تأثیر قارچ میکوریزای آربوسکولار *Glomus intraradices* بر روی تنش اکسیداتیو و برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی در گیاه گندم رقم آذر۲ تحت سمیت کادمیوم

Archive of SID

اعظم خلیقی جمال آباد و جلیل خارا*

ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت ۸۶/٤/۲۱ تاریخ پذیرش: ۸۶/۹/۳۰

چکیده

کادمیوم یک عنصر غیرضروری است که اثر منفی برروی رشد ونموگیاهان دارد. دراین مطالعه اثر قارچ میکوریزای آربوسکولار *Glomus intraradices* بر برخی پارامتر های رشد و فیزیولوژی از قبیل وزن تر و خشک ریشه و ساقه، رنگیزه های فتوسنتزی، قند کل، پروتئین کل، پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو در گیاه گندم تحت سمیت کادمیوم مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش با استفاده از دوتیمار (میکوریزایی و غیرمیکوریزایی) وچهار غلظت کادمیوم (صفر،۲۵۰،۷۵۰،۲۵۰۰ میکرومول کادمیوم) انجام شد. گیاهان تیمار شده با تغذیه از محلول غذایی هوگلند و محلول آزمایشی حاوی کادمیوم در یک اتاقک رشد با محدوده دمایی ۲۳ تا ۲۷ درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱٤:۱۰ (روز : شب) ورطوبت نسبی ٦۰ تا ۷۰ درصد رشد کردند. برگ و ریشه گیاهان ٦۰ روزه بررسی شد. مشاهده شد که قارچ میکوریزای آربوسکولار اثر معنی داری بر وزن تر وخشک ریشه واندام هوایی داشته، بطوریکه حضور قارچ منجربه کاهش اثر منفی سمیت کادمیوم می شود. با افزایش غلظت کادمیوم نیز، طول ریشه کاهش می یابد، ولی کاهش چندانی در طول ساقه مشاهده نمی شود. در پاسخ به این تنش، کاهش طول ریشه در گیاهان همزیست کمتر از گیاهان غیرمیکوریزایی است. تعیین محتوای کلروفیل a و b نیز نشان داد که همراه با افزایش غلظت کادمیوم، میزان کلروفیل هم در گیاهان میکوریزایی و هم غیر میکوریزایی کاهش می یابد. اما این کاهش در گیاهان میکوریزایی پایین تراز گیاهان غیر میکوریزایی است. همراه با افزایش غلظت فلز، محتوای قند کل و پروتئین کل در ساقه ها وریشه های گیاهان میکوریزایی افزایش می یابد. همچنین، مقدار مالون دی آلدهید در ریشه ها و اندام هوایی گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی تحت سمیت کادمیوم بعنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها افزایش نشان می دهد. فعالیت آنزیم های سمیت زدا شامل گایاکول پراکسیداز (GUPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی نیز افزایش یافته، اما افزایش فعالیت این آنزیمها در گیاهان میکوریزایی بالاتر است. نهایتاً معلوم شد که در نتیجه افزایش غلظت فلز، درصد آغشتگی میکوریزایی کاهش معنی داری پیدا می کند. بر طبق این نتایج، پیشنهاد می شود که قارچ میکوریزای آربوسکولار می تواند در تحمل سمیت کادمیوم به گیاه زراعی گندم کمک کند.

واژه های کلیدی : میکوریزا، قندکل ، کلروفیل، کادمیوم، گندم .

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱٤٤٤۱٤۷۱۳ ، پست الکترونیک: jakhara@yahoo.com

مقدمه

غلظتهای بالای فلزات سنگین در خاک، تأثیر نامساعدی بر فرآیندهای میکروارگانیسمی و میکروبیولوژیکی دارد. قارچهای میکوریزایی موجوداتی هستند که ارتباط مستقیمی بین خاک و ریشه ایجاد می کنند و بنابراین در میزان دسترسی فلزات سنگین و سمیت آنها در گیاهان بسیار حائز اهمیت اند. اجتماعات میکوریزایی آربوسکولار،

www.SID.ir

اجزای مکمل و عملکردی ریشه های گیاهان می باشند و بطور گسترده بعنوان افزاینده های رشد گیاهان در مناطق آلوده با فلزات سنگین شناخته شده اند. این قارچها بر ریشه های گیاهان در حال رشد در خاکهای آلوده با فلزات سنگین موجود بوده و نقش مهمی در تحمل سمیت و انباشتگی فلزات سنگین ایفا می کنند. میزان سمیت فلزات در خاک بستگی به میزان دسترسی گیاهان به این فلزات دارد که بصورت توانایی گیاه برای انتقال آنها از بخش خاک به داخل سیستم موجود زنده تعریف می شود (۲۲). میکوریزا از بخشهای لازم و عملکردی ریشه گیاه اند و این قارچها ارتباط مستقیمی بین خاک و ریشه ایجاد می کنند. چنین تصور می شود که اثر میکوریزا بر تغذیه گیاهی در مورد عناصر دارای انتشار محدود در اطراف ریشه های گیاه از جمله فسفات و اکثر فلزات سنگین، بیشتر قابل توجه باشد. با وجود قابلیت تحرک مختلف یونهای فلزی در گیاهان، بطور کلی مقدار فلز در ریشه ها بیشتر از بافتهای موجود در خارج از خاک است. مسمومیت با فلزات آلوده کننده، تنش اکسیداتیو را القا می کند زیرا در مکانیسمهای چندی از تولید کننده گونه های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen species = ROS) عمل می کنند. واسطه های ROS تا حدودی اشکال اکسیژن اتمسفری را کاهش می دهند. آنها معمولا از تحریک O_2 بمنظور تشکیل سینگلت (O_2)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) یا یک رادیکال هیدروکسی($OH^{\cdot}$) ایجاد می شوند. این رادیکالها بطور موقت در موجودات هوازی موجوداند زیرا آنها در طی فرآیندهای متابولیکی طبیعی از قبیل تنفس و فتوسنتز نیز در سلولهای گیاهی تولید می شوند. تعدادی از آنها ممکنست بعنوان مولکولهای علامت ده مهم عمل کنند که بیان ژن را تغییر می دهند و فعالیت پروتئینهای دفاعی ویژه ای را تعدیل می کنند. با وجود این تمام ROS ها می توانند در غلظتهای بالا برای موجودات مضر باشند. ترکیباتROS می توانند پروتئینها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک را اکسید کنند که این امر اغلب منجر به تغییراتی در ساختار سلولی و جهش می شود (۵). کادمیوم تغییراتی در عملکرد غشاها با القای پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد می کند.

در بیشتر شرایط محیطی، کادمیوم اول وارد ریشه می شود و در نتیجه احتمالاً این اندام قبل از همه، آسیب حاصل از کادمیوم را تجربه می کند. کادمیوم بسادگی از طریق بافت پوستی به ریشه ها نفوذ کرده و به بافتهای موجود در بالای خاک انتقال می یابد. کلروزیس، لوله شدن برگها و بازدارندگی رشد، مهمترین و قابل مشاهده ترین علائم سمیت کادمیوم در گیاهان می باشند. بنظر می رسد که کلروزیس نتیجه کمبود آهن، فسفر و یا کاهش انتقال منگنز باشد. ممانعت از عمل ردوکتاز آهن III که بوسیله کادمیوم القا می شود، منجر به کمبود آهن II می گردد و نیز بطور جدی فتوسنتز را تحت تأثیر منفی قرار می دهد.

نشان داده شده است که کادمیوم بر جذب، انتقال و استفاده از بعضی عناصر (پتاسیم و فسفر و منیزیم و کلسیم) و آب توسط گیاهان تأثیر منفی دارد. این فلز سنگین با ممانعت از بیوسنتز کلروفیل و کاهش فعالیت آنزیمهای دخیل در تثبیت CO_2 ، اختلالی نیز در متابولیسم کلروپلاست ایجاد می کند (۱۰).

مواد و روشها

آزمایشها بصورت طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از ٤ غلظت فلز کادمیوم (صفر، ۲۵۰، ۷۵۰ و ۲۵۰۰ میکرومول کادمیوم بصورت $CdCl_2$) و در حضور و غیاب قارچ میکوریزایی در چهار تکرار انجام گرفت. دانه های گندم رقم آذر۲ که از مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه تهیه شده بود با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم (۱۰ درصد) ضدعفونی و پس از بهاره کردن در گلدانهای استریل کشت شد. در سطح فوقانی گلدان ماسه ضدعفونی شده همراه با ۵۰ گرم مایه تلقیح ریخته شد. در گلدانهای میکوریزایی، مایه تلقیح سالم و فعال و در گلدانهای شاهد، مایه تلقیح

Archive of SID
www.SID.ir

اتوکلاوشده افزوده شد. مایه تلقیح با روش کشت گلدانی ذرت و با استفاده از مایه اولیه تهیه شده از گروه خاکشناسی دانشگاه تبریز بدست آمده بود و شامل قطعات ریز ریشه ذرت همزیست حاوی ریسه ها، وزیکولها و آربوسکولها، اسپورهای قارچ و قطعات ریز ماسه چسبیده به آنها بود. در هر گلدان ۸ بذر جوانه زده در عمق ۲ سانتیمتری سطح خاک کاشته شد که بعدها این تعداد به ۵ عدد تنک شد. گلدانهای حاوی بذر آبیاری شده و در اتاقک رشد با دمای روزانه ۲۷ و دمای شبانه ۲۳ درجه، دوره نوری ۱٤ساعته (با نوری به شدت ۷۵ $\mu Em^{-2} s^{-1}$) و رطوبت نسبی ٦۰ تا ۷۰ درصد رشد کردند. از ابتدای کشت گیاهان بمدت دو هفته فقط با آب مقطر آبیاری شدند ولی از هفته سوم به بعد، بطور یک روز در میان سه بار در هفته با محلول غذایی تغییر یافته هوگلند و سه بار در هفته نیز با محلول آزمایشی حاوی کادمیوم (در هر حالت به حجم ۵۰ میلی لیتر) تیمار شدند. در طول دوره رشد ٦۰ روزه، در گلدانهای حاوی قارچهای میکوریزایی مقدار فسفر محلول غذایی برای ترغیب همزیستی نصف شد. در پایان دوره رشد اندام هوایی و ریشه گیاهان از هم جدا و بررسیهای بیوشمیایی و فیزیولوژیک بر روی آنها انجام شد.

اندازه گیری طول ریشه و اندام هوایی با خط کش میلی متری انجام شد. وزن تر ریشه و اندام هوایی بعد از خشک کردن آب اضافی با استفاده از ترازو محاسبه شد و سپس بمدت ٤۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از خشک شدن کامل نمونه ها ، با توزین مجدد وزن خشک بدست آمد.

استخراج کلروفیل از برگ با کمک استن ۸۰ درصد و به روش لیختنت هالر و ولبورن انجام گرفت (۲۳). ۰/۵ گرم از بافت تر برگ با مقدار ۱۰ میلی لیتر استون ساییده شد تا یک بافت بی رنگ و کاملاً سفید باقی ماند. محلول حاصل با استفاده از کاغذ صافی و قیف صاف، بعد کاغذ صافی با ۱۰ میلی لیتر دیگر شستشو داده شد تا رنگیزه های روی کاغذ صافی نیز وارد محلول شود. بعد حجم محلول با استون به ۲۵ میلی لیتر رسید. در مرحله بعد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موجهای ٦٦۲ و٦٤۵ نانومتر جذب محلول اندازه گیری، و در نهایت با استفاده از فرمول های زیر میزان کلروفیلهای a و b محاسبه شد (A= جذب نوری عصاره) :

$$Chl_a = ۱۱/۷۵A_{٦٦٢} - ۲/۳۵۰A_{٦٤۵}$$

$$Chl_b = ۱۸/٦۱A_{٦٤۵} - ۳/۹٦۰A_{٦٦٢}$$

اندازه گیری قندهای محلول با استفاده از روش فنل سولفوریک و بر اساس هیدرولیز اسیدی قندهای محلول با ایجاد ترکیب فورفورال و تشکیل کمپکس رنگی با فنل انجام شد (۱٤).

اندازه گیری پروتئین کل به روش فولن لوری انجام شد (۲٤). این آزمایش براساس هیدرولیز پروتئینها و آزاد شدن اسیدهای آمینه موجود در ساختمان پروتئینها است که با معرف فولن کمپلکسهای رنگی ایجاد می کند. در نهایت شدت رنگ بوسیله اسپکتروفتومتر و در طول موج ٦٦۰ نانومتری اندازه گیری می شود.

بمنظور سنجش مالون دی آلدئید، بعنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی تحت تنش فلز سنگین از روش پوفام و نواکی استفاده شد (۲۹). در این روش ، یک گرم بافت تر گیاهی را در ٤ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (W/V) ساییده و داخل لوله آزمایش ریخته شد. بعد لوله ها بمدت ۲۰ دقیقه در سانتریفوژ با دور ۱۵۰۰۰g قرار گرفت. بعد از سانتریفوژ به ۱ میلی لیتر از محلول، ۱ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (W/V) و ۱ میلی لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۲ درصد (W/V) در تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد اضافه شد. محلول حاصل بمدت ۳۰ دقیقه در آب یخ قرار گرفت و بعد بمدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد وجذب آن در طول موجهای ۵۲۲ و ٦۰۰ نانومتری اندازه گیری شد. در نهایت

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

میزان مالون دی آلدئید با استفاده از تفاوت جذب اسپکتروفتومتری در دو طول موج و ضریب ۱۵۵ mM^{-1} cm محاسبه گردید (۲۹).

برای تهیه این عصاره از روش آسادا با اندکی تغییرات استفاده شد (۳)، به این ترتیب که ۰/۵ گرم وزن تر از بافت هر اندام ریشه و اندام هوایی بطور مجزا از کلیه تیمارها و تکرارها وزن و به داخل هاون سرد و داخل آب یخ انتقال داده شد. بافت در داخل هاون با ۳ میلی لیتر بافر شامل (بافر تریس–HCl ۰/۰۵ مولار با pH ۷/۵، $MgCl_2$ ۳ میلی مولار و EDTA ۱ میلی مولار) ساییده شد. محلول استخراجی که برای اندازه گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز استفاده می شود، حاوی ۰/۲ میلی مولار آسکوربات نیز می باشد. سپس محلول همگن شده بمدت ۲۰ دقیقه در سانتریفوژ با نیروی ۵۰۰۰g قرار گرفت. از محلول رویی حاصله بعنوان عصاره خام برای اندازه گیری فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان استفاده شد (۳).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در تمام تکرار ها و تیمارها با استفاده از روش آسادا با اندکی تغییرات مورد سنجش قرار گرفت (۳). به این ترتیب که به ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH ۷ (شامل EDTA ۰/۱ میلی مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار)، ۰/۲ میلی لیتر H_2O_2 ۱ درصد (W/V) و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیم استخراجی افزوده شد. فعالیت آنزیم از طریق اندازه گیری اکسید شدن آسکوربات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد که با کاهش جذب در طی یک دقیقه همراه بود. ضریب مولی ویژه آسکوربات ۲/۸ $mM\ cm^{-1}$ می باشد.

اندازه گیری فعالیت گایاکول پراکسیداز در تمام تیمار ها و تکرار ها با استفاده از روش Chang و همکارانش انجام شد (٦). ۲/۵ میلی لیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی مولار بر داشته و روی آن ۱ میلی لیتر H_2O_2 ۱ درصد (W/V)، ۱ میلی لیتر گایاکول ۱ درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره آنزیم استخراجی اضافه شد. فعالیت این آنزیم در طی دو دقیقه با اسپکتروفتومتر در طول موج ٤٢٠ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت که همراه با افزایش جذب بود. در نهایت فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب مولی ویژه تتراگایاکول محاسبه شد.

www.SID.ir

برای تعیین درصد آغشتگی میکوریزایی ریشه ها، از روش تلاقی خطوط مشبک استفاده شد (۲۵). ریشه های رنگ آمیزی شده با تریپان بلو بطور تصادفی در داخل ظرف پتری پخش شدند. سپس زیر لوپ آزمایشگاهی و با کمک کاغذ شطرنجی میزان همزیستی ریشه بر حسب طول ریشه همزیست تعیین شد. تعداد تقاطی از ریشه که با خطوط عمودی و افقی برخورد کرده بودند شمرده شد. بعد تقاطی که آبی پر رنگ تری داشتند شمرده شدند. در نهایت از تقسیم این عدد بر تعداد کل برخورد ها، درصد طول ریشه همزیست با قارچ تخمین زده شد. این کار برای همه تیمارها با سه تکرار انجام گرفت (۲۸).

طرح آزمایش بصورت کاملاً تصادفی و با ٤ تکرار برای هر تیمار به کار گرفته شد و کلیه محاسبات آماری با استفاده از آزمون دانکن (آنالیز واریانس یکسویه) و نرم افزار SPSS version 11/5 و رسم نمودار ها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده ها نشان می دهد که هم در گیاهان غیر میکوریزایی و هم در گیاهان تلقیح شده با گونه قارچی میکوریزا، در اثر سمیت کادمیوم و با افزایش غلظت فلز طول اندام هوایی کاهش می یابد (شکل ۱). بررسی آماری بین گیاهان تلقیح شده با میکوریزا و گیاهان شاهد، تفاوت معنی داری را ($p\leq0.05$) نشان نمی دهد. آنالیز آماری داده ها نشان می دهد که تیمار کادمیوم، طول ریشه را هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان همزیست با گونه قارچی کاهش می دهد اما تفاوت معنی داری در

مقایسه بین گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی دیده نمی شود (شکل ۲).

سمیت کادمیوم باعث کاهش وزن تر ریشه و اندام هوایی هم درگیاهان میکوریزایی و هم در گیاهان غیر میکوریزایی می شود. با بررسی آماری داده های مربوط به وزن تر اندام هوایی و در مقایسه بین گیاهان تیمار شده با گونه قارچی و گیاهان غیرمیکوریزایی تفاوت معنی داری ($p\leq0.05$) مشاهده نمی شود (شکل ۳). وزن تر ریشه ها، و آنالیز آماری داده های مربوطه نشان می دهد که بین گیاهان تلقیح شده با قارچ *G.intraradices* و گیاهان شاهد تفاوت معنی داری ($p\leq0.05$) وجود ندارند (شکل ٤).

با مقایسه داده های حاصل از آنالیز آماری در مورد وزن خشک اندام هوایی مشاهده می کنیم که وزن خشک این اندام با سمیت کادمیوم و همراه با افزایش غلظت آن در محلول آزمایشی کاهش می یابد. در مقایسه بین گیاهان تیمار شده با گونه قارچی و گیاهان شاهد اختلاف معنی داری($p\leq0.05$) بین گیاهان گندم تیمار شده با قارچ *G.intraradices* و گیاهان شاهد مشاهده می شود (شکل۵). در مورد تفاوت وزن خشک ریشه ها، باز مشاهده می کنیم که در اثرسمیت کادمیوم، هم در گیاهان میکوریزایی و هم در گیاهان غیر میکوریزایی، وزن خشک ریشه ها کاهش می یابد. آنالیز آماری داده های مربوط به وزن خشک ریشه ها نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین گیاهان گندم تلقیح شده با قارچ *G.intraradices* و گیاهان شاهد وجود ندارد (شکل ٦).

آنالیز داده های مربوط به محتوای کلروفیل a وb نشان می دهد که میزان هر دو نوع کلروفیل هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان آغشته به قارچ، در اثر سمیت کادمیوم کاهش می یابد ولی در کل میزان کلروفیل در گیاهان میکوریزایی بالاتر از میزان آن در گیاهان غیرمیکوریزایی است. در مقایسه بین گیاهان تلقیح یافته با قارچ میکوریزا و گیاهان شاهد می بینیم که گیاهان میکوریزایی و گیاهان شاهد تفاوت معنی داری ($p\leq0.05$) از نظر مقدار کلروفیل دارند (شکلهای ۷ و ۸).

Archive of SID

مقدار قندهای محلول کل هم اندام هوایی و هم ریشه همراه با سمیت کادمیوم افزایش می یابد. آنالیز آماری داده های مربوط به قندهای محلول کل ساقه نشان می دهد که گیاهان گندم تیمار شده با گونه قارچی اختلاف معنی داری ($p\leq0.05$) با گیاه شاهد دارد (شکل ۹). بررسی داده های مربوط به محتوای قند محلول کل ریشه ها نیز نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار ($p\leq0.05$) بین گیاه شاهد و گیاه تیمار شده با گونه قارچی می باشد (شکل ۱۰).

آنالیز آماری داده ها، هم در اندام هوایی و هم در ریشه های گیاهان غیر میکوریزایی و میکوریزایی افزایش میزان پروتئین کل را در برخی از غلظتهای کادمیوم نشان می دهد. بررسی داده های مربوط به پروتئین کل اندامهای هوایی نشان می دهد که بین گیاه شاهد و گیاه میکوریزایی تفاوت معنی داری ($p\leq0.05$) وجود ندارد (شکل ۱۱). بررسی پروتئین کل ریشه ها نیز نشان می دهد که بین گیاه شاهد و گیاه تیمار شده با قارچ *G.intraradices* اختلاف معنی داری ($p\leq0.05$) وجود ندارد (شکل ۱۲).

آنالیز آماری داده ها افزایش معنی دار مالون دی آلدئید ریشه و اندام هوایی را تحت تأثیر سمیت کادمیوم نشان می دهد و میزان این ماده در ریشه و اندام هوایی گیاهان میکوریزایی بطور قابل توجهی بالاتر از گیاهان غیرمیکوریزایی است. در مورد اندام هوایی، آنالیز داده ها نشان می دهد که بین گیاه شاهد و گیاه میکوریزایی تفاوت معنی دار ($p\leq0.05$) است (شکل ۱۳). در مورد ریشه ها نیز بررسی داده ها نشانگر افزایش مقدار این ماده و در نتیجه افزایش فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی تحت تنش کادمیوم است. بین گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی تفاوت معنی داری دیده نمی شود (شکل ١٤).

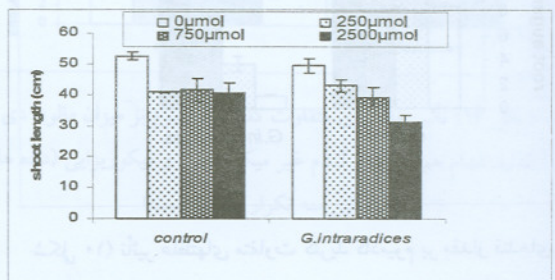
سمیت کادمیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی گیاهان غیر میکوریزایی و

www.SID.ir

میکوریزایی می شود. در مورد فعالیت این آنزیم در اندام هوایی مشاهده می شود که بین گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی، اختلاف معنی دار است (شکل۱۵). آنالیز آماری داده ها در ریشه گیاهان نیز افزایش فعالیت این آنزیم را همراه با سمیت، هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان میکوریزایی نشان می دهد. فعالیت این آنزیم در ریشه های گیاهان تلقیح شده با قارچ *G.intraradices* بالاتر از گیاهان شاهد است (شکل ١٦).

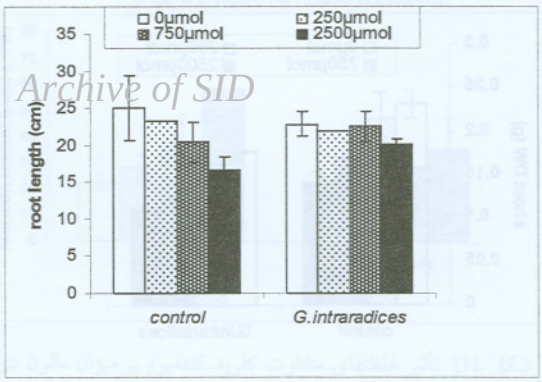
افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ساقه گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی در اثر سمیت کادمیوم و با افزایش غلظت این فلز معنی دار است ($p\leq0.05$)، اما در حالت کلی این افزایش فعالیت در گیاهان میکوریزایی بالاتر از گیاهان شاهد است. بین گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) است (شکل۱۷). در مورد فعالیت این آنزیم در ریشه ها نیز همراه با سمیت کادمیوم و با افزایش غلظت این فلز در محلول آزمایش میزان فعالیت افزایش می یابد ودر اینجا نیز بین گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی اختلاف معنی دار ($p\leq0.05$) می باشد (شکل۱۸).

بررسی داده های مربوط به درصد آغشتگی میکوریزایی ریشه در گیاهان گندم همزیست با گونه قارچی *G. intraradices* نشان می دهد که همراه با افزایش غلظت فلز کادمیوم در محلول آزمایشی، کاهش درصد همزیستی معنی دار است (شکل ۱۹).



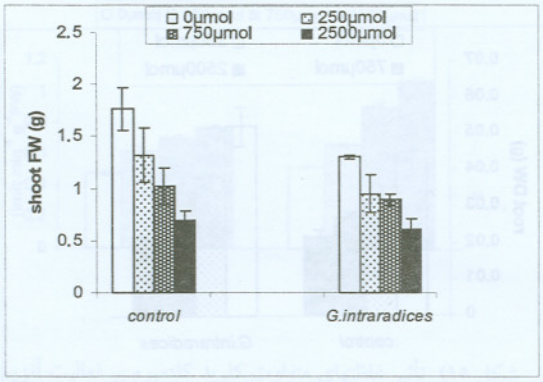
شکل۱) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر طول اندام هوایی گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

www.SID.ir

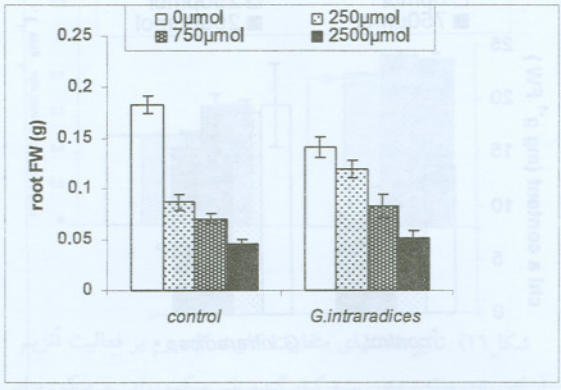


Archive of SID

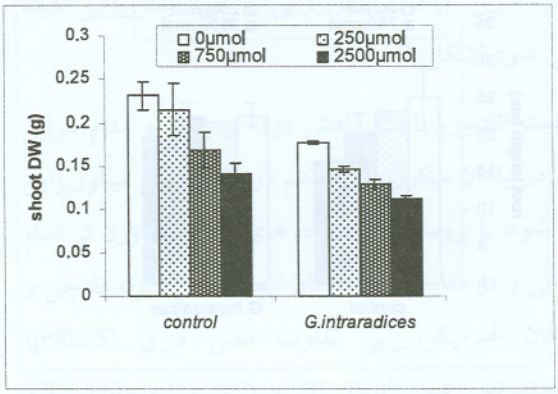
شکل ۲) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر طول ریشه گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی شده (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)



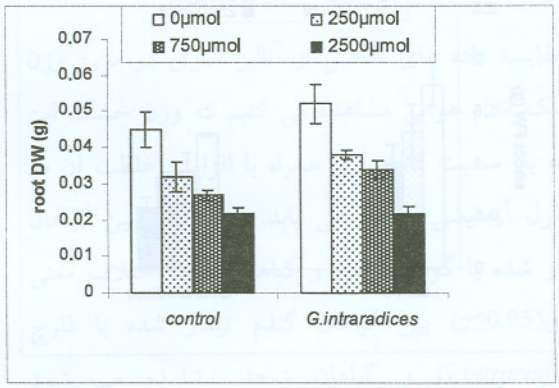
شکل۳) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر وزن تر اندام هوایی گیاه گندم غیر میکوریزایی ومیکوریزایی(داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)



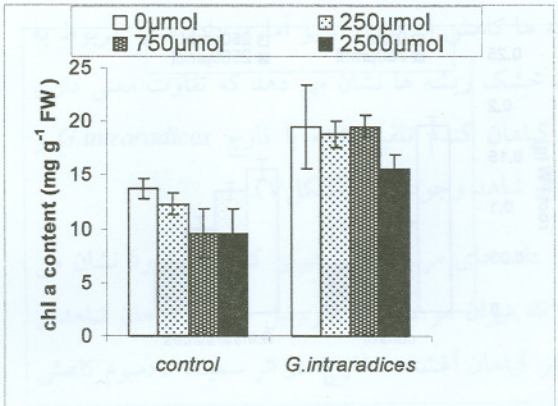
شکل ٤) تاثیر غلظت های متفاوت کلرید کادمیوم بر وزن تر ریشه گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)



شکل ۵) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر وزن خشک اندام هوایی گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

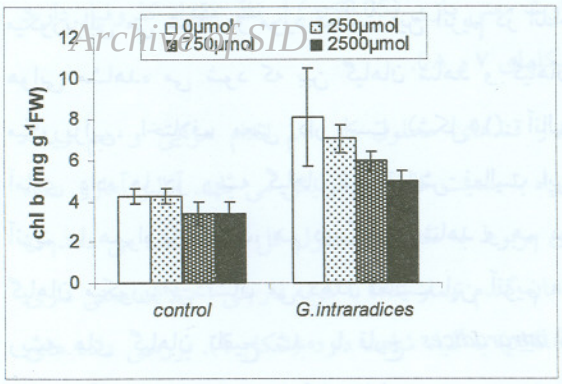


شکل ٦) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر وزن خشک ریشه گیاه گندم غیر میکوریزایی ومیکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

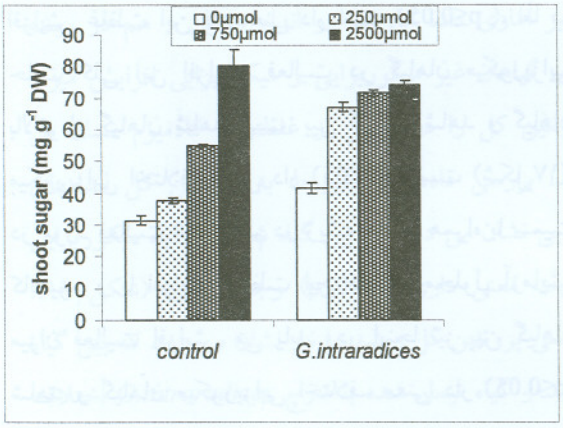


شکل ۷) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر میزان کلروفیل a در گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

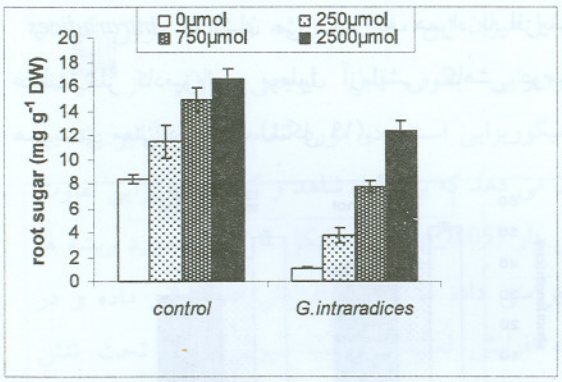
www.SID.ir



شکل ۸) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر میزان کلروفیل b در گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

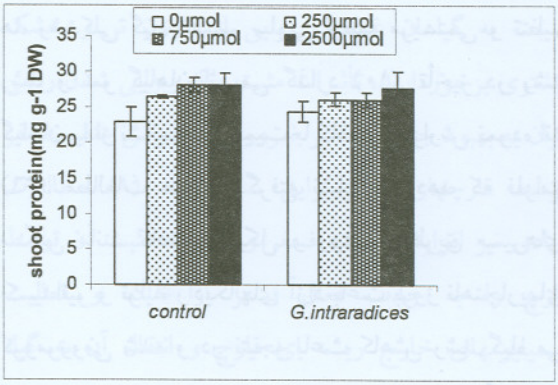


شکل ۹) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر مقدار قندهای محلول کل دراندام هوایی گیاهان گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

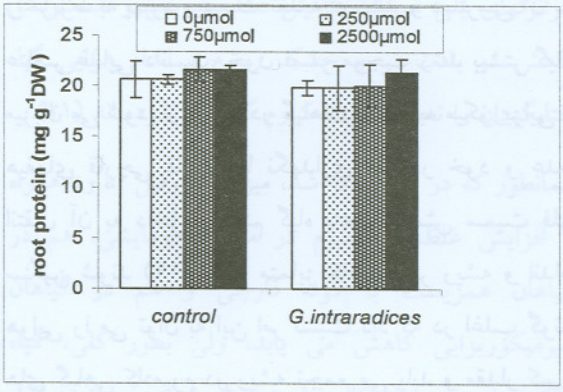


شکل ۱۰) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر مقدار قندهای محلول کل ریشه گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

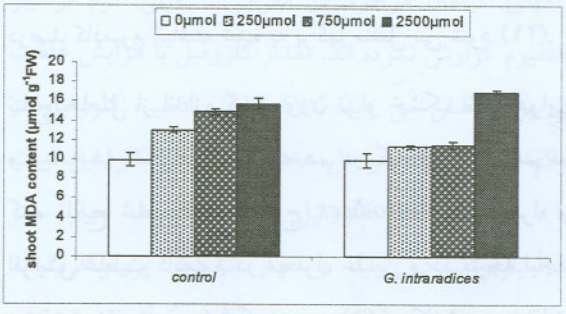
Archive of SID



شکل ۱۱) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر مقدار پروتئین کل اندام هوایی گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

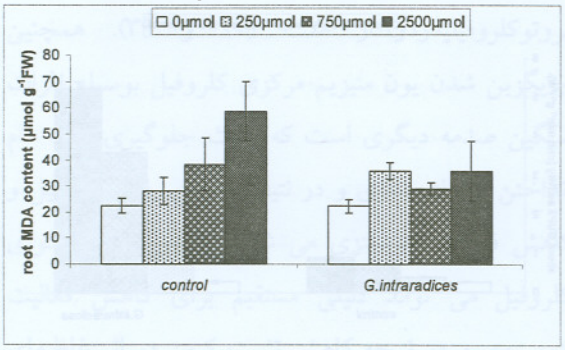


شکل ۱۲) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر مقدار پروتیین کل ریشه گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

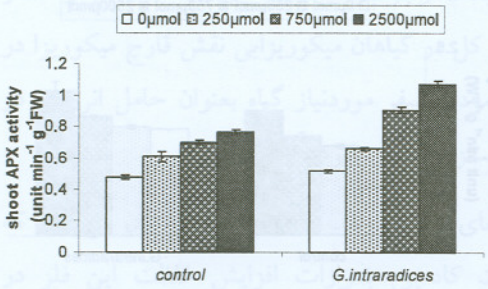


شکل ۱۳) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر میزان مالون دی آلدئید اندام هوایی گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)

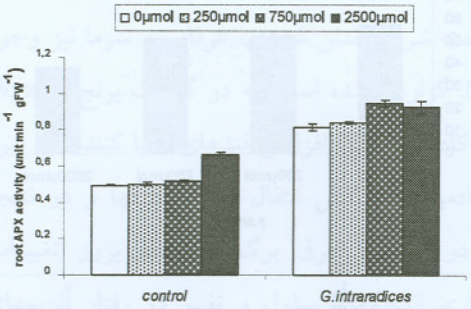
www.SID.ir



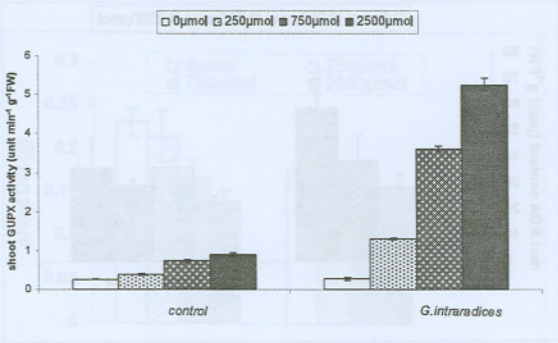
شکل ١٤) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر میزان مالون دی آلدئید ریشه گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)



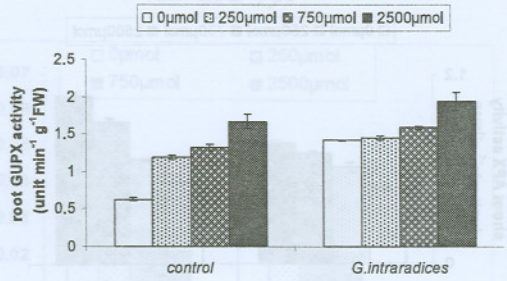
شکل ۱۵) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)



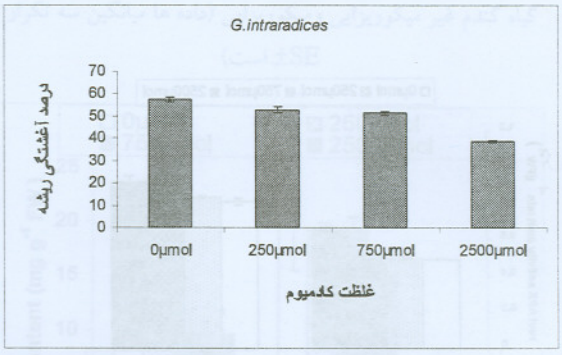
شکل١٦) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار ±SE است)



شکل ۱۷) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندام هوایی گیاه گندم غیر میکوریزایی ومیکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار SE± است)



شکل۱۸) تأثیر غلظتهای متفاوت کلرید کادمیوم بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ریشه گیاه گندم غیر میکوریزایی و میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار SE± است)



شکل۱۹) در صد آغشتگی ریشه در گیاه گندم میکوریزایی (داده ها میانگین سه تکرار SE± است)

بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد که سمیت کادمیوم باعث کاهش طول ریشه و اندام هوایی می شود. بررسیها نشان می دهد که این فلز بر تقسیم و رشد سلول ها، رشدکلی گیاه، تقسیم سلولی منطقه مریستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می گذارد (۱۰). تأخیر در رشد گیاهان را از نشانه های سمیت با کادمیوم گزارش نموده اند (۳۶). مطالعات صورت گرفته نشان می دهد که فلزات سنگین مانند کادمیوم، نیکل و روی از طریق مسیرهای اکسیداتیو و تولید رادیکالهای آزاد باعث بروز ناهنجاریهای کروموزومی شده و در نتیجه باعث کاهش رشد گیاه می گردد (۲۶ و ۲۷). نتایج نشان می دهد که عموماً کاهش طول ریشه و ساقه در گیاهان میکوریزایی کمتر از گیاهان شاهد است. بنابراین می توان رشد بهتر گیاهان میکوریزایی را مربوط به بهبود وضعیت تغذیه ای گیاه و دسترسی آن به عناصر غذایی دانست، چون فسفر موجب رشد بیشتر گیاه میزبان می شود. از طرفی در گیاهان آغشته به میکوریزایی ، هیفهای قارچی قادرند با نگهداری فلز در خود و عدم انتقال آن به داخل سیستم گیاه باعث کاهش سمیت فلز سنگین شوند (۱۹). تأثیر متمایز کادمیوم بر ریشه و اندام هوایی را می توان به این امر نسبت داد که در اغلب گونه های گیاهی کادمیوم در ریشه تجمع می یابد و مقدار کمی به برگ ها منتقل می شود (۱۸ و ۳۱). گزارش شده است که تجمع کادمیوم در ریشه های چغندر قند ۵ تا ۱۰ برابر بیش از اندام هوایی آن است و در گیاه سویا نیز فقط ۲ درصد کادمیوم انباشته شده به برگها منتقل می شود (۲۱).

نتایج حاصل از اندازه گیری وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه ها نشان می دهد که هم در گیاه شاهد و هم در گیاه تلقیح شده با گونه قارچ *G.intraradices*، همراه با افزایش غلظت کادمیوم در محلول غذایی و در نتیجه ایجاد سمیت وزن تر و خشک هر دو اندام کاهش می یابد. کادمیوم با ایجاد اختلال در فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن در گیاهان منجر به کاهش رشد می شود که بدنبال آن توده زنده نیز کاهش می یابد (۱۶). مشخص شده است که کاهش وزن تر و خشک در ریشه و اندام هوایی گیاه لوبیای تحت تنش کادمیوم، بدلیل اختلال در جذب عناصر غذایی و آب می باشد. در مواردی که گیاهان میکوریزایی

Archive of SID
www.SID.ir

نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی از وزن تر و خشک بیشتری برخوردارند، تأثیرات مثبت میکوریزایی شدن را می توان به بهبود جذب عناصر ضروری بخصوص عنصر فسفر توسط قارچهای میکوریزایی نسبت داد (۸). مطالعات زیادی نیز افزایش جذب فسفر و تأثیرات مثبت آن توسط قارچ را به جذب فعال فسفر از خاک و فعالیت میسیلیومهای خارج ریشه ای قارچ و انتقال آن به گیاه نسبت داده است (۳٤ و ٤۳). افزایش فسفر احتمالا بیومس گیاه را افزایش داده، بنابراین ممکنست اثرات سمی فلز را با رقیق کردن، ته نشین کردن یا جذب سطحی فلز روی گرانولهای پلی فسفات کاهش دهد. دیویس و همکارانش کاهش در بافت تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاه آفتابگردان را تحت سمیت کروم گزارش نموده اند (۱۱).

همانطور که در نتایج ذکر شد، میزان کلروفیل a وb همراه با افزایش غلظت کادمیوم در محلول آزمایشی، هم در گیاهان همزیست با گونه قارچی و هم در گیاهان غیرمیکوریزایی کاهش می یابد، ولی بطور کلی، گیاه میکوریزایی از میزان کلروفیل a و b بیشتری نسبت به گیاه شاهد برخوردار است. حقیری (۱۷) و همچنین روت و همکارانش (۳۳) کاهش ۵۰ درصدی کلروفیل را در برگهای گیاهان موجود در معرض ۲ میلی گرم بر لیتر کادمیوم گزارش نموده اند. مقدار کلروفیل با افزایش غلظت کادمیوم کاهش می یابد (۱۸). کاهش ذخیره کلروفیل در برگها بعلت مهار مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل است (۱). مهار بیوسنتز کلروفیل احتمالاً بواسطه مهار سنتز دلتاآمینولوولینیک اسید و مهار تشکیل پروتوکلروفیلید ردوکتاز می باشد (٤۱). همچنین در برگهای تحت تنش کادمیوم، تشکیل LHCII مختل می شود. علت آن مهار سنتز پروتئین مربوطه در مرحله نسخه برداری است که باعث اکسید شدن نوری کلروفیل تازه تشکیل شده می گردد (۱۸). مکانیسمهایی مستقیما مرتبط با کاهش رنگدانه های فتوسنتزی، شامل توقف آنزیمهای درگیر در بیوسنتز کلروفیل مانند آمینولوولینیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیلیدردوکتاز است (۱۲ و ۳۹). همچنین جایگزین شدن یون منیزیم مرکزی کلروفیل بوسیله فلزات سنگین صدمه دیگری است که باعث جلوگیری از به دام انداختن نور فتوسنتزی و در نتیجه از بین رفتن کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی می شود (۳۰). کاهش محتوای کلروفیل می تواند دلیلی مستقیم برای کاهش فعالیت فتوسنتزی و در نتیجه کاهش تثبیت کربن در اثر غلظتهای بالای فلزات سنگین باشد (٤). در مورد بالا بودن میزان کلروفیل a و b در گیاهان گندم همزیست با قارچ در مقایسه با گیاهان شاهد می توان اینچنین توجیه کرد که احتمالاً بعلت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل کل در گیاهان میکوریزایی نقش قارچ میکوریزا در فراهم نمودن فسفر موردنیاز گیاه بعنوان حامل انرژی در طی فتوسنتز تأئید می شود (۱۳).

کل قندهای محلول ریشه و اندام هوایی نشان می دهد که با سمیت کادمیوم بموازات افزایش غلظت این فلز در محلول آزمایشی، میزان قند هم در ریشه و هم در اندام هوایی گیاه میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش می یابد. بسیاری از شرایط تنش زای محیطی برمتابولیسم قندها و بخش مواد فتوسنتزی در گیاهان در حال رشد اثر می گذارد. در گزارشاتی مبنی بر افزایش مقدار قندهای احیا کننده تحت شرایط تنش شوری، غرقابی و سرما نیز وجود دارد(٤۲). گزارش شده است که در گیاهک برنج (*Oryza sativa*) کادمیوم باعث افزایش قندهای احیا کننده می شود (٤۲). کادمیوم با کاهش انتقال آب به برگها و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندامکهای سلول و تغییر در رفتار آنزیمهای کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسم قند می شود. با کاهش انتقال آب به برگها و بدنبال تجمع کادمیوم در سلولها، محتوای قندهای احیا کننده در گیاه افزایش می یابد. این پدیده احتمالا مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت با کادمیوم است. علاوه بر نقش قندها در تنظیم فشار اسمزی تصور

Archive of SID
www.SID.ir

می شود با افزایش قندهای حل شونده، گیاه بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش، در حد مطلوب نگه دارد (۴۲). بنابراین افزایش قند درگیاهان تیمار شده با کادمیوم می تواند بعنوان دلیلی بر مقاومت بهتر این گیاه در مقابل تنش باشد.

همانطور که در نتایج گفته شد، اعمال تنش کادمیوم میزان پروتئین کل ریشه و اندام هوایی هر دو گیاه میکوریزایی و غیرمیکوریزایی را افزایش می دهد. چائوئی و همکارانش گزارش نمودند که افزایش محتوای پروتئین کل ریشه در اثر غلظتهای بالای فلز روی می تواند بدلیل افزایش سنتز بعضی از آنزیمها از جمله آنزیمهای آنتی اکسیدان و نیز سنتز پروتئینها و پلی پپتیدهای درگیر در سیستم دفاعی سلول باشد (۷). در اینجا نیز احتمال می رود علت افزایش مقدار پروتئین کل تحت تنش کادمیوم همین امر باشد. مولکولهای پروتئین به فلز متصل شده و تولید کمپلکسهای پروتئین – فلز به نام متالوتیونینها را می کند که اثرات سمی ناشی از فلز را خنثی می کنند (۷). همچنین تولید دسته دیگری از ملکولهای پروتئینی موسوم به فیتوکلاتینها تحت اثر غلظتهای بالای فلزاتی مانند کادمیوم، مس و روی افزایش پیدا می کند. این پروتئینها بدلیل داشتن گروههای سولفیدریل موجود در ساختمان سیستئین خود قادرند کاتیونها را بدام انداخته و در نتیجه سبب کاهش خسارت ناشی از آن باشند (۹).در مطالعه انجام شده توسط ریتو و همکارانش روی بیان پروتئین بین دو رقم نخود با درجه حساسیت متفاوت به کادمیوم در حضور و عدم حضور *Glomus mosseae* مشاهده شد که این قارچ باعث افزایش مقاومت رقم حساس به فلز می شود که این مسئله به نقش احتمالی قارچ میکوریزا در کمک به بیان ژنهای مسئول ساخت پروتئین اشاره دارد (۳۲).

در این بررسی محتوای مالون دی آلدئید (MDA) درحضور کادمیوم افزایش یافت. سلطانی و همکارانش گزارش کردند که تیمار کادمیوم در غلظت ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومول مقدار مالون دی آلدئید را در برگها و ریشه های گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) افزایش می دهد (۱). همچنین آنها گزارش نموده اند که با افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید در گیاهان تحت تنش کادمیوم، فعالیت لیپواکسیژناز افزایش می یابد (۱). این آنزیم اکسیژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع و با زنجیره طولانی حاوی یک پیوند سیس را کاتالیز می کند. لینولئیک اسید و لینولنیک اسید بیشترین اسیدهای چرب غیراشباع در ساختمان سلول گیاهی هستند که سوبسترای ایده آلی برای این آنزیم می باشند (۳۷).

مالون دی آلدئید بعنوان محصولی از پراکسیداسیون لیپید و شاخصی از تولید رادیکالهای آزاد و تخریب بافتی می باشد. در بررسی حاضر، گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی میزان مالون دی آلدئید بیشتری تولید کردند که بنظر می رسد در اینجا تخریب حاصله از رادیکالهای آزاد بوسیله یک سری مکانیسمهای میکوریزایی مستقیم و غیرمستقیم از قبیل دخالت در مسیرهای آنزیمی و یا عمل سمیت زدایی کاروتنوئیدها، بهبود می یابد (۳۵). بنابراین احتمال می رود که در این ارتباط آغشتگی میکوریزایی نقش مهمی در تحمل سمیت کادمیوم در گیاهان گندم ایفا نماید.

بررسی نتایج حاصل از آنالیز آماری داده ها، افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان شامل آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GUPX) را تحت تأثیر تنش فلز، هم در گیاه میکوریزایی و هم در گیاه شاهد نشان می دهد اما میزان افزایش فعالیت این آنزیمها عموماً در گیاهان میکوریزایی بالاتر از گیاهان غیرمیکوریزایی است. افزایش ظرفیت آنزیمهای آنتی اکسیدان یک پاسخ عمومی به مقادیر سمی فلزات سنگین می باشد (۴۰). آنزیمهای آنتی اکسیدان مهمترین ترکیبات در جلوگیری از استرس اکسیداتیو در گیاهان می باشند. موضوع فوق براساس این واقعیت استوار است که عموماً فعالیت یک یا چند مورد از

Archive of SID
www.SID.ir

این آنزیمها در گیاهان تحت تنش افزایش می یابد (۲). در این مطالعه نیز تنش کادمیوم باعث افزایش در فعالیت GUPX و APX شد که می تواند دلیل غیرمستقیمی بر افزایش فعالیت رادیکالهای آزاد تحت تنش کادمیوم باشد. قارچ *G.intraradices* بهترین اثر را بر افزایش فعالیت GUPX در هر دو اندام ریشه و اندام هوایی دارد. چنین تصور می شود که آنزیمهای آنتی اکسیدان یک سیستم دفاعی مهم گیاهی در برابر تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط فلزات است (٤٤). تغییر الگوی فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز در ریشه های میکوریزایی گزارش شده است و نشان می دهد که ترکیبات اکسیداتیو در طی فرآیند همزیستی میکوریزایی تولید می شوند (۲۰). در مورد فعالیت آنزیم GUPX ساقه، بین گیاهان شاهد و گیاهان کلونیزه شده با قارچ، تفاوت معنی داری ($p\leq0.05$) وجود دارد. این روند در مورد فعالیت این آنزیم در ریشه های گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی نیز صادق است. در باره افزایش فعالیت آنزیم APX در ریشه اختلاف معنی داری ($p\leq0.05$) بین گیاهان شاهد و گیاهان کلونیزه شده با قارچ مشاهده می شود. مشاهده فوق نشان دهنده این است که قسمت اعظم فرآیند تبدیل H_2O_2 به H_2O در ریشه گیاه گندم توسط آنزیم APX انجام می گیرد. ریشه گیاهان میکوریزایی شده با *G.intraradices* بدلیل انباشتن فلز کادمیوم در داخل ریسه های قارچی و در نتیجه تولید H_2O_2 بیشتر، فعالیت آنزیمی شدیدتری دارند.

آنالیز آماری داده های مربوط به تعیین درصد همزیستی در ریشه گیاهان همزیست با گونه قارچی مورد مطالعه ما نشان داد که در ریشه گیاهان همزیست با گونه قارچی، همراه با افزایش غلظت کادمیوم در محلول آزمایشی، درصد همزیستی کاهش می یابد. گیلدون و تینکر بیان کردند که نمونه های قارچ *G.mosseae* که از خاکهای آلوده به فلزات سنگین استخراج شده اند مقاومت بیشتری به فلز روی و کادمیوم در مقایسه با نمونه های قارچی استخراج شده از خاکهای غیر آلوده دارند (۱۵). تحقیقات مختلف، جوانه زنی متفاوت اسپورهای میکوریزایی را گزارش کرده اند. بعنوان مثال اسپورهای قارچ *G.intraradices* در غلظت یک میلی مولار کادمیوم یا غلظت ۱۰ میلی مولار فلز روی جوانه نمی زنند در صورتی که اسپورهای قارچ *G.etunicatum* تحت هر دو شرایط جوانه می زنند (۳۸). مقاومت و الگوهای متفاوت جوانه زنی اسپورهای میکوریزایی باعث پاسخ های متفاوت قارچهای میکوریزایی و تفاوت در همزیستی با ریشه گیاهان می شود .

در مجموع بنظر می رسد همزیستی میکوریزایی گیاه گندم با قارچ *Glomus intraradices* می تواند از طریق تعدادی از مسیرهای متابولیک و آنزیمی، رشد و نمو هماهنگ این گیاه را در شرایط تنش با فلز کادمیوم بهبود بخشد.

تشکر: بدینوسیله مؤلفین از جناب آقای دکتر ناصر علی اصغر زاده دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه تبریز به جهت تأمین مایه تلقیحی اولیه تشکر می کنند.

منابع

۱- سلطانی فریبا ، مه لقا قربانلی و خسرو منوچهری کلانتری (۱۳۸۵) – اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه های فتو سنتزی، قند ها و مالون دی آلدئید در گیاه کلزا – مجله زیست شناسی ایران (جلد ۱۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۵)

2. Allen R.D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiol. 107: 1049-1054.

3. Asada K. 1992. Ascorbate peroxidase – A hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. Physiologia Plantarum 85: 235-241.

4 .Baker A.J., Walker P.I. 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In Heavy Metal Tolerance in Plants; Evolutionary Aspects, ed. A.J. Show, pp. 155-178.

Archive of SID
www.SID.ir

5. Benavides M.P., Gallego S.M., Tomaro M.L. 2005. Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol. 17: 21-34.

6. Chang C.J., Kao C.M. 1998. H_2O_2 metabolism during senescence of rice leaves: Change in enzyme activities in light and darkness. Plant Growth Regulation 25: 11-15

7. Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M.H., Elferjani E. 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus valgaris* L.) Plant Science 127: 139-147.

8. Chen B.D., Li X.L., Tao H.Q., Christie P., Wong M.H. 2003. The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in calcareous soil spiked with various quantities of zinc. Chemosphere 50: 839-846.

9. Cobbett C.S. 2000. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. Plant Physiol. 123: 825-832.

10. Das P., Samantaray S., Rout G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. Environ. Pollution 98: 29-36.

11. Davies Jr. F.T., Puryear J.D., Newton R.J., Egilla N., Saraiva Grossi J.A., 2001. Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). J. Plant Physiol. 158: 777-786.

12. De Filipps L., Pallaghy C. 1994. Heavy metals sources and biological effects in algae and water pollution: Advances in Limnology Series. eds. L.C.Rai, J.P.

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

14. Fales F. 1951. The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. J. Biol. Chem. 193: 113-124.

15. Gildon A., Tinker P. 1981. A heavy metal tolerant strain of a mycorrhizal fungus. Trans. Br. Mycol. Soc. 77: 648:649.

16. Gouia H., Ghorbal M.H., Meyer C. 2001. Effect of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiology 38: 629-638.

17. Haghiri F. 1973. Cadmium uptake by plants. J. Environ. Qual. 2: 93-96.

18. Hegedus A., Erdi S., Horvath G. 2001. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress. Plant Science 160: 1085-1093.

19. Horst V. 2004. Further root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in already mycorrhizal plants in suppressed after a critical level of root colonization. J. Plant Physiol. 161: 339-341

20. Lambais M. 2000. Regulation of plant defence-related genes in arbuscular mycorrhizae. The American Phytopathological Society 45-59.

21. Larsson E.H., Bornman F.J., Asp H. 1998. Influence of UV-B radiation and Cd^{2+} on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. Experimental Botany 49: 9031-1039.

22. Leyval C., Turnau K., Haselwandter R. 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. Mycorrhiza 7: 139-153

23. Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. 1985. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf in different solvents. Biol. Soc. Trans. 11: 591-592.

24. Lowry O., Rosebrough N., Randal R. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 205-275.

25. Mc Gonigle T., Miller M., Swan J. 1990. A new method that gives an objective measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 115: 495-501

26. Michaelis A., Takehisa R., Aurich O. 1986. Ammonium chloride and zinc sulfate pretreatments reduce the yield of chromatid aberrations induced by TEM and maleic hydrazide in *Vicia faba*. Mutal. Res. 173: 187-191.

27. Ochi T., Ishigura T., Osakawa M. 1983. Participation of active oxygen species in the induction of MDA single– strand scissions by cadmium chloride in cultured Chinese hamster cells. Mutat. Res. 122: 169-175

28. Phillips J.M, Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55: 158-161.

29. Popham P.L., Novacky A. 1991. Use of dimethyl sulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria –induced hypersensitive reaction. Plant Physiol. 96: 1157-1160

Archive of SID

www.SID.ir

30. Prasad M., Strazalka K. 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis. J. Exp. Bot. 41: 314-320.

31. Ramos I., Esteban E., Lucena J.J., Garat A. 2002. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca sp*. Cd-Mn interaction. Plant Science. 162: 761-767

32. Repetto O., Bestel-Corre G. 2003. Targeted proteomics to identify cadmium-induced protein modifications in *Glomus mosseae* inoculated pea roots. New Phytologist 157: 555-567

33. Root R.A., Miller R.J., Koeppe D.E. 1975. Uptake of cadmium, its toxicity and effect of the iron ratio in hydroponically grown corn. J. Environ. Qual. 4: 473-476.

34. Rufykiri G., Huymans L., Wannijn J. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi can decrease the uptake of uranium by subterranean clover grown at high levels of uranium in soil. Euviron. Pollut. 130: 427-436.

35. Sanitá di Toppi L. , Gabbrielli R. , 1999. Response to cadmium in higher plants. Environ. Exp. Bot. 41:105-130.

36. Schutzendubel A., Schwanz P., Teichmann T., Gross K., Langenfeld R., Douglas L., Polle A. 2001. Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots. Plant physiology127: 887-898.

37. Skorzynska – Polit E., Pawlikowska-Pawlega B., Szczuka E., Drazkiewicz M., Krupa Z. 2005. The activity and localization of lipoxygenases in *Arabidopsis thaliana* under cadmium and copper stresses. Plant Growth Regulation 48: 29-39

38. Teresa E., Pawlowska S. 2004. Heavy metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. Applied and Environmental Microbiology 70: 6643-6649.

39. Van Assche F., Clijsters H. 1986. Inhibition of photosynthesis in Phaseolus vulgaris by treatment with toxic concentration of Zinc: effect on ribulose-1,5- bisphophate carboxylase oxygenase. J. Plant physiology 125: 355-360

40. Van Assche F., Cardinales C., Clijsters J. 1988. Induction of enzyme capacity in plants as a result of heavy metal toxicity: Dose-response relations in *Phaseolus vulgaris* L., treated with zinc and cadmium. Environmental Pollution 52: 103-115.

41. Vassilev A., Yordanov I. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium–treated plants – A review. Plant Physiology 23: 14-133.

42. Verma S., Dubey R.S. 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biologia Plantarum 44: 117-123

43. Vogel-Mikus K., Drobne D., Regvar M. 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonization of pennycress (*Thlaspi praecox* Wulf. Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter Slovenia. Environ. Pollut. 133: 233-242.

44. Weckx J.E.J., Clijsters H.M.M. 1996. Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. Physiol. Plantarum 26: 506-512.

www.SIPS.it

The effect of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on some growth and physiological parameters in wheat (cv. Azar2) plants under cadmium toxicity

Khalighi Jamal-Abad A. and Khara J.

Biology Dept., Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

Cadmium is a non-essential element that negatively affects plant growth and its development. In this study, the effect of an arbuscular mycorrhizal (AM) fungus *Glomus intraradices* on some growth and physiological traits such as fresh and dry weight of root and shoot, photosynthetic pigments, total sugars, total protein content, lipid peroxidation and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Azar2) plants under the toxic levels of cadmium was investigated. The experiment was performed by using two treatments (mycorrhizal and non-mycorrhizal) and four cadmium concentrations (0, 250, 750 and 2500 µM $CdCl_2$). Plants received 40 mL nutrient solution (with half P content) three times a week and also 40 mL test solution (contained cadmium) three times a week, alternatively. Plants were grown in a growth chamber with temperatures ranging from 23 to 27°C and a 14/10 light/dark period. Leaves and roots from 60-day-old plants were taken and used for investigation. Arbuscular mycorrhizal fungi had a significant influence on root and shoot fresh and dry weights, where the presence of AM fungus caused a decrease in the negative effect of Cd toxicity. Root length decreased due to an increase in Cd concentration, but there was no corresponding effect on the shoot length. Colonized plants showed less negative effect of Cd on their root length than non-AM plants. Determination of chlorophyll a and b content showed decreased chlorophyll content in both AM and non-AM plants by increasing Cd concentration, but this decrease in the mycorrhizal plants was lower than in non-mycorrhizal plants. By increasing in metal concentration, the content of total sugars and total proteins increased in both shoots and roots of AM plants. The amount of malondealdehyde (MDA) increased in roots and shoots of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants under Cd toxicity, indicating lipid peroxidation. Activity of detoxifying enzymes, guaiacol peroxidase (GUPX) and ascorbate peroxidase (APX) in AM and non-AM plants increased but the increase of these activities in mycorrhizal plants was higher than non-mycorrhizal ones. Root length colonization was measured by gridline intersect method. Mycorrhizal colonization decreased due to the Cd exposure significantly. According to these results, it is suggested that this fungus (*G. intraradices*) can help wheat plants to tolerate Cd toxicity.

www.SID.ir

Keywords: Mycorrhiza, Total sugars, Chlorophyll, Cadmium, Wheat