Archive of SID

نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد سوم، شماره دوم، ۱۳۹۲
http://ejsms.gau.ac.ir

تأثیر مایه‌زنی میکروبی یک خاک آلوده به سرب بر رشد، برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و جذب و انتقال سرب، آهن و روی توسط گل‌گندم (*Centaurea cyanus*)

***حبیب خداوردی‌لو[۱]، میرحسن رسولی‌صدقیانی[۱] و اکبر کریمی[۲]**

[۱]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه ارومیه، [۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/٦ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۳

چکیده

قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF) و باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) در افزایش رشد و بردباری گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله آلودگی خاک با فلزات مؤثرند. در این پژوهش تأثیر مایه‌زنی برخی سویه‌های AMF (ترکیبی از گونه‌های *Glomus* شامل *G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. fasciculatum*) و PGPR (ترکیبی از گونه‌های *Pseudomonas* شامل *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) در جذب و انتقال سرب، جذب آهن و روی، ارتفاع، عملکرد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گل‌گندم (*Centaurea cyanus*) در یک خاک آلوده به سرب بررسی شد. این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور غلظت سرب (در ٤ سطح) و تیمار میکروبی (در ۳ سطح) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. خاک با غلظت‌های صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم، آلوده و سپس استریل و با AMF یا PGPR مایه‌زنی شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک، رشد گیاه، غلظت آهن و روی در شاخساره، مقادیر کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها و محتوای نسبی آب برگ کاهش و مقادیر پرولین و غلظت سرب در گیاه افزایش یافت. مایه‌زنی میکروبی موجب افزایش معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) رشد گیاه، جذب و انتقال سرب، آهن و روی و بهبود جذب و نگهداری آب توسط گیاه و افزایش درون‌داشت رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و پرولین گیاه شد. میانگین ماده خشک شاخساره در تیمارهای AMF و PGPR به‌ترتیب بیش از ۲ و ۱/۲ برابر تیمارهای مشابه شاهد بود. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مایه‌زنی میکروبی موجب بهبود رشد و افزایش بردباری گیاه به سمیت سرب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، پاسخ گیاه، سمیت سرب، شاخص‌های فیزیولوژیکی، فلزات سنگین، قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار

* مسئول مکاتبه: h.khodaverdiloo@urmia.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

فلزات سنگین از جمله آلاینده‌های محیط زیست هستند که از راه‌های مختلف وارد خاک می‌شوند. این فلزات به‌طور بیولوژیکی تجزیه‌ناپذیر بوده و مدت زمانی طولانی در خاک باقی می‌مانند (کرمی و ذولکیفلی، ۲۰۱۰). فلزات سنگین در خاک از عوامل محدودکننده رشد گیاهان بوده و می‌تواند منجر به کاهش کمی و کیفی محصولات کشاورزی و در حالت‌های شدید نابودی تنوع گیاهی در مناطق آلوده گردد (خان، ۲۰۰۵). سرب عنصری ضروری برای رشد و نمو گیاه نیست، با این وجود توسط گیاهان جذب می‌شود و به این ترتیب گیاه در معرض آلودگی به آن قرار می‌گیرد. در این حالت افزون بر آسیب‌هایی که به خود گیاه می‌رسد انسان‌ها و دام‌هایی که از این گیاه تغذیه می‌کنند نیز در خطر آلودگی به سرب قرار می‌گیرند (کنکی و همکاران، ۲۰۱۰).

سرب موجب مسمومیت گیاه و ایجاد اختلال در سیستم فیزیولوژیکی گیاهان می‌شود. نتایج مطالعات نشان داده که تنش آلودگی سرب در گیاهان سبب کاهش سرعت جوانه‌زدن، کاهش جذب برخی عناصر مانند آهن و در نتیجه کلروزه شدن برگ‌ها، کاهش فتوسنتز، کاهش تولید کلروفیل (کنکی و همکاران، ۲۰۱۰)، کاهش عملکرد گیاه، آسیب کلروپلاست (گئورگیوا و تاسو، ۱۹۹۷) کاهش فعالیت‌های درون‌سلول، کاهش جذب عناصر غذایی و هم‌چنین ایجاد اختلال در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های ضروری در گیاه می‌گردد (لاربی و همکاران، ۲۰۰۳). یکی از دلایل سمیت سرب در گیاهان تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌باشد. این گونه‌ها سبب تخریب آمینواسیدها، پروتئین‌ها، نوکلئیک اسیدها و تحریک پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌گردد (شارما و دیوبی، ۲۰۰۵).

قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار (AMF) از میکروارگانیسم‌های مفید خاک هستند که هم‌زیستی متقابل آن‌ها با گیاهان، در بیش‌تر زیستگاه‌ها و اقلیم‌ها و حتی در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین رخ می‌دهد (چن و همکاران، ۲۰۰۶). AMF به‌دلیل داشتن شبکه ریسه‌ای گسترده و افزایش سطح جذب ریشه، جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه عناصر کم‌تحرک مانند فسفر را می‌افزایند (مارچنر و رامهلد، ۱۹۹۵). از دیگر ویژگی‌های این قارچ‌ها تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند اکسین، سیتوکینین و آبسیزیک اسید و نیز محافظت ریشه گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا می‌باشد (آووتوی و همکاران، ۲۰۰۹). AMF رشد و سلامتی گیاه را به‌وسیله بهبود تغذیه معدنی و یا افزایش بردباری به تنش‌های فلزات سنگین بهبود می‌بخشند (گونزالز- چاوز و همکاران، ۲۰۰۴؛ کریمی و همکاران، ۲۰۱۱). برای مثال

1- Reactive Oxygen Species

www.SID.ir

Archive of SID

ژانگ و همکاران (۲۰۱۰) افزایش چشم‌گیر عملکرد گیاه باقلا در خاک‌های آلوده به سرب را در اثر مایه‌زنی با قارچ‌ریشه *G. mosseae* گزارش کردند.

باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) گروه دیگری از میکروارگانیسم‌های مفید خاک می‌باشند. این باکتری‌ها در ریزوسفر گیاهان با راه‌کارهای مختلفی از جمله تولید انواع ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و هورمون‌های گیاهی، تولید سیدروفورها و هم‌چنین تولید آنزیم ACC دآمیناز، رشد و عملکرد گیاهان را می‌افزایند (ما و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده افزودن PGPR به خاک‌های آلوده به فلزات سنگین می‌تواند تا حدودی اثرات تنش را کاهش داده و به رشد و عملکرد گیاهان در این خاک‌ها کمک کند (گلیک، ۲۰۰۳؛ خان، ۲۰۰۵). برای مثال گری‌گوریو و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند مایه‌زنی باکتری *Sinorhizobium sp.* سبب افزایش بردباری گیاه خردل هندی در خاک‌های آلوده به سرب می‌شود.

سمیت سرب در گیاهان سبب ایجاد اختلال در جذب عناصر غذایی، رژیم آبی گیاه و سیستم فیزیولوژیکی گیاهان می‌شود. تاکنون در مطالعات مختلفی تأثیر مایه‌زنی میکروبی در افزایش جذب فلزات سنگین انجام شده است در حالی‌که در زمینه تأثیر مایه‌زنی میکروبی در ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاهان، در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مطالعات چندانی انجام نشده است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تأثیر مایه‌زنی میکروب‌های AMF (شامل ترکیبی از زادمایه قارچ‌ریشه‌های گلوموس *G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. fasciculatum*) و PGPR (شامل ترکیبی از زادمایه باکتری‌های سودوموناس *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) در جذب و انتقال سرب، جذب آهن و روی، ارتفاع، عملکرد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گل‌گندم (*Centaurea cyanus*) در یک خاک آلوده به سرب بود.

مواد و روش‌ها

خاک مورد نیاز از سری Fine, mixed, mesic Typic Halaquepts Inceptisols واقع در استان آذربایجان‌غربی نمونه‌برداری شد. این خاک پس از هوا- خشک شدن به دو بخش تقسیم گردید. در بخش کوچک‌تر از ۲ میلی‌متر، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (کارتر و گری‌گوریچ، ۲۰۰۸). بخش بزرگ‌تر از ۵ میلی‌متری با غلظت‌های مختلف سرب شامل صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلوده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

ابتدا مقدار لازم نیترات سرب $Pb(NO_3)_2$ برای آلوده کردن ۱ کیلوگرم خاک، محاسبه و پس از افزودن به خاک، کاملاً با آن مخلوط گردید تا پیش‌ماده‌ای همگن به‌دست آید. نیتروژن افزوده شده به خاک توسط نمک نیترات سرب، با افزودن مقادیر محاسبه شده اوره به تیمارهای مختلف تصحیح شد. این پیش‌ماده آلوده سپس به‌طور کامل با توده خاک مخلوط گردید. بر پایه مطالعات پیشین (خداوردی‌لو و همکاران، ۲۰۱۲)، خاک آلوده به‌مدت ۵ ماه در معرض تناوب‌های تر و خشک شدن و به‌مدت ۱۸ ماه دیگر در شرایط هواخشک قرار گرفت تا توزیع سرب در خاک به شرایط آلودگی درازمدت و طبیعی نزدیک‌تر شود. نمونه‌های خاک آلوده شده پس از الک کردن در اتوکلاو در دو نوبت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ بار در داخل کیسه‌های کنفی استریل شدند. گلدان‌ها نیز با الکل، استریل سطحی شدند. خاک‌های استریل در گلدان‌هایی با ظرفیت تقریبی ۲/۵ کیلوگرم ریخته شدند. برای اعمال تیمار AMF، قبل از کشت در زیر بذرها مقدار ۲۵ گرم از زادمایه به‌صورت لایه‌ای به ضخامت تقریبی ۲ سانتی‌متر اضافه شد. تیمار AMF ترکیبی از زادمایه قارچ‌ریشه‌های جنس ***Glomus*** (گونه‌های ***intraradices***، ***mosseae*** و ***fasciculatum***) بود. تعداد کل اسپورهای قارچی زادمایه، ۲۵۰ اسپور در هر ۵۰ گرم زادمایه بود. برای اعمال تیمار PGPR، ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع Nutrient Broth شامل باکتری‌ها به گلدان‌ها مایه‌زنی گردید. تیمار باکتریایی شامل ترکیبی از باکتری‌های سودوموناس فلورسنت (گونه‌های ***P. putida***، ***P. fluorescens*** و ***P. aeruginosa***) بود که به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور در محیط کشت مایع Nutrient Broth رشد کرده بودند. جمعیت این باکتری‌ها حدود $(CFU\ ml^{-1})$ $۲/٦\times۱۰^{۸}$ بود. گونه‌های قارچ و باکتری از بانک میکروبی بخش بیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند. این پژوهش در شرایط گلخانه به‌صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور غلظت سرب (در ٤ سطح) و تیمار میکروبی (در ۳ سطح) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد.

پس از اعمال تیمارها و رساندن رطوبت گلدان‌ها به ظرفیت زراعی، در هر گلدان ۸-٦ بذر گیاه گل‌گندم با فواصل منظم در گلدان‌های موردنظر کشت گردید. پس از جوانه زدن بذرها، بوته‌های سالم‌تر و قوی‌تر نگه‌داری شدند. پس از آبیاری گلدان‌ها تا حد ظرفیت زراعی، وزن هر گلدان بر روی آن یادداشت شد تا در مراحل بعدی از هر گونه تنش رطوبتی جلوگیری گردد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای حداقل ۱۵ و حداکثر ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در پایان ماه پنجم رشد، ارتفاع گیاهان اندازه‌گیری و بخش هوایی گیاهان از رویه خاک بریده شدند. شاخساره‌های گیاهان پس

www.SID.ir

Archive of SID

از شستشو با آب مقطر، به‌مدت ۷۲ ساعت در آون و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس، نمونه‌ها برای تعیین عملکرد ماده خشک توزین و با آسیاب برقی با محفظه تمام استیل آسیاب شدند. نمونه‌های آسیاب شده تا زمان عصاره‌گیری در ظروف پلاستیکی (که قبلاً با اسید رقیق شسته شده بودند) نگهداری شدند. برای ارزیابی اثرات آلودگی سربی خاک و مایه‌زنی AMF و PGPR بر عملکرد ماده خشک گیاه، عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره آن نیز با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$RY = \frac{Y_i}{Y_.} \qquad (۱)$$

که در آن، RY: عملکرد نسبی گیاه، Y_i: عملکرد ماده خشک گیاه در هر تیمار و $Y_.$: عملکرد ماده خشک گیاه در شرایط بدون سرب و در تیمارشاهد (بدون مایه‌زنی با میکروب‌ها) است.

در این پژوهش از روش اکسیداسیون تر برای عصاره‌گیری سرب، آهن و روی کل از گیاه استفاده شد (گیوپتا، ۲۰۰۰) و غلظت سرب، آهن و روی با دستگاه جذب اتمی اسپکترومتری (Shimadzu6300 AA) اندازه‌گیری شد. به‌منظور بررسی تأثیر تنش سرب در گیاه و هم‌چنین تأثیر AMF و PGPR در این زمینه مقادیر ویژگی‌های فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها (کاروتن و گزانتوفیل) از روش لیچن‌تالر و ولبرن (۱۹۸۵) و برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتز و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. هم‌چنین برای اندازه‌گیری RWC از روش یانوملو و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد و با استفاده از رابطه ۲ برای محاسبه مقدار RWC استفاده شد:

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times ۱۰۰ \qquad (۲)$$

که در آن، FW: وزن تر برگ، DW: وزن خشک برگ، TW: وزن برگ پس از تورژسانس و RWC: محتوای نسبی آب برگ بر حسب درصد می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک: جدول ۱ برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه را نشان می‌دهد. این خاک دارای بافتی متوسط، pH آن در محدوده خاک‌های آهکی، کمی شور، غیرسدیمی و با توجه به حدود مجاز گزارش شده در منابع (کارینی، ۱۹۹۵)، غیرآلوده به فلزات سنگین بود.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد مطالعه.

ویژگی	واحد	مقدار
شن	(درصد)	۳۲/۳
سیلت		٤۰/۳
رس		۲۷/٤
مواد آلی		۲/٦۹
کلاس بافتی خاک		لوم
ظرفیت تبادل کاتیونی	($cmol_c kg^{-1}$)	۲۲/۱
هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک	(دسی‌زیمنس بر متر)	۲/۵
سدیم تبادلی	(درصد)	۳
کربنات کلسیم معادل		۳۰/۵
pH		۸/۱
کلسیم محلول	(میلی‌گرم بر لیتر)	۱/۲
منیزیم محلول		۰/٤
سدیم محلول		۲۳/۸
پتاسیم محلول		۰/۰
کربنات محلول		۰/۸
بی‌کربنات محلول		۵/٦
کلر محلول		۱۵/۲
سولفات محلول		۳/۸
کل سرب	(میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲۱/٤۲
کل کادمیم		۱/٤۷
کل آهن		۲۹۵/۵
کل روی		٦۲
کل مس		۱٤/۱۱

www.SID.ir

Archive of SID

مقادیر کلروفیل‌ها و کاروتنوئید: با افزایش غلظت سرب در خاک مقادیر کلروفیل‌های a، b و کل کاهش یافت (جدول ۲). در تیمارهای شاهد و PGPR این کاهش در تمام غلظت‌های سرب در خاک معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) بود. اما در تیمار AMF کاهش مقادیر کلروفیل‌های a و b در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) نبود. مقادیر کلروفیل‌ها در تمامی سطوح سرب در تیمارهای AMF و PGPR به‌طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود. مقادیر کاروتنوئیدها نیز در همه تیمارها با افزایش غلظت سرب در خاک کاهش یافت. این کاهش در تیمار شاهد در تمامی سطوح سرب در خاک معنی‌دار بود. اما در تیمارهای AMF و PGPR کاهش مقدار کاروتنوئیدها تنها در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک معنی‌دار بود. مقادیر کاروتنوئیدها در تمامی غلظت‌های سرب در تیمارهای AMF و PGPR در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) بیش‌تر بود. کاهش مقدار کاروتنوئیدها احتمالاً به‌دلیل فروپاشی ساختار آن‌ها در اثر سمیت سرب بود (پراساد و استرازالکا، ۱۹۹۹؛ شارما و دیوبی، ۲۰۰۵).

سرب می‌تواند در حلقه پورفیرینی کلروفیل جانشین منیزیم شود و به این ترتیب مقدار کلروفیل‌ها را کاهش دهد (شارما و دیوبی، ۲۰۰۵). نتایج مطالعات نشان داده در شرایط تنش فلزات سنگین گلوتامات که پیش‌ماده تولید کلروفیل است، به‌سمت تولید پرولین می‌رود (پراساد و استرازالکا، ۱۹۹۹). از طرف دیگر بیش‌تر بودن کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در تیمارهای AMF و PGPR نسبت به تیمار شاهد، احتمالاً به‌دلیل افزایش جذب عناصر غذایی مؤثر در فتوسنتز و تولید کلروفیل به‌ویژه فسفر و در نتیجه فراهم نمودن فسفر به‌عنوان حامل انرژی در فتوسنتز و هم‌چنین افزایش جذب منیزیم و آهن باشد (دمیر، ۲۰۰٤). نتایجی مشابه با این نتایج توسط برخی پژوهش‌گران گزارش شده است. برای مثال پونامیا و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند مایه‌زنی قارچ‌ریشه *G. mosseae* در خاک آلوده به سرب سبب افزایش مقدار کلروفیل‌های گیاهان علفی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه میانگین ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه در سطوح مختلف سرب در خاک در تیمارهای شاهد، PGPR و AMF

کل سرب افزوده شده به خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	شاهد	AMF	PGPR
	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم FW)		
۰	۰/۹٤ ± ۰/۰۳^{a,b}	۱/۱۱ ± ۰/۰۵^{a,a}	۱/۰۸ ± ۰/۰۳^{a,a}
۲۵۰	۰/۸۸ ± ۰/۰٤^{b,b}	۱/۰۳ ± ۰/۰۲^{b,a}	۱/۰٤ ± ۰/۰۳^{a,a}
۵۰۰	۰/۸۱ ± ۰/۰۳^{c,c}	۰/۹۳ ± ۰/۰۳^{c,b}	۰/۹۹ ± ۰/۰۱^{b,a}
۱۰۰۰	۰/۷۸ ± ۰/۰۳^{c,c}	۰/۸۳ ± ۰/۰٤^{d,b}	۰/۹۲ ± ۰/۰۱^{c,a}
	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم FW)		
۰	۰/۷٤ ± ۰/۰٦^{b,c}	۰/۹۲ ± ۰/۰۸^{a,a}	۰/۸۵ ± ۰/۰۳^{a,bc}
۲۵۰	۰/٦۲ ± ۰/۰۳^{b,a}	۰/۷٦ ± ۰/۰۸^{ab,a}	۰/۷۸ ± ۰/۰۷^{a,a}
۵۰۰	۰/۵٤ ± ۰/۰۸^{a,b}	۰/٦۷ ± ۰/۰۳^{b,a}	۰/۷۰ ± ۰/۰۹^{a,a}
۱۰۰۰	۰/٤٦ ± ۰/۰۱^{c,a}	۰/۵۵ ± ۰/۰۵^{c,a}	۰/۵٦ ± ۰/۰۲^{b,a}
	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم FW)		
۰	۱/٦۸ ± ۰/۰٦^{a,b}	۲/۰۳ ± ۰/۰۷^{a,a}	۱/۹۲ ± ۰/۰۲^{a,a}
۲۵۰	۱/۵۱ ± ۰/۰۸^{b,b}	۱/۷۸ ± ۰/۰۹^{b,a}	۱/۸۲ ± ۰/۰۲^{b,a}
۵۰۰	۱/٤۱ ± ۰/۰۷^{b,b}	۱/٦۰ ± ۰/۰۱^{c,a}	۱/۷۰ ± ۰/۰۲^{c,a}
۱۰۰۰	۱/۲٤ ± ۰/۰۵^{c,b}	۱/۳۸ ± ۰/۰٦^{d,ab}	۱/٤۸ ± ۰/۰۷^{d,a}
	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم FW)		
۰	۰/٦٦ ± ۰/۰۱^{a,a}	۰/۷٤ ± ۰/۰۵^{a,a}	۰/۷۸ ± ۰/۰۲^{a,a}
۲۵۰	۰/۵۷ ± ۰/۰۳^{a,a}	۰/۷۱ ± ۰/۰٤^{ab,a}	۰/۷٤ ± ۰/۰٤^{a,a}
۵۰۰	۰/۵٤ ± ۰/۰۳^{a,a}	۰/۶۹ ± ۰/۰۱^{ab,a}	۰/۷۰ ± ۰/۰٤^{a,a}
۱۰۰۰	۰/٤٤ ± ۰/۰۱^{a,a}	۰/٦٤ ± ۰/۰٤^{b,a}	۰/٦۸ ± ۰/۰۲^{a,a}
	RWC (درصد)		
۰	٦۸/۲۷ ± ۳/۳۵^{a,a}	۷٤/۸۷ ± ۷/٦٦^{a,a}	۷٦/۰٦ ± ٦/۵۳^{a,a}
۲۵۰	٦٤/۲۸ ± ۳/۸۳^{ab,b}	۷۲/٦۷ ± ۲/۷۰^{a,a}	۷۵/۸۲ ± ٤/۷۰^{a,a}
۵۰۰	۵۸/۳۵ ± ۳/۳۸^{ab,b}	٦۸/۹۱ ± ۰/٦۳^{a,a}	۷۲/۲۸ ± ٤/۰۹^{a,a}
۱۰۰۰	۵۰/۵۷ ± ۲/۲۸^{b,b}	٦۷/۰۹ ± ٤/۷۲^{a,a}	۷۱/۲۷ ± ٤/۸۲^{a,a}
	پرولین (میکرومول بر گرم DW)		
۰	۰/۷۵ ± ۰/۰٦^{a,a}	۰/۸٦ ± ۰/۱۸^{a,a}	۰/۹۱ ± ۰/۱۲^{a,a}
۲۵۰	۱/۳۹ ± ۰/۱۳^{b,c}	۲/۱۹ ± ۰/۳٤^{b,b}	۳/۰۵ ± ۰/۰۹^{b,a}
۵۰۰	۲/۱۸ ± ۰/۱۲^{c,c}	۳/۲۹ ± ۰/۲۳^{c,b}	٤/٤٤ ± ۰/۲۳^{c,a}
۱۰۰۰	۳/۳۱ ± ۰/۱۱^{d,c}	٤/۵٦ ± ۰/۵۵^{d,b}	۵/۵۸ ± ۰/۱۵^{d,a}

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به‌ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P\leq$۰/۰۵) در هر ردیف و هر ستون می‌باشند. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) ندارند.

اعداد مقابل داده‌ها انحراف معیار داده‌ها در ۳ تکرار را نشان می‌دهند.

www.SID.ir

Archive of SID

شاخص محتوای نسبی آب برگ (RWC)[1] و پرولین: با افزایش غلظت سرب در خاک مقدار RWC در همه تیمارها کاهش یافت (جدول ۲). هر چند که این کاهش تنها در تیمار شاهد معنی‌دار (P≤۰/۰۵) بود. در مقایسه میان تیمارها نیز مقدار RWC گیاه در تیمارهای AMF و PGPR نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) بیش‌تر بود. در حالی‌که اختلاف میان تیمارهای مایه‌زنی شده معنی‌دار (P≤۰/۰۵) نبود (جدول ۲). سرب در گیاه می‌تواند با کاهش اندازه و تعداد سلول‌های نگهبان روزنه، کاهش انتقال آب به برگ‌ها و کاهش سطح برگ، آسیب دیواره سلولی و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ و بروز تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلول‌های گیاه، RWC برگ را کاهش دهد (کنکی و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج مطالعات نشان داده که AMF و PGPR می‌توانند با کاهش مقدار اتیلن و توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه، جذب آب و ظرفیت نگه‌داری آب توسط گیاه را در خاک‌های آلوده به سرب بیافزایند (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰).

با افزایش غلظت سرب در خاک مقدار پرولین در گیاه گل‌گندم در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) افزایش یافت (جدول ۲). اختلاف میان مقدار پرولین در تیمارهای مختلف، در غلظت صفر معنی‌داری (P≤۰/۰۵) نبود. این در حالی است مقدار پرولین در غلظت‌های بالای سرب (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمارهای AMF و PGPR به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد بود. (P≤۰/۰۵) بود. هم‌چنین در این سطوح سرب مقدار پرولین در تیمار AMF نسبت به تیمار PGPR به‌طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) بیش‌تر بود. به‌طورکلی روند تغییر مقادیر پرولین در تیمارها در تمامی سطوح سرب به این ترتیب بود: PGPR<AMF> شاهد (جدول ۲). راه‌کار بیش‌تر گیاهان در واکنش به تنش فلزات سنگین افزایش تولید پرولین می‌باشد. تحریک تولید پرولین از گلوتامیک اسید و افزایش مقدار آن در گیاه در خاک‌های آلوده به سرب توسط پژوهش‌گران مختلفی گزارش شده است (آندرید و همکاران، ۲۰۰۹؛ اسکالر، ۲۰۰۳؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰). تولید بیش‌تر پرولین در تیمارهای AMF و PGPR نسبت به تیمار شاهد احتمالاً به‌دلیل تولید هورمون آبسیزیک اسید توسط این میکروارگانیسم‌ها است، زیرا این هورمون

1- Relative Water Content

www.SID.ir

Archive of SID

تولید اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین را افزایش می‌دهد و سازش با تنش را بهبود می‌بخشد (میونس و همکاران، ۲۰۰۲). بیش‌تر بودن پرولین در تیمارهای مایه‌زنی شده با میکروب‌ها نسبت به تیمار شاهد می‌تواند نشان‌دهنده افزایش سازگاری گیاه به تنش سرب در اثر مایه‌زنی با AMF و PGPR باشد.

ارتفاع و عملکرد گیاه: با افزایش غلظت سرب در خاک ارتفاع، عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره گیاه در همه تیمارها کاهش یافت (جدول ۳). البته در تیمارهای شاهد و AMF بر خلاف تیمار PGPR کاهش این شاخص‌ها در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) نبود. این احتمالاً به‌دلیل غلظت بیش‌تر سرب در شاخساره گیاه در تیمار AMF نسبت به تیمارهای شاهد و AMF بود. ارتفاع، عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره گل‌گندم در تمامی سطوح سرب در خاک، در تیمار AMF و PGPR به‌طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) بیش‌تر از تیمار شاهد بود. به‌طورکلی مقادیر ارتفاع، عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره گیاه در سطوح مختلف سرب در خاک به این ترتیب بود: PGPR<AMF> شاهد. مقایسه میانگین داده‌های مربوط به عملکرد ماده خشک ریشه نیز نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک مقادیر عملکرد ریشه نیز همانند عملکرد شاخساره به‌طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) کاهش یافت (جدول ۳). عملکرد و عملکرد نسبی ماده خشک ریشه در سطوح مختلف سرب در خاک به این ترتیب بود: PGPR<AMF> شاهد. البته اختلاف میان تیمارها معنی‌دار نبود. سرب عنصری بسیار سمی برای گیاهان است و با تخریب سلول‌ها، ایجاد اختلال در سیستم فیزیولوژیکی گیاهان و نیز کاهش جذب آب و برخی عناصر غذایی، رشد و عملکرد گیاهان را می‌کاهد (شارما و دیوبی، ۲۰۰۵). سرب در گیاهان با کاهش فعالیت آنزیم‌های چرخه کلوین و چرخه کربس به‌ترتیب سبب کاهش فتوسنتز و تنفس سلولی می‌شود (شارما و دیوبی، ۲۰۰۵). به این دلایل با افزایش غلظت سرب در خاک و به‌دنبال آن افزایش غلظت سرب در شاخساره گیاه رشد و عملکرد ماده خشک شاخساره گیاه کاهش یافت. سرب از تقسیم سلول‌های مریستمی و رشد سلول‌های ریشه جلوگیری کرده و عملکرد ریشه گیاهان را کاهش می‌دهد. هم‌چنین سرب قابلیت ارتجاع دیواره سلولی ریشه را کاهش داده و موجب کاهش رشد ریشه گیاهان می‌شود (کنکی و همکاران، ۲۰۱۰). دلیل این‌که

www.SID.ir

Archive of SID

عملکرد گیاه در تیمارهای AMF و PGPR نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بود، این است که AMF و PGPR می‌توانند رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به سرب از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، تولید هورمون‌های افزاینده رشد گیاه و تأثیر بر ترشحات ریشه بیافزایند (ویواس و همکاران، ۲۰۰۳).

غلظت روی، آهن و سرب: غلظت آهن و روی در شاخساره گیاه با افزایش غلظت سرب در خاک در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) کاهش یافت (جدول ۳). غلظت آهن و روی در شاخساره گل‌گندم در تیمارهای مختلف به این ترتیب بود: AMF<PGPR< شاهد. کاهش غلظت آهن و روی با افزایش غلظت سرب نشان‌دهنده اثرات آنتاگونیستی سرب بر جذب و انتقال این عناصر توسط گیاه می‌باشد که توسط برخی پژوهش‌گران نیز گزارش شده است (شارما و دیوبی، ۲۰۰۵). با وجود بیش‌تر بودن رشد و عملکرد گیاه (جدول ۳) در تیمارهای PGPR و AMF در سطوح مختلف سرب نسبت به سطوح مشابه غلظت سرب در تیمار شاهد و وجود اثر رقت (dilution effect)، غلظت آهن و روی در شاخساره گیاه افزایش یافت. که این نتایج نشان می‌دهد PGPR و AMF نقش بسیار مهمی در افزایش جذب آهن و روی توسط این گیاه دارند. PGPR می‌توانند با تولید ترکیباتی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، اسید هیدروسیانید و اکسین به‌ویژه سیدروفور، حلالیت و زیست‌فراهمی آهن و روی را افزایش دهند (یان- دی و همکاران، ۲۰۰۷). باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش دارای توانایی تولید سیدروفور، ترشح هورمون اکسین، انحلال فسفات‌های نامحلول و هم‌چنین آنزیم ACC دآمیناز بودند (رسولی‌صدقیانی و همکاران، ۲۰۰۶). AMF نیز به‌دلیل داشتن شبکه هیفی گسترده می‌توانند فراهمی و در نتیجه جذب عناصر آهن و روی توسط گیاه را افزایش دهند (مارچنر و رامهلد، ۱۹۹۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسه میانگین ارتفاع، عملکرد و عملکرد نسبی ریشه و شاخساره و غلظت آهن و روی شاخساره گیاه، در سطوح مختلف سرب در خاک، در تیمارهای شاهد، PGPR و AMF.

کل سرب افزوده شده به خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	شاهد	AMF	PGPR
	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)		
۰	۱۸/۲ ± ۰/۵۳^{a,c}	۲۲/۹ ± ۰/۴۳^{a,b}	۲۶/۴ ± ۰/۶۱^{a,a}
۲۵۰	۱۵/۶ ± ۰/۶۲^{b,c}	۲۰/۱ ± ۰/۹۱^{b,b}	۲۴/۲ ± ۱/۰۱^{b,a}
۵۰۰	۱۲/۱ ± ۰/۶۵^{c,c}	۱۶/۲ ± ۰/۹۰^{c,b}	۲۲/۳ ± ۰/۵۳^{c,a}
۱۰۰۰	۸/۶ ± ۰/۶۵^{d,c}	۱۲/۴ ± ۰/۹۸^{d,b}	۲۰/۱ ± ۰/۶۵^{d,a}
	عملکرد ماده خشک شاخساره ($g\ pot^{-1}$)		
۰	۳/۶۶ ± ۰/۲۲^{a,c}	۴/۵۱ ± ۰/۲۱^{a,b}	۶/۶۷ ± ۰/۳^{a,a}
۲۵۰	۳/۳۲ ± ۰/۱۸^{a,c}	۳/۹۵ ± ۰/۱۴^{b,b}	۶/۴۱ ± ۰/۱۶^{a,a}
۵۰۰	۲/۳۹ ± ۰/۲۵^{b,c}	۳/۱۹ ± ۰/۰۶^{c,b}	۶/۰۷ ± ۰/۱۲^{b,a}
۱۰۰۰	۱/۴۱ ± ۰/۲۳^{b,c}	۱/۶۵ ± ۰/۰۶^{d,b}	۲/۷۳ ± ۰/۰۸^{c,a}
	عملکرد نسبی ماده خشک شاخساره ($g\ pot^{-1}$)		
۰	۱/۰۰ ± ۰/۰۶^{a,c}	۱/۲۳ ± ۰/۰۷^{a,b}	۱/۸۲ ± ۰/۰۴^{a,a}
۲۵۰	۰/۹۱ ± ۰/۰۵^{a,c}	۱/۰۸ ± ۰/۰۴^{b,b}	۱/۷۵ ± ۰/۰۴^{a,a}
۵۰۰	۰/۶۵ ± ۰/۰۶^{b,c}	۰/۸۷ ± ۰/۰۱^{c,b}	۱/۳۸ ± ۰/۰۵^{b,a}
۱۰۰۰	۰/۳۸ ± ۰/۰۹^{c,b}	۰/۴۵ ± ۰/۰۷^{d,b}	۰/۷۵ ± ۰/۰۵^{c,a}
	عملکرد ماده خشک ریشه ($g\ pot^{-1}$)		
۰	۱/۰۶ ± ۰/۱۱^{a,a}	۱/۲۲ ± ۰/۱۸^{a,a}	۱/۳۸ ± ۰/۲۳^{a,a}
۲۵۰	۰/۹۵ ± ۰/۱۴^{ab,a}	۱/۰۶ ± ۰/۰۹^{ab,a}	۱/۲۶ ± ۰/۱۵^{ab,a}
۵۰۰	۰/۷۷ ± ۰/۰۹^{bc,a}	۰/۹۳ ± ۰/۱۲^{ab,a}	۱/۰۸ ± ۰/۰۶^{ab,a}
۱۰۰۰	۰/۶۸ ± ۰/۱۲^{c,a}	۰/۷۶ ± ۰/۰۹^{b,a}	۰/۹۴ ± ۰/۰۹^{b,a}
	عملکرد نسبی ماده خشک ریشه ($g\ pot^{-1}$)		
۰	۱/۰۰ ± ۰/۱۱^{a,a}	۱/۱۵ ± ۰/۱۸^{a,a}	۱/۳۰ ± ۰/۲۳^{a,a}
۲۵۰	۰/۹۰ ± ۰/۱۴^{ab,a}	۱/۰۰ ± ۰/۰۹^{ab,a}	۱/۱۸ ± ۰/۱۵^{ab,a}
۵۰۰	۰/۷۳ ± ۰/۰۹^{bc,b}	۰/۸۷ ± ۰/۱۲^{ab,ab}	۱/۰۲ ± ۰/۰۶^{ab,a}
۱۰۰۰	۰/۶۴ ± ۰/۱۲^{c,a}	۰/۷۲ ± ۰/۰۹^{b,a}	۰/۸۹ ± ۰/۰۹^{b,a}
	غلظت آهن شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		
۰	۱۲۰/۱۲ ± ۴/۱۶^{a,c}	۱۴۹/۵۳ ± ۳/۷۲^{a,a}	۱۳۱/۰۴ ± ۵/۴۵^{a,b}
۲۵۰	۹۱/۵۶ ± ۲/۴۴^{b,c}	۱۲۶/۷۸ ± ۱/۹۴^{b,a}	۱۱۰/۱۷ ± ۵/۴۶^{b,b}
۵۰۰	۷۱/۸۸ ± ۳/۸۵^{c,c}	۱۰۲/۹۶ ± ۳/۰۱^{c,a}	۸۹/۰۳ ± ۶/۲۴^{c,b}
۱۰۰۰	۵۷/۰۶ ± ۶/۲۸^{d,b}	۸۹/۲۸ ± ۴/۷۵^{d,a}	۶۴/۹۱ ± ۱۰/۶۵^{d,b}
	غلظت روی شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		
۰	۴۱/۷۱ ± ۱/۱۱^{a,b}	۵۳/۵۹ ± ۴/۳۸^{a,a}	۴۸/۰۰ ± ۳/۱۸^{a,ab}
۲۵۰	۳۲/۹۵ ± ۲/۶۰^{b,b}	۴۴/۷۹ ± ۱/۷۳^{b,a}	۴۱/۲۸ ± ۵/۰۷^{a,ab}
۵۰۰	۲۵/۱۱ ± ۱/۹۸^{c,b}	۳۸/۶۵ ± ۵/۴۱^{bc,a}	۳۰/۸۸ ± ۲/۹۳^{b,ab}
۱۰۰۰	۱۶/۸۲ ± ۲/۶۶^{d,b}	۲۳/۰۸ ± ۴/۱۵^{c,a}	۲۳/۸۹ ± ۱/۶۱^{b,b}

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به‌ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P\leq۰/۰۵$) در هر ردیف و هر ستون می‌باشند.
میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P\leq۰/۰۵$) ندارند.
اعداد مقابل داده‌ها انحراف معیار داده‌ها در ۳ تکرار را نشان می‌دهند.

www.SID.ir

Archive of SID

با افزایش غلظت سرب در خاک، غلظت سرب در شاخساره گل‌گندم در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) افزایش یافت (جدول ٤). استفاده از زادمایه AMF و PGPR سبب افزایش معنی‌دار (P≤۰/۰۵) غلظت سرب در شاخساره گیاه گل‌گندم نسبت به تیمار شاهد شد. غلظت سرب در شاخساره گیاه در تیمار PGPR در همه سطوح سرب در خاک، به‌طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) بیش‌تر از تیمار AMF بود. ترتیب میان غلظت سرب در شاخساره گیاه این گونه بود: AMF<PGPR< شاهد. غلظت سرب در ریشه گیاه نیز با افزایش غلظت سرب در خاک در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) افزایش یافت. در غلظت صفر سرب در خاک اختلاف میان غلظت سرب در ریشه گیاه در تیمارها معنی‌دار (P≤۰/۰۵) نبود. اما در غلظت‌های بالا (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک) غلظت سرب در ریشه، در تیمارهای AMF و PGPR به‌طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) بیش‌تر از تیمار شاهد بود. غلظت سرب در ریشه گل‌گندم در تیمارهای مختلف به این ترتیب بود: PGPR<AMF< شاهد.

نتایج این پژوهش نشان داد که با وجود بیش‌تر بودن غلظت سرب در گیاه گل‌گندم در تیمارهای AMF و PGPR، (جدول ٤) عملکرد گیاه نیز در این تیمارها نسبت به تیمار شاهد (جدول ۳) بیش‌تر بود. بنابراین به‌نظر می‌رسد AMF و PGPR می‌توانند آستانه تحمل گیاه به سمیت سرب را افزایش دهند. یکی از دلایل این موضوع احتمالاً جذب بیش‌تر عناصر غذایی ضروری توسط گیاه باشد (چن و همکاران، ۲۰۰٦). زیرا یکی از دلایل کاهش عملکرد گیاهان در خاک‌های آلوده به سرب، کاهش جذب عناصر غذایی ضروری توسط گیاهان است. ریسه‌های AMF نسبت به ریشه‌های گیاهان، در برابر تنش فلزات سنگین، حساسیت کم‌تری دارند، بنابراین گسترش ریسه‌ها و جذب آب و عناصر غذایی، رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش می‌دهد (جونر و لیوال، ۱۹۹۷). نتایج مشابهی نیز توسط بسیاری از پژوهش‌گران گزارش شده است. برای مثال پونامیا و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند مایه‌زنی قارچ *G. mosseae* سبب افزایش رشد و عملکرد گیاهان علفی در خاک‌های آلوده به سرب می‌شود. هم‌چنین ژانگ و همکاران (۲۰۱۰) با انجام پژوهشی دریافتند مایه‌زنی قارچ‌های *Glomus* سبب افزایش چشم‌گیر عملکرد گیاه باقلا در خاک‌های آلوده به سرب می‌شود. PGPR نیز با تولید هورمون ایندول استیک اسید (IAA) و تولید آنزیم ACC دآمیناز، تولید سیدروفور، تولید انواع هورمون‌های افزاینده رشد گیاه و ویتامین‌ها جذب عناصر غذایی ضروری و در نتیجه عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش می‌دهند (ما و همکاران،

www.SID.ir

Archive of SID

۲۰۱۱؛ شنگ و همکاران، ۲۰۰۸). شنگ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که مایه‌زنی باکتری *P. fluorescence* به‌دلیل تولید آنزیم ACC دآمیناز و کاهش اثرات تنشی اتیلن، عملکرد کلزا را در خاک‌های آلوده به سرب افزایش می‌دهد. به این ترتیب AMF و PGPR با افزایش جذب عناصر غذایی، کاهش عملکرد گیاه در اثر سمیت سرب را تا حدی کاهش می‌دهند.

جدول ٤- مقایسه میانگین غلظت سرب در ریشه و شاخساره گیاه، در سطوح مختلف سرب در خاک، در تیمارهای شاهد، PGPR و AMF.

کل سرب افزوده شده به خاک	شاهد	AMF	PGPR
(میلی‌گرم بر کیلوگرم)	غلظت سرب شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		
۰	۲/۰٤ ± ۰/۱۸^{d,b}	۲/۸۱ ± ۰/۳٦^{d,a}	۲/۳۲ ± ۰/۰۸^{d,ab}
۲٥۰	۱۷/۱۲ ± ۱/۲۳^{c,c}	۲۷/٦۲ ± ۱/٥۸^{c,a}	۲۳/۲۷ ± ۱/۱۷^{c,b}
٥۰۰	۲٥/۳۸ ± ۱/۹۸^{b,c}	٤۷/۱۹ ± ۲/۱٥^{b,a}	۳۱/٦۸ ± ۰/٦۷^{b,b}
۱۰۰۰	۳٥/۷٤ ± ۰/۰٤^{a,b}	٥۹/۰۱ ± ۸/۹٥^{a,a}	٤۱/۸۹ ± ۰/۷۷^{a,b}
	غلظت سرب ریشه (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		
۰	٤/۱٦ ± ۰/۲۰^{d,a}	٤/٥۲ ± ۰/۳۲^{d,a}	٤/٦٤ ± ۰/۰۷^{d,a}
۲٥۰	۱٤/۰۰ ± ۲/۳۸^{c,c}	۲٤/۲۲ ± ۳/۳۸^{c,b}	۳۲/۷۷ ± ۲/٤۹^{c,a}
٥۰۰	۳۱/۹۸ ± ۰/۸۸^{b,c}	۳۹/٦٤ ± ۲/۸۹^{b,b}	٥۰/۱۸ ± ٤/۰٤^{b,a}
۱۰۰۰	٤٦/٥۷ ± ۱/۸۳^{a,c}	٥٤/۳۸ ± ۱/٤۸^{a,b}	۷۱/۱٤ ± ۰/۹٦^{a,a}

حروف بالانویس اول و دوم بر روی هر عدد به‌ترتیب نشان‌دهنده اختلاف آماری ($P\leq$۰/۰٥) در هر ردیف و هر ستون می‌باشند. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰٥) ندارند.
اعداد مقابل داده‌ها انحراف معیار داده‌ها در ۳ تکرار را نشان می‌دهند.

یکی از مهم‌ترین دلایل سمیت سرب در گیاهان تشکیل ROS و ایجاد تنش اکسیداتیو است. به همین دلیل در این شرایط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه از جمله سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز افزایش می‌یابد (شارما و دیوبی، ۲۰۰٥؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰). این آنزیم‌ها سبب جلوگیری از به‌وجود آمدن تنش اکسیداتیو در گیاهان و محافظت از سلول‌ها و غشا در برابر آسیب‌های سوپراکسیدها می‌شوند (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج این پژوهش نشان داد یکی از راه‌کارهای AMF و PGPR در کاهش تنش فلزات سنگین در گیاهان افزایش مقدار

www.SID.ir

Archive of SID

پرولین است (جدول ۲). افزایش پرولین در گیاهان سبب محافظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰). پرولین افزون بر تنظیم pH سلول و پایداری پروتئین‌ها در گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش فلزات سنگین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسد دیسموتاز سبب کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (اسکالر، ۲۰۰۳؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰).

عملکرد ماده خشک ریشه گیاه نیز در همه سطوح سرب در خاک در تیمار مایه‌زنی شده با AMF بیش‌تر از تیمارهای PGPR و شاهد بود (جدول ۳). این در حالی است که غلظت سرب نیز در ریشه گیاهان مایه‌زنی شده با AMF بیش‌تر از تیمارهای PGPR و شاهد بود. این نتایج نشان می‌دهد که این قارچ‌ها توانایی بسیار بالایی در سمیت‌زدایی سرب و اندوزش آن در ریشه گیاهان دارند. دلیل آن این است که AMF با اندوزش فلزات سنگین به شکل غیرسمی در ریشه‌های گیاهان هم‌زیست و میسیلیوم‌های برون‌ریشه‌ای به پایداری گیاهان و افزایش عملکرد آن‌ها در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین کمک می‌کنند (گونزالز- چاوز و همکاران، ۲۰۰٤). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که مایه‌زنی AMF در خاک‌های آلوده به سرب با افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده ROS و هم‌چنین تحریک سیستم فنولیک گیاه، سمیت سرب در ریشه گیاهان را کاهش داده و در نتیجه سبب افزایش عملکرد گیاهان می‌شود (مارکیوز و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج مشابهی نیز توسط برخی پژوهش‌گران گزارش شده است. برای مثال بافیل (۲۰۰۸) گزارش کردند که استفاده از زادمایه قارچ *Glomus sp.* در خاک‌های آلوده به سرب سبب افزایش رشد و عملکرد ریشه‌های گیاه اکالیپتوس می‌شود. گیاهان در واکنش به تنش فلزات سنگین در خاک هورمون اتیلن را تولید می‌کنند که رشد ریشه گیاهان را کاهش می‌دهد. در این شرایط PGPR می‌توانند با تولید آنزیم ACC دآمیناز و کاهش اثرات تنشی اتیلن، رشد ریشه گیاهان را افزایش دهند (ما و همکاران، ۲۰۱۱).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد هر چند که با افزایش غلظت سرب در گیاه مقادیر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه شامل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها و RWC کاهش یافت. اما مایه‌زنی AMF و PGPR سبب شد که اثرات سمیت سرب بر این ویژگی‌ها به‌طور چشم‌گیری کاهش یابد. هم‌چنین مایه‌زنی AMF و PGPR با افزایش سنتز کاروتنوئیدها و پرولین و هم‌چنین افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

جذب آهن و روی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و در نتیجه آستانه تحمل گیاه را به سمیت سرب افزایش دادند. به این ترتیب AMF و PGPR عملکرد گیاه را در شرایط تنش آلودگی سربی خاک، به‌طور چشم‌گیری افزودند. با توجه به نتایج این پژوهش AMF نسبت به PGPR توانایی بیش‌تری در کاهش آسیب‌های فیزیولوژیکی ناشی از سمیت سرب در گیاه گل‌گندم دارد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح شماره ۹۰/ک/۰۰۸ است که با تصویب و حمایت مالی حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه اجرا گردیده است. نویسندگان از حمایت مالی دانشگاه ارومیه سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

1.Andrade, S.A.L., Gratao, P.L., Schiavinato, M.A., Silveira, A.P.D., Azevedo, R.A., and Mazzafera, P. 2009. Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations. Chemosphere, 75: 1363-1370.

2.Awotoye, O.O., Adewole, M.B., Salami, A.O., and Ohiembor, M.O. 2009. Arbuscular mycorrhiza contribution to the growth performance and heavy metal uptake of *Helianthusannuus LINN* in pot culture. Afr. J. Environ. Sci. Technol. 3: 157-163.

3.Bafeel, S.O. 2008. Contribution of mycorrhizae in phytoremediation of lead contaminated soils by *Eucalyptus rostrata* plants. Sci. J. 5: 490-498.

4.Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

5.Cariny, T. 1995. The reuse of contaminated land. John Wiley and Sons Ltd Publisher. 219p.

6.Cenkci, S., Cioerci, I.H., Yildiz, M., Oezay, C., Bozdao, A., and Terzi, H. 2010. Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. Environ. Exp. Bot. 67: 467-473.

7.Chen, Y., Zhu, G., and Smith, F.A. 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic accumulation by Chinese brake fern *(Pteris vittata L.)* from a uranium mining-impacted soil. Chemosphere. 62: 1464-1473.

8.Carter, M.R., and Gregorich, E.G. 2008. Soil sampling and methods of analysis (2nd ed). CRC Press. Boca Raton. FL. 1204p.

9.Demir, S. 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turk. J. Biol. 28: 85-90.

www.SID.ir

Archive of SID

10.Georgieva, V., and Tasev, C. 1997. Growth ,yield, lead, zinc end cadmium content of radish, pea, and pepper plants as influenced by level of single and multiple contamination of soil. Bulg. J. Plant Physiol. 23: 12-23.
11.Glick, B.R. 2003. Phytoremediation: Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. Biotechnol. Adv. 21: 383-393.
12.Gonzalez-Chavez, M.C., Carrillo-Gonzalez, R., Wright, S. F., and Nichols, K. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. Environ. Pollut. 130: 317-323.
13.Gregorio, S.D., Barbafieri, M., Lampis, S., Sanangelantoni, A.M., Tassi, E., and Vallini, G. 2006. Combined application of Triton X-100 and *Sinorhizobium sp. Pb002* inoculum for the improvement of lead phytoextraction by *Brassica juncea* in EDTA amended soil. Chemosphere. 63: 293-299.
14.Gupta, R.K. 2000. Soil, plant, water and fertilizer analysis. Agrobios, New Delhi India. 438p.
15.Joner, E.J., and Leyval, C. 1997. Uptake of Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*trifolium* subterraneum mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. New Phytol. 135: 353-360.
16.Karami, A., and Zulkifli, H.S.H. 2010. Phytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods. Afr. J. Biotechnol. 9: 3689-3698.
17.Karimi, A., Khodaverdiloo, H., Sepehri, M., and Rasouli Sadaghiani. M.H. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils. Afr. J. Microbiol. Res. 5: 1571-1576.
18.Khodaverdiloo, H., Rahmanian, M., Rezapour, S., Ghorbani Dashtaki, Sh., Hadi, H., and Han, F.X. 2012. Effect of wetting-drying cycles on redistribution of lead in some semi-arid zone soils spiked with a lead salt. Pedosphere. 22: 304-313.
19.Khan, A.G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace element contaminated soils in phytoremediation. J. Trace Elem. Med. Biol. 18: 355-364.
20.Larbi, A., Morales, F., and Abadia, A. 2003. Effects of Cd and Pb in sugar beat plants grown in nutrient solution: induced fed efficiency and growth inhibition. Functional Plant Biol. 20: 1453-1464.
21.Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R. 1985. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf in different solvents. Biol. Soc. Trans. 11: 591-592.
22.Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkumar, M., and Freitas, H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnol. Adv. 29: 248-258.
23.Marquez, A.P.G.C., Oliveira, R.S., Samardjieva, K.A., Pissarra, J., Rangel, A.O.S.S., and Castro, P.M.L. 2008. EDDS and EDTA-enhanced zinc accumulation by *Solanum nigrum* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi grown in contaminated soil. Chemosphere. 70: 1002-1014.

www.SID.ir

Archive of SID

24.Marschner, H., and Romheld, V. 1995. Strategies of plants for acquisition of iron. Plant Soil. 165: 262-274.
25.Munns, R., Husain, S., Rivelli, A.R., James, R.A., Condon, A.G., Lindsay, M.P., Lagudah, E.S., Schachtman, D.P., and Hare, R.A. 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. Plant Soil. 247:93-105.
26.Prasad, M., and Strazalka, K. 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis. J. Exp. Bot. 41: 314-320.
27.Punamiya, P., Datta, R., Sarkar, D., Barber, S., Patel, M., and Da, P. 2010. Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides (L.)*]. J. Hazard. Mater. 177: 465-474.
28.Rasouli Sadaghiani, MH., Kavazi, K., Rahimian, H., Malakouti, M.J., and Asadi, H. 2006. An evaluation of the potentials of indigenous fluorescent pseudomonads of wheat rhizosphere for producing siderophore. J. Soil Water Sci. 20: 133-143.
29.Schaller, H. 2003. The role of sterolsin plant growth and development. Progrss in Lipid Res. Planta, 42: 63-175.
30.Sharma, P., and Dubey, R.S. 2005. Lead toxicity in plants. Plant Physiol. 17: 35-52.
31.Sheng, X.F., Xia, J.J., Jiang, C.Y., He, L.Y., and Qian, M. 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. Environ. Pollut. 156: 1164-1170.
32.Vivas, A., Azcon, R., Biro, B., Barea, J.M., and Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Influence of bacterial strains isolated from lead-polluted oil and their interactions with arbuscular mycorrhizae on the growth of *Trifolium pratense* L. under lead toxicity. Microbiol. 49: 577-88.
33.Yan-de, J., Zhenli, H., and Xiao, Y. 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. J. Zhejiang Univ. Sci. 8: 197-207.
34.Yano-melo, A.M., Sanggin, O.J., and Maia, L.C. 2003. Tolerance of mycorrhized banana to saline stress. Agric. Ecosist. Environ. 95: 343-348.
35.Zhang, H.H., Tang, M., and Zheng, C. 2010. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. Eur. J. Soil Biol. 46: 306-311.

www.SID.ir

Archive of SID

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 3(2), 2013
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Influence of microbial inoculation of a Pb-contaminated soil on growth, some physiological properties, and uptake and translocation of Pb, Fe, and Zn by Centaurea (*Centaurea cyanus*)

***H. Khodaverdiloo[1], M.H. Rasouli Sadaghiani[1] and A. Karimi[2]**
[1]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Urmia University, Urmia,
[2]M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science, Urmia University, Urmia
Received: 10/27/2012; Accepted: 02/11/2013

Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) affect plant growth and tolerance under environmental stresses such as soil contamination with metals. In this study the effect of inoculation with selected strains of AMF (a mixture of *Glomus species* including *G. intraradices*, *G. mosseae* and *G. fasciculatum*) and PGPR (a mixture of *Pseudomonas species* includeing *P. putida*, *P. fluorescens*, and *P. aeruginosa*), on uptake and translocation of Pb, Fe and Zn, height, yield and some physiological properties of Centaurea (*Centaurea cyanus*) was evaluated in a Pb contaminated soil. This study was carried out in greenhouse condition as a factorial experiment based on a randomized complete block design with two factors including Pb concentration (in four levels) and microbial treatment (in two levels) and in three replications. Soil was contaminated with Pb concentrations of 0, 250, 500 and 1000 mg kg^{-1} and was then sterilized and inoculated with the AMF or PGPR. Results indicated that with increasing soil Pb concentration, plant growth, shoot Fe and Zn concentration, chlorophyll and carotenoeids contents and leaf relative water content decreased, while proline content and the plant Pb concentration increased. The microbial inoculation resulted in a significant increase ($P \leq 0.05$) in plant growth, uptake and translocation of Pb, Fe and Zn, an improvement of plant water uptake and conservation and increase in contents of the plan photosynthetic pigments and proline. Mean shoot dry biomass of AMF and PGPR inoculated treatments were, respectively, 2 and 1.2 order of magnitude higher compared to the corresponding blank treatments. It could be concluded that microbial inoculation results in improved plant growth and increased tolerance against Pb toxicity.

Keywords: Plant growth promoting rhizobacteria, Plant response, Pb toxicity, Physiological properties, Heavy metals, Arbuscular mycorrhizal fungi

* Corresponding Authors; Email: h.khodaverdiloo@urmia.ac.ir

www.SID.ir