری روی غلظت آهن (میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک اندام هوایی) نهال سرو نقره‌ای

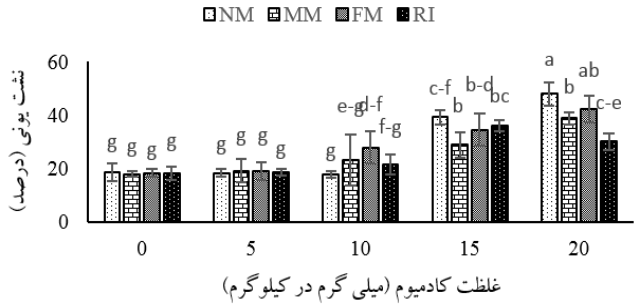
غلظت کادمیم	عدم باکتری				حضور باکتری			
	NM	FM	RI	MM	NM	FM	RI	MM
۰	۱۶۶$^{b-d}$	۱۴۷$^{e-g}$	۱۶۹^{bc}	۱۶۸^{bc}	۱۵۸$^{b-e}$	۱۹۰^{a}	۱۷۷^{b}	۱۵۲$^{c-g}$
۵	۱۴۵$^{e-g}$	۱۶۶$^{b-d}$	۱۵۵$^{c-f}$	۱۴۵$^{e-g}$	۱۶۷$^{b-d}$	۱۵۸$^{b-e}$	۱۴۸$^{d-g}$	۱۶۷$^{b-d}$
۱۰	۱۴۷$^{e-g}$	۱۶۸^{bc}	۱۶۶$^{b-d}$	۱۶۹^{bc}	۱۴۴$^{e-g}$	۱۵۲$^{c-g}$	۱۶۷$^{b-d}$	۱۷۷^{b}
۱۵	۱۳۳^{g}	۱۳۳^{g}	۱۴۷$^{e-g}$	۱۵۵$^{c-f}$	۱۴۸$^{d-g}$	۱۳۸^{fg}	۱۳۸^{fg}	۱۵۲$^{c-g}$
۲۰	۱۳۳^{g}	۱۴۴$^{e-g}$	۱۴۴$^{e-g}$	۱۴۵$^{e-g}$	۱۳۴^{g}	۱۳۴^{g}	۱۴۴$^{e-g}$	۱۳۸^{fg}
میانگین	۱۴۵	۱۵۲	۱۵۶	۱۵۶	۱۵۰	۱۵۴	۱۵۵	۱۵۷

† میانگین‌های که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

NM= عدم تلقیح، MM= مخلوط دوگونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*

اثرات دو گانه غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا، غلظت کادمیوم در باکتری و قارچ در باکتری و اثر سه‌گانه قارچ میکوریزا در غلظت کادمیوم در باکتری قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش کادمیوم غلظت پتاسیم در اندام هوایی کاهش یافت. بیشترین غلظت پتاسیم برابر ۱۹/۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک به گیاهان تلقیح شده با قارچ موسه و باکتری در غلظت صفر کادمیوم و کمترین آن برابر ۱۲ گرم بر کیلوگرم به گیاهان تلقیح نشده در شرایط عدم باکتری و غلظت ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم تعلق داشت (جدول ۴). نقش مثبت باکتری سودوموناس روی غلظت پتاسیم به خصوص در غلظت‌های بالای کادمیوم مشهود بود. همچنین در حضور باکتری قارچ میکوریزا تأثیر بیشتری روی غلظت پتاسیم اندام هوایی داشت.

اثر غلظت کادمیوم روی غلظت آهن اندام هوایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود اما اثر قارچ میکوریزا و باکتری معنی‌دار نبود (جدول ۱). تأثیر برهم‌کنش غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا، کادمیوم در باکتری، قارچ در باکتری و غلظت کادمیوم در باکتری در قارچ میکوریزا بر غلظت آهن اندام هوایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین غلظت آهن برابر ۱۹۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم ماده خشک به گیاهان تلقیح شده با گونه موسه و باکتری سودوموناس در غلظت صفر میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم و کمترین آن برابر ۱۳۳ میلی‌گرم به گیاهان تلقیح نشده با قارچ و باکتری در غلظت ۲۰ کادمیوم تعلق داشت (جدول ۵). با افزایش سطوح کادمیوم غلظت آهن در اندام هوایی نهال سرو



شکل ۴. اثر متقابل غلظت کادمیوم در تلقیح میکوریزا روی نشت یونی (درصد) نهال سرو نقره‌ای. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

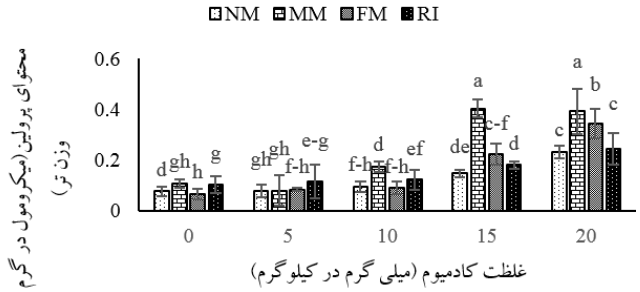
NM= عدم تلقیح، MM= مخلوط دو گونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*

نقره‌ای به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که بیشترین میزان کاهش در غلظت‌های ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهد که تیمار میکوریزا در غلظت‌های مختلف کادمیوم اثر معنی‌داری را بر میزان عنصر آهن موجود در بافت گیاه داشته است که میزان این عنصر در تیمارقارچی مخلوط دو گونه در غلظت‌های ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در هر دو شرایط حضور و عدم حضور باکتری بالا بوده و این تیمار قارچی در غلظت‌های بالای کادمیوم، بیشترین اثر مثبت را داشته است (جدول ۵).

افزایش غلظت کادمیوم در جذب عناصر غذایی ضروری برای رشد گیاه اختلال ایجاد می‌کند و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی دیگر از مکانیسم های کاهش تنش فلزات سنگین، بهبود تغذیه فسفر است که میکروارگانیسم‌ها به‌واسطه توانایی انحلال فسفات های نامحلول از طریق افزایش جذب فسفر و بهبود رشد، گیاه را در برابر آثار مخرب سمیت کادمیوم محافظت می‌کنند (۲۱). از طرفی میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات نقش بسیار مهمی در حل ترکیبات نامحلول فسفر در خاک ایفا می‌کنند. این باکتری‌ها معمولاً از طریق ترشح اسیدهای آلی و فسفاتازها سبب تبدیل شکل‌های نامحلول معدنی و آلی فسفر به شکل‌های قابل جذب می‌شوند (۲۱). همچنین در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین اغلب کمبود آهن مشاهده می‌شود. از طرفی، تولید سیدروفورها یک استراتژی کارآمد به‌منظور غلبه بر کمبود آهن است که توسط باکتری‌ها و قارچ‌ها تولید می‌شود. در واقع ریشه‌ها، آهن دو ظرفیتی (Fe^{+2}) را به مراتب بیشتر از آهن سه ظرفیتی (Fe^{+3}) جذب می‌کنند و سیدروفورها موجب تبدیل آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی می‌شوند. باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا در شرایط کمبود آهن ناشی از تنش فلزات سنگین، با ترشح سیدروفورها موجب جذب هرچه بیشتر آهن توسط گیاهان شده و در کاهش سمیت فلزات سنگین نقش دارند (۲۲).

نشت یونی

تأثیر غلظت کادمیوم، قارچ میکوریزا و باکتری بر درصد نشت یونی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین برهم‌کنش بین غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا معنی‌دار بود اما سایر اثرات متقابل بین تیمارها عدم معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱). با افزایش غلظت کادمیوم نشت یونی نهال سرو نقره‌ای نیز افزایش داشت و با افزایش غلظت کادمیوم، نقش قارچ‌های میکوریزا مشهودتر بود و در بین گونه‌های قارچی، مخلوط دو گونه تأثیر بارزتری را بر جا گذاشت (شکل ۴). غلظت بالای کادمیوم می‌تواند موجب افزایش نشت یونی و در نتیجه تخریب غشای سلولی گیاهان شود (۱۹ و ۲۴). در واقع غلظت بالای کادمیوم با تولید گونه‌های فعال اکسیژن موجب تنش اکسیداتیو و به‌دنبال آن آسیب غشای سلولی از طریق افزایش نشت یونی می‌شود (۲). کاهش میزان نشت یونی در



شکل ۵. اثر متقابل غلظت کادمیوم در تلقیح میکوریزا روی محتوای پرولین (میکرومول در گرم وزن تر) نهال سرو نقره‌ای. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

NM= عدم تلقیح، MM= مخلوط دوگونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*

گیاهان با کاربرد قارچ میکوریزا و باکتری محرک رشد در گیاهان گزارش شده است (۵ و ۱۲).

محتوای پرولین

تأثیر غلظت کادمیوم و برهم‌کنش غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا بر محتوای پرولین در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). اما تأثیر قارچ، باکتری و برهم‌کنش غلظت کادمیوم در باکتری، قارچ در باکتری و غلظت کادمیوم در باکتری معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین میزان پرولین برابر ۰/۴۰۳ میکرومول بر گرم وزن تر اندام هوایی به گیاهان تلقیح شده با مخلوط دو گونه قارچ در غلظت ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم و کمترین آن برابر ۰/۰۶۵ میکرومول به همین قارچ در غلظت ۰ کادمیوم تعلق داشت (شکل ۵). نتایج نشان می‌دهد با افزایش سطوح کادمیوم قارچ‌های میکوریزا اثر بارزتری را روی محتوای پرولین گیاه سرو نقره‌ای بر جا خواهند گذاشت به‌طوری که تا غلظت ۱۰ کادمیوم اختلاف چندان زیادی بین شرایط تلقیح و عدم تلقیح مشاهده نشد اما در غظت‌های بالاتر اثر قارچ‌های میکوریزا به‌ویژه مخلوط دو گونه چشمگیر بود (شکل ۵). افزایش محتوای پرولین در مواجه با فلزات سنگین در گیاهان مختلف دیده شده است (۲۶). تجمع پرولین تحت تنش فلزات سنگین به‌عنوان یکی از راهکارهای مهم گیاهان در جهت مقابله با تنش و جلوگیری از تخریب سلولی عنوان شده است (۱۷). پرولین یک تنظیم کننده اسمزی است که از ارگان‌ها و ترکیبات متعددی از قبیل سیستم فتوسنتزی، زنجیره انتقال الکترون، نوکلئیک اسیدها، غشا سلولی، آنزیم‌ها و پروتئین‌ها در برابر غلظت بالای فلزات سنگین محافظت می‌کند. همچنین پرولین گونه‌های فعال اکسیژن که در اثر تنش فلزات سنگین تولید می‌شوند را کاهش می‌دهد (۲۶). افزایش محتوای پرولین با کاربرد قارچ میکوریزا و باکتری های محرک رشد تحت تنش فلزات سنگین در گیاهان گزارش شده است (۱۳ و ۱۸).

صفات رشدی

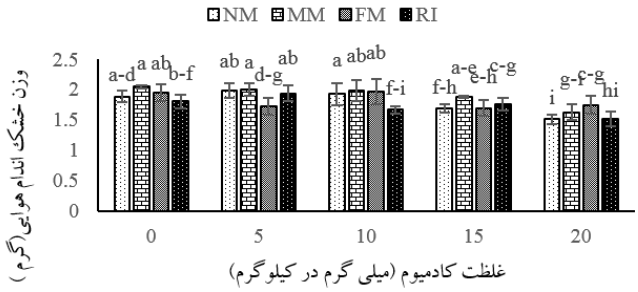
اثر غلظت کادمیوم، قارچ میکوریزا و باکتری روی ارتفاع نهال سرو نقره‌ای در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین تأثیر برهم‌کنش غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا، غلظت کادمیوم در باکتری و غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا در باکتری بر ارتفاع معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین ارتفاع برابر ۲۲/۷ سانتی‌متر به گیاهان تلقیح شده با گونه موسه در غلظت پنج میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در حضور باکتری و کمترین آن برابر ۱۴ سانتی‌متر به گیاهان تلقیح نشده در غلظت ۲۰ کادمیوم در شرایط عدم باکتری تعلق داشت (جدول ۶). ارتفاع گیاهان تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم تقریباً یکسان بود و در غلظت‌های بالاتر (۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)

جدول ۶. اثر متقابل غلظت کادمیوم در تلقیح میکوریزا در باکتری روی ارتفاع (سانتی‌متر) نهال سرو نقره‌ای

غلظت کادمیوم	عدم باکتری				حضور باکتری			
	NM	FM	RI	MM	NM	FM	RI	MM
۰	۱۹$^{b-f}$	۱۹/۴$^{b-e}$	۱۹/۳$^{b-e}$	۱۶$^{g-k}$	۱۸/$^{c-g}$	۱۹/۷$^{b-e}$	۲۱/۶^{ab}	۱۹$^{b-f}$
۵	۲۰/۷$^{a-d}$	۲۰/۳$^{a-d}$	۱۷$^{e-j}$	۱۷/۳$^{e-i}$	۱۹/۶$^{b-e}$	۲۲/۷^{a}	۲۰/۴$^{a-d}$	۱۹/۳$^{b-e}$
۱۰	۱۷$^{e-j}$	۱۹/۶$^{b-e}$	۱۷/۲$^{e-i}$	۱۷$^{e-j}$	۱۹/۶$^{b-e}$	۱۹$^{b-f}$	۲۱$^{a-c}$	۱۹/۲$^{b-e}$
۱۵	۱۵/۴$^{h-k}$	۱۸$^{d-h}$	۱۶$^{g-k}$	۱۷/۱$^{e-j}$	۱۷$^{e-j}$	۱۸$^{d-h}$	۱۸$^{d-h}$	۱۶$^{g-k}$
۲۰	۱۴^{k}	۱۶/۴$^{f-k}$	۱۸$^{d-h}$	۱۴/۷$^{i-k}$	۱۴/۵$^{i-k}$	۱۵$^{i-k}$	۱۵/۳$^{h-k}$	۱۵$^{i-k}$
میانگین	۱۷/۲	۲۳/۴	۱۷/۵	۱۶/۴	۱۷/۷	۱۸/۹	۱۹/۲	۱۷/۷

† میانگین‌های که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

NM= عدم تلقیح، MM= مخلوط دوگونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*



شکل ۶. اثر متقابل غلظت کادمیوم در تلقیح میکوریزا روی وزن خشک اندام هوایی (درصد) نهال سرو نقره‌ای. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

NM= عدم تلقیح، MM= مخلوط دوگونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*

کاهش رشد به‌طور معنی‌داری مشاهده شد. این نشان می‌دهد که نهال سرو نقره‌ای تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم را می‌تواند تا حدودی تحمل کند و از این غلظت به بعد شرایط تنش فلز سنگین و سمیت کادمیوم اثر خود را نمایان کرده‌است. از طرفی صرف نظر از نوع گونه قارچی میزان رشد گیاه سرو نقره‌ای در شرایط غلظت‌های بالای کادمیوم (۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده بیشتر بود. (جدول ۶). این نتیجه نیز حاکی از نقش قارچ‌های میکوریزا در شرایط تنش‌زا است. همچنین باکتری نیز اثر مثبتی روی ارتفاع نهال‌های سرو نقره‌ای برجا گذاشت (جدول ۲).

اثر غلظت کادمیوم و قارچ میکوریزا و همچنین تأثیر برهم‌کنش غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا، غلظت کادمیوم در باکتری و غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا در باکتری بر وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین وزن خشک اندام هوایی برابر ۲/۰۵ گرم به گیاهان تلقیح شده با مخلوط دو گونه قارچ در غلظت صفر کادمیوم و کمترین آن برابر ۱/۵۱ گرم به گیاهان تلقیح نشده در غلظت ۲۰ میلی‌گرم کادمیوم تعلق داشت (شکل ۶). بیشترین کاهش وزن خشک اندام هوایی در غلظت‌های زیاد کادمیوم (۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم) مشاهده شد. صرف نظر از گونه قارچی به‌نظر می‌رسد که تلقیح نهال سرو نقره‌ای با قارچ میکوریزا می‌تواند موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی این گیاهان تحت غلظت‌های زیاد کادمیوم شود (شکل ۶). اثر باکتری به‌عنوان

جدول ۷. اثر متقابل غلظت کادمیوم در تلقیح میکوریزا در باکتری روی میزان سلامت ظاهری نهال سرو نقره‌ای

غلظت کادمیوم	عدم باکتری				حضور باکتری			
	NM	FM	RI	MM	NM	FM	RI	MM
۰	۲/۶۷^{ab}	۳^{a}	۲/۶۷^{ab}	۳^{a}	۳^{a}	۳^{a}	۳^{a}	۳^{a}
۵	۳^{a}	۲/۶۷^{ab}	۲/۳۳^{bc}	۲/۳۳^{bc}	۳^{a}	۳^{a}	۳^{a}	۳^{a}
۱۰	۲/۳۳^{bc}	۲/۶۷^{ab}	۲/۶۷^{ab}	۲/۶۷^{ab}	۲^{cd}	۳^{a}	۲^{cd}	۳^{a}
۱۵	۲^{cd}	۳^{a}	۳^{a}	۲^{cd}	۲^{cd}	۲/۶۷^{ab}	۲^{cd}	۲^{cd}
۲۰	۱/۶۷^{de}	۲/۳۳^{bc}	۱/۶۷^{de}	۲/۳۳^{bc}	۱/۶۷^{de}	۲^{cd}	۱/۶۷^{de}	۲/۶۷^{ab}
میانگین	۲/۳۳	۲/۷۳	۲/۴۷	۲/۴۷	۲/۳۳	۲/۷۳	۲/۳۳	۲/۷۳

† میانگین‌های که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح پنج درصد آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

NM= عدم تلقیح، MM= مخلوط دوگونه، FM= *Funneliformis mosseae*، RI= *Rhizophagus irregularis*

عامل اصلی روی وزن خشک اندام هوایی مثبت و معنی‌دار بود و برهم‌کنش مثبتی نیز با غلظت کادمیوم داشت. به‌خصوص در غلظت‌های زیاد کادمیوم نقش مثبت باکتری در افزایش وزن خشک اندام هوایی مشاهده شد.

اثر قارچ میکوریزا و غلظت کادمیوم بر سلامت ظاهری نهال سرو نقره‌ای در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین تأثیر برهم‌کنش غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا، غلظت کادمیوم در باکتری و اثر سه گانه غلظت کادمیوم در قارچ میکوریزا در باکتری بر سلامت ظاهری نهال معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش غلظت کادمیوم سلامت ظاهری نهال‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش داشت. تلقیح قارچ میکوریزا روی سلامت ظاهری نهال اثر معنی‌داری داشت و در بین گونه‌های قارچی، گونه موسه اثر بارزتری داشت. در غلظت‌های پایین کادمیوم (صفر و پنج میلی‌گرم در کیلوگرم) در تمامی تیمارها حضور باکتری اثر مثبتی روی سلامت ظاهری نهال بر جا گذاشت، اما با افزایش غلظت کادمیوم عکس آن مشاهده شد به‌طوری که تیمارهای دارای باکتری در غلظت‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم، سلامت ظاهری کمتری را در مقایسه با شرایط عدم تلقیح باکتری داشت (جدول ۷).

به‌نظر می‌رسد که توانایی همزیستی قارچ‌های میکوریزا در استخراج فلزات سنگین در خاک‌های آلوده به نوع فلزات سنگین، نوع گونه قارچی و نوع گیاه وابسته است. به‌عنوان مثال همزیستی صنوبر (*Populus canadensis*) با قارچ میکوریزا قابلیت این گیاه را برای استخراج کادمیوم افزایش داده‌است اما همین قارچ اثری در جذب کادمیوم در بید (*Salix viminalic*) نداشته است (۲۵).

در پژوهشی قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش مقاومت در برابر غلظت بالای فلز کادمیوم شد. این غلظت بالای فلزات سنگین برای گیاهان سمی بوده و می‌توانند رشد آنها را دچار اختلال کند. اکثر قارچ‌های میکوریزا می‌توانند در محیط با غلظت بالای فلزات رشد کنند، هرچند که تنوع بالایی از نظر مقاومت به فلزات در بین گونه‌های قارچی میکوریزا وجود دارد (۱۳).

وقتی از برخی گونه‌های باکتری استفاده می‌شود، جذب فلزات سنگین در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا افزایش می‌یابد و بیان شده است که این باکتری‌ها با قارچ‌ها حالت سینرژیستی به‌منظور استخراج فلزات سنگین داشته‌اند (۲۳). همچنین این باکتری‌ها می‌توانند کارایی میکوریزا در جذب برخی فلزات سنگین مانند کادمیوم را افزایش دهند. این موارد می‌تواند به‌علت نقش این باکتری‌ها در افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده فلزات سنگین از مواد آلی، سنتز هورمون‌های گیاهی و یا ویتامین‌ها باشد. از طرفی سیدرفورهای باکتری می‌تواند فلزات سنگین را تحریک کرده و جذب آنها را

برای گیاه افـزایش دهـد (۴). همچنـین ایـن میکروارگانیسـم‌ها توسط برخی فعالیت‌های بیوشیمیایی از قبیل تولید آنـزیم ACC دآمیناز (که اتیلن تولیـدی در شـرایط تـنش فلـزات سـنگین را کاهش می‌دهند) تا حدودی می‌تواننـد اثـرات مخـرب ناشـی از سمیت کادمیوم را خنثی کنند (۴).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج، گیاهان سرو نقره‌ای تا غلظـت ۱۰ میلی‌گـرم بر کیلوگرم کادمیوم را تحمل کرده و در غلظت‌های بـالاتر از این مقدار اثرات تنش ناشی از سمیت کـادمیوم در ایـن گیـاه مشاهده شد. تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزا موجـب افـزایش جذب عناصر غذایی فسفر، پتاسیم و آهن، افـزایش محتـوای پرولین و کاهش نشت یونی توسـط ایـن گیاهـان بـه‌ویژه در شـرایط غلظت‌هـای زیـاد کـادمیوم شـد. همچنـین بـاکتری سودوموناس فلورسنس توانست اثرات منفـی ناشـی از تـنش کادمیوم را از طریق کمـک در جـذب هرچـه بیشـتر عناصـر فسفر و پتاسیم، بهبود ببخشد. درنهایت، نتـایج ایـن پـژوهش نشـان داد کـه تلقـیح گیاهـان بـا قـارچ میکـوریزا و بـاکتری سودوموناس با بهبود شرایط رشدی و سلامت ظـاهری نهـال سرو نقره‌ای می‌تواند به‌عنوان راهکاری بـرای بهبـود رشـد و بقای این گونه درختی در مناطقی که احتمال سمیت کـادمیوم وجود دارد، استفاده شود.

منابع مورد استفاده

1. Aalipour, H., A. Nikbakht, N. Etemadi, F. Rejali and M. Soleimani. 2018. Application of *Pseudomonas Flourescens* bacteria and two species of AM fungi on the deficit tolerance Arizona cypress seedlings (*Cupressus arizonica* G). *Journal of Plant Process and Function*
2. Asgher, M., M. I. R. Khan, N. A. Anjum and N. A. Khan. 2014. Minimizing toxicity of cadmium in plants-role of plant growth regulators. *Protoplasma* 252: 399–413.
3. Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39: 205–207.
4. Belimov, A. A., I. V. Puhalsky, V. I. Safronova, A. I. Shaposhnikov, M. A. Vishnyakova, E. V. Semenova and I. A. Tikhonovich. 2015. Role of plant genotype and soil conditions in symbiotic plant-microbe interactions for adaptation of plants to cadmium-polluted soils. *Water, Air and Soil Pollution* 226(8): 264.
5. Bhandari, P. and N. Garg. 2017. Arbuscular mycorrhizal symbiosis: a promising approach for imparting abiotic stress tolerance in crop plants. PP. 377-402. *In:* Bhandari, P. and N. Garg. (Ed.), Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives. Springer, Singapore.
6. Black, C. A., A. Klute, R. H. Miller and A. L. Page. 1965. Methods of Soil Analysis: Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, USA.
7. Blum, A. and A. Ebercon. 1981. Cell memberane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science* 21: 43-47.
8. Cripps, C. L. 2003. Native mycorrhizal fungi with aspen on smelter-impacted sites in the Northern Rocky Mountains: occurrence and potential use in reclamation. *In:* Proceeding of the 9th. Natl. Meet. Am. Soc. Min. Reclam. Billings. L. Reclam. Symp. Billings, Mont. PP. 193–208.
9. Doty, S. L. 2008. Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytol* 179: 318–333.
10. Doty, S. L., C. A. James, A. L. Moore, A. Vajzovic, G. L. Singleton, C. Ma and Z. Khan. 2007. Enhanced phytoremediation of volatile environmental pollutants with transgenic trees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 16816–16821.
11. Duponnois R., M. Kisa, K. Assigbetse, Y. Prin, J. Thioulouse, M. Issartel, P. Moulin and M. Lepage. 2006. Fluorescent pseudomonads occuring in Macrotermes subhyalinus mound structures decrease Cd toxicity and improve its accumulation in sorghum plants. *Science Total Environment* 370: 391–400.
12. Fazal, A. and A. Bano. 2016. Role of plant growth-promoting rhizobacteria (pgpr), biochar, and chemical fertilizer under salinity stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 47(17): 1985-1993.
13. Garg, N. and S. Singh. 2017. Arbuscular mycorrhiza *rhizophagus irregularis* and silicon modulate growth, proline biosynthesis and yield in *cajanus cajan* l. millsp. (*pigeonpea)* genotypes under cadmium and zinc stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 1-18.

14. Gill, S. S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909–930.
15. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489–500.
16. Hartley, J., J. W. G. Cairney and A. A. Meharg. 1997. Do ectomycorrhizal fungi exhibit adaptive tolerance to potentially toxic metals in the environment? *Plant Soil* 189: 303–319.
17. Javed, M. T., M. S. Akram, K. Tanwir, H. J. Chaudhary, Q. Ali, E. Stoltz and S. Lindberg. 2017. Cadmium spiked soil modulates root organic acids exudation and ionic contents of two differentially Cd tolerant maize (*Zea mays* L.) cultivars. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 141: 216-225.
18. Kamran, M. A., S. A. M. A. S. Eqani, S. Bibi, R. K. Xu, M. F. H. Monis, A. Katsoyiannis and H. J. Chaudhary. 2016. Bioaccumulation of nickel by *E. sativa* and role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) under nickel stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 126: 256-263.
19. Kaur, N. and S. Jhanji. 2016. Effect of soil cadmium on growth, photosynthesis and quality of *Raphanus sativus* and *Lactuca sativa*. *Journal of Environmental Biology* 37(5): 993.
20. Khade, S. W. and A. Adholeya. 2009. Arbuscular mycorrhizal association in plants growing on metal-contaminated and noncontaminated soils adjoining Kanpur tanneries, Uttar Pradesh, India. *Water Air Soil Pollution* 202: 45-56
21. Khan, M. S., A. Zaidi, P. A Wani and M. Oves 2008. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environmental Chemistry Letters* 7: 1-19.
22. Mishra, V., A. Gupta, P. Kaur, S. Singh, N. Singh, P. Gehlot and J. Singh. 2016. Synergistic effects of Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria in bioremediation of iron contaminated soils. *International Journal of Phytoremediation* 18: 697-703.
23. Nadeem, S. M., M. Ahmad, Z. A. Zahir, A. Javaid and M. Ashraf. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances* 32(2): 429-448.
24. Paoletti, E., M. Schaub, R. Matyssek, G. Wieser, A. Augustaitis, A. M. Bastrup-Birk, A. Bytnerowicz, M. S. Gunthardt-Goerg, G. Muller-Starck and Y. Serengil. 2010. Advances of air pollution science: from forest decline to multiple-stress effects on forest ecosystem services. *Environmental Pollution* 158: 1986–1989.
25. Rahman, M. F., A. Ghosal, M. F. Alam and A. H. Kabir. 2017. Remediation of cadmium toxicity in field peas (*Pisum sativum* L.) through exogenous silicon. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 135: 165-172.
26. Sell, J., A. Kayser, R. Schulin and I. Brunner. 2005. Contribution of ectomycorrhizal fungi to cadmium uptake of poplars and willows from a heavily polluted soil. *Plant Soil* 277: 245–253.
27. Sharmila, P., P. K. Kumari, K. Singh, N. V. S. R. K. Prasad and P. Pardha-Saradhi. 2017. Cadmium toxicity-induced proline accumulation is coupled to iron depletion. *Protoplasma* 254(2): 763-770.
28. Smith, S. E. and D. J. Read. 1996. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press.
29. Ul Hassan, Z., S. Ali, M. Rizwan, M. Ibrahim, M. Nafees and M. Waseem., 2017. Role of Bioremediation Agents (Bacteria, Fungi, and Algae) in Alleviating Heavy Metal Toxicity. PP. 517-537. *In:* Probiotics in Agroecosystem. Springer, Singapore.
30. Yao, Q., R. Yang, L. Long and H. Zhu. 2014. Phosphate application enhances the resistance of arbuscular mycorrhizae in clover plants to cadmium via polyphosphate accumulation in fungal hyphae. *Environmental and Experimental Botany* 108: 63-70.

Journal of Water and Soil Science (Science and Technology of Agriculture and Natural Resources)
Vol. 23, No. 2, Summer 2019, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Evaluating the Effect of Cadmium on the Decline of Arizona Cypress Seedlings and the Enhancement Role of Mycorrhizal Fungus and Plant Growth Promoting Rhizobacteria

H. Aalipour[1*], A. Nikbakht[1,2], N. Etemadi[1], M. Soleimani[3] and F. Rejali[4]

(Received: October 31-2017 ; Accepted: September 23-2018)

Abstract

Trees decline is a complex physiological disease that results from the interactions between several factors, one of which is heavy metal stress that ultimately leads to the death of trees. This experiment, which was conducted during 2016-2017 at the campus facility of the Department of Horticulture at Isfahan University of Technology, was conducted to investigate the effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) (*Rhizophagus* intraradices and *Funneliformis mosseae* inoculated, and the combination of both species) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), *Pseudomonas Flourescens*, on the growth responses of Arizona cypress (*Cupressus arizonica* G) to different concentrations of cadmium (0, 5, 10, 15, 20); this was done as a factorial experiment based on a completely randomized design, with three replications. The interactions between AMF, PGPR, and cadmium on potassium and iron concentration, height, and dry weight of Arizona cypress seedlings were significant. By increasing the concentration of cadmium in most of the treatments, the colonization, phosphorus, potassium and iron concentrations, height and dry weight of the shoot Arizona cypress seedlings were decreased, while the percentage of electrolyte leakage and proline content were increased. The AMF-inoculated plants increased phosphorus, potassium and iron concentrations, Height, shoot dry weight, proline content and reduced electrolyte leakage percentage, as compared to non-mycorrhizal (control) plants. In plants inoculated with both microorganism (mycorrhizal fungi and Pseudomonas), there was a positive effect regarding the concentration of nutrients such as potassium and iron; there was also the improvement of growth characteristics such as height and dry weight of the seedlings, as well as the appearance and freshness of the plant. The results, therefore, showed that inoculation of Arizona cypress seedlings with the combination of mycorrhizal fungi and Pseudomonas fluorescens bacteria could have a positive effect on the growth and survival of this tree under Cadmium stress condition.

Keywords: Conifer seedling, Heavy metals, Landscape, Mycorrhizal infection, *Pseudomonas Fuorescence* bacteria

1. Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
2. Urban Landscape Research Group, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
3. Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
4. Soil and Water Research Institute, Meshkindasht, Karaj, Iran.

*: Corresponding Author, Email: h.ali@ag.iut.ac.ir