اثر کادمیوم بر رشد و جذب برخی عناصر غذایی در گیاه یونجه همزیست با *Rhizophagus intraradices*

الهام ملک‌زاده[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۸)

چکیده

هدف پژوهش، ارزیابی اثر سطوح کادمیوم بر رشد، جذب عناصر فسفر، آهن، روی، مس و منگنز در گیاه یونجه همزیست با قارچ *Rhizophagus intraradices* بود. آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی شامل دو سطح قارچ (تلقیح و عدم تلقیح با قارچ *R. intraradices*) و چهار سطح کادمیوم (۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میکرومولار کادمیوم) در سه تکرار انجام گردید. وزن خشک شاخسارها و ریشه گیاهان تلقیح شده با AM (M) و تلقیح‌نشده (NM) تحت تاثیر کادمیوم قرار گرفت. وزن خشک شاخسارها و ریشه در سطوح ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میکرومولار کادمیوم، به‌ترتیب کاهش ۰، ۸/۲، ۲۵ و ۹/۵، ۱۶/۲ و ۳۹/۸ درصدی نسبت به شاهد داشتند. وزن خشک شاخسارها و ریشه گیاهان M به‌ترتیب ۴۸/۷ و ۴۲/۸ درصد بیشتر از گیاهان NM بود. اثر قارچ بر جذب فسفر شاخسارها و ریشه معنی‌دار گردید. جذب فسفر شاخسارها و ریشه گیاهان M به‌ترتیب ۵۴/۱ و ۴۹/۶ در صد بیشتر از گیاهان NM بود. اثر کادمیوم بر در صد کلونیزاسیون ریشه و وابستگی مایکوریزی گیاه معنی‌دار گردید. در سطوح ۱۵ و ۳۰ میکرومولار کادمیوم، درصد کلونیزاسیون ریشه و وابستگی مایکوریزی به‌ترتیب افزایش ۳۸/۲، ۳۵/۷ و ۱۰۰، ۷۷ درصدی نسبت به تیمار شاهد داشتند. بیشترین کادمیوم جذب‌شده در شاخسارها و ریشه به‌ترتیب در تیمار مایکوریزی سطح ۱۵و ۴۵ میکرومولار کادمیوم بودند که افزایش ۸۱/۹۷ و ۷۱/۹۹ درصدی نسبت به تیمار غیرمایکوریزی در همان سطوح داشتند. با افزایش غلظت کادمیوم، از انتقال کادمیوم ریشه به شاخسارها کاسته شد. در تمام سطوح کادمیوم، مقدار آهن، روی، مس و منگنز غالباً در ریشه‌ها بیشتر از شاخسارها بود. به‌طورکلی، با افزایش غلظت کادمیوم، جذب آهن، روی، مس و منگنز در گیاه نسبت به شاهد کاهش یافت. در سطوح کادمیوم نسبت به شاهد، انتقال آهن، روی و منگنز از ریشه به شاخسارها کاهش و در مورد مس افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، عناصر ریزمغذی، فلزهای سنگین، قارچ آربسکولار مایکوریزا، گیاه علوفه‌ای

ملک‌زاده ا. ۱۳۹۹. اثر کادمیوم بر رشد و جذب برخی عناصر غذایی در گیاه یونجه همزیست با *Rhizophagus intraradices*. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۸، شماره ۴. صفحه: ۹۸-۱۱۵.

۱-استادیار گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (نویسنده مسئول)

* پست الکترونیک: malekzadeh.elham@gmail.com

مقدمه

امروزه، آلودگی محیط زیست از مسائل مهمی است که جوامع مختلف با آن روبه رو هستند و آلاینده ها از عوامل ایجاد کننده اختلال در محیط زیست به‌شمار می‌رو ند. آلودگی خاک با کادمیوم، یکی از مهم‌ترین آلودگی‌های زیست‌محیطی در بسیاری از کشورها ست. زیرا نه‌تنها با کاهش فعالیت بیولوژیکی و کاهش دستیابی زیستی به مواد مغذی، خصوصیات شیمیایی و به‌طور غیرمستقیم ویژگی‌های فیزیکی خاک را تحت تاثیر قرار می‌دهند، بلکه خطر جدی برای سلامتی انسان از طریق ورود در زنجیره غذایی و امنیت زیست‌محیطی محسوب می شوند (Dinakar *et al.*, 2008). کادمیوم با وزن اتمی ۱۱۲/۴، از طریق حفاری، صنایع فلزی و شیمیایی، آبکاری و کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها، وارد محیط‌زیست می‌شود. غلظت کادمیوم در خاک‌های غیرآلوده ۰/۰۴ تا ۰/۳۲ میکرومولار و در خاک هایی با آلودگی متوسط، ۰/۳۲ تا ۱ میکرومولار گزارش شده است (Wagner *et al.*, 1993). عباس‌پور و همکاران (Abbaspour *et al.*, 2006)، شدت آلودگی برخی خاک‌های کشاورزی ایران به کادمیوم را در استان‌های گیلان، زنجان، اصفهان و چهارمحال و بختیاری بررسی کردند. نتایج نشان داد که مقدار کادمیوم بین ۱/۹ تا ۱۸۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک است. این در حالی است که حداکثر مقدار مجاز کادمیوم در خاک توسط بسیاری از کشورهای اروپایی ۱ تا ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک تعیین شده است. کادمیوم ممکن است موجب ضایعات کلیوی، افزایش فشار خون، سرطان‌زایی به‌وسیله توانایی در ایجاد جهش شود (FAO, 1999; Howard, 2002). سمیت کادمیوم در گیاه ناشی از رقابت آن در رفتار بیوشیمیایی و جذب توسط گیاه در مقایسه با عناصر ریزمغذی ضروری مانند مس، آهن، منگنز و روی است که باعث اختلال در وظایف بیوشیمیایی این عناصر می‌گردد (Zhang *et al.*, 2014a, b). به‌علت خواص شیمیایی مشابه کادمیوم و روی، جذب و انتقال این دو عنصر در داخل گیاه ممکن است از مسیرهای مشابهی صورت گیرد (Zhang *et al.*, 2002). به دنبال افزایش غلظت فلزهای سنگین مانند کادمیوم در محلول خاک، کمبود عناصر غذایی در گیاهان، کاهش و تاخیر در رشد، جلوگیری از سنتز کلروفیل، زرد و قهوه‌ای شدن برگ‌ها و ریشه، نکروز و ریزش برگ‌ها، کاهش هدایت هیدرولیکی، کم شدن انبساط سلولی و تجمع فلزهای سمی در گیاه اتفاق می‌افتد (Ghaderian & Hajiani, 2010; Sahmurova *et al.*, 2010). علوفه و مواد غذایی که دام مصرف می‌کند، بخشی از چرخه عناصر غذایی انسان محسوب می‌گردد. آلودگی گیاهان علوفه‌ای به فلزهای سنگین می‌تواند منجر به بروز مشکلات جدی در زنجیره غذایی انسان گردد. در بین گیاهان علوفه‌ای، گیاهان خانواده لگومینوز و از این خانواده، یونجه (*Medicago sativa*) به‌دلیل دارا بودن ریشه‌های عمیق، بومی بودن و رشد نسبتاً سریع در آب و هوای سرد و گرم، از اهمیت بیشتری برخوردار ند (Grath *et al.*, 2000). برای کاهش غلظت و اثر سمی فلزهای سنگین، راه‌کارهایی وجود دارد که از این میان، ریزجاندارانی که در ارتباط نزدیک با ریشه گیاهان قرار می‌گیرند، ترجیح داده می شوند. زیرا می‌توانند رشد گیاه و جذب فلز را به روش‌های سازگار با محیط‌زیست تحت تاثیر قرار دهند (Wu *et al.*, 2015). قارچ‌های AM دارای رابطه همزیستی مسالمت آمیز دوجانبه با ریشه اغلب گیاهان هستند و با کمک به جذب عناصر غذایی، از جمله فسفر و عناصر ریزمغذی، افزایش جذب آب، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و کاهش اثرات منفی ناشی از تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده، از جمله تنش فلزهای سنگین سبب بقا و بهبود رشد گیاهان می شوند (Karimi *et al.*, 2011). این قارچ‌ها تقریباً ۵ تا ۳۶ درصد زیتوده خاک و ۹ تا ۵۵ در صد زیتوده ریزجانداران خاک را در اراضی کشاورزی شامل می‌شوند (Olsson *et al.*, 1999). قارچ‌های AM در اغلب خاک‌ها، از جمله خاک‌های آلوده به فلزهای سنگین حضور دارند (Gohre & Paszkowski, 2006). به نظر می‌رسد، اثر قارچ AM بر تغذیه گیاه در مورد عناصر دارای انتشار محدود در اطراف ریشه گیاه مانند فسفر و عناصر ریزمغذی تحت شرایط آلوده به فلزهای سنگین قابل توجه باشد. از سوی دیگر، نقش قارچ AM در جذب فلزهای سنگین و/یا کاهش سمیت آن‌ها در گیاه میزبان، مشخص نیست. برخی عدم تاثیر،کاهش یا افزایش در جذب فلزهای سمی توسط گیاه را گزارش کرده‌اند (Joner & Leyval, 1997; Mozafar *et al.*, 2002). همچنین، گزارش شده است که قارچ‌های AM

گیاهان را از اثرهای سمی غلظت‌های زیاد فلزهای سنگین متعدد محافظت می‌کنند که احتمالاً به‌واسطه غیرپویایی فلزها در هیف‌های برون ریشه‌ای یا کاهش انتقال فلزها به شاخسارهای گیاه (Mozafar *et al.*, 2002)، افزایش جذب فسفر، رقتِ فلزهای سمی، بهبود استقرار و تغذیه گیاه، ممانعت از جذب و تحریک تولید کی‌لیت‌کننده‌ها (تثبت کننده‌های فلز) روی می‌دهد (Tabrizi *et al.*, 2015). بنابراین، قارچ‌های AM می‌توانند غلظت فلزهای سمی را در گیاه میزبان افزایش دهند. در چنین شرایطی، اثر فلز سمی نظیر کادمیوم به‌دلیل پویایی زیاد در خاک، بر غلظت و میزان جذب عناصر ریزمغذی در گیاهان علوفه‌ای به‌خاطر اثربخشی بر زنجیره غذایی انسان قابل توجه خواهد بود. چراکه، به‌نظر می‌رسد قارچ‌های AM می‌توانند از گیاه در برابر فلزهای سمی محافظت کنند. قرینه و همکاران (Gharineh *et al.*, 2012) گزارش کردند در گیاهان تلقیح‌شده با AM، به ترتیب مقدار Zn و Cu شاخساره بیشتر و مقدار Cd و Mn شاخساره کمتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود، در حالی‌که غلظت Fe شاخساره مشابه بود. جیانفنگ و همکاران (Jianfeng *et al.*, 2009) اذعان داشتند در گیاه *Nicotiana tabacum*، قارچ AM تجمع As را کاهش و جذب P را افزایش داد. سیتریو و همکاران (Citterio *et al.*, 2005) مشاهده کردند علی‌رغم کاهش رشد گیاه شاهدانه، گیاهان تلقیح شده با AM، مقدار Cr، Ni و Cd بیشتری در شاخساره تجمع دادند. گومز و همکاران (Gomes *et al.*, 2013) در بررسی اثر سطوح کادمیوم (۰، ۵، ۲۵، ۴۵ و ۹۰ میکرومولار) بر تغذیه معدنی گیاه بیشا ندوز *Pfaffia glomerata*، گزارش کردند که در تمام تیمارهای کادمیوم، غلظت Fe، Zn و Cu در ریشه‌ها بیشتر از شاخساره‌ها بود. همچنین، غلظت Fe، Zn و Cu در شاخساره‌های تمام گیاهان تیمار شده با کادمیوم کمتر از شاهد بود. در تمام سطوح کادمیوم، غلظت Mn در شاخساره‌ها بیشتر از ریشه‌ها بود، در حالی‌که غلظت منگنز شاخساره‌ها و ریشه‌های گیاهان تیمارشده با کادمیوم کمتر از گیاه شاهد بود. در خاک آلوده به فلز سنگین، محتوای عناصر ریزمغذی گیاهان به قابلیت دسترسی زیستی در خاک، جذب توسط ریشه‌های گیاه و مکانیسم‌های کارا در انتقال، توزیع و ذخیره آن‌ها بستگی دارد که این موضوع نیز به ماهیت شیمیایی عناصر و رقابت بین آن‌ها وابسته است (Cozzolino *et al.*, 2010). بنابراین، به نظر می‌رسد پتانسیل کاربرد قارچ‌های AM در خاک آلوده به فلز سنگین، تابع ویژگی‌هایی نظیر گونه قارچ AM، گونه گیاه میزبان، برهم‌کنش آن‌ها با یکدیگر و با فلزهای سمی و عناصر مغذی باشد. در نتیجه، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر مایه‌زنی گیاه یونجه با قارچ *Rhizophagus intraradices* بر وزن ماده خشک، درصد کلونیزاسیون ریشه و جذب عناصر ریزمغذی آهن، روی، مس و منگنز در شاخسارها و ریشه گیاه در سطوح مختلف کادمیوم صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

کشت گلدانی به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. جهت تهیه بستر کشت، از شن عبور یافته از الک دو میلی‌متری استفاده گردید. شن هوا خشک‌شده به مدت یک ساعت در دمای ^{0}C ۱۲۱ توسط اتوکلاو استریل و در گلدان‌های ۱/۵ کیلوگرمی قرار گرفت. به منظور زدودن آلودگی‌های سطحی، بذرهای یونجه (*Medicago sativa* L.) بعد از چندین بار شستشو با آب مقطر استریل و غوطه‌ورسازی در اتانول ٪۷۰ (حجمی/حجمی) به مدت ۶۰ ثانیه، به داخل محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد انتقال یافتند و بعد از ۱۵ دقیقه، حدود ده بار با آب مقطر استریل کاملاً شستشو گردیدند (Park & Ahn, 2016). تعداد ۳۰ عدد بذر گیاه یونجه کشت گردید. در هر گلدان ۵۰ گرم از زادمایه قارچ *R. intraradices* (۱۵ اسپور در گرم) به صورت لایه نازک در یک سانتی‌متری زیر بذور به طور یکنواخت پخش گردید. زادمایه اولیه قارچ *R. intraradices* از بخش بیولوژی گروه علوم خاک دانشگاه شیراز اخذ گردید و به روش کشت تله‌گلدانی در همزیستی با گیاه ذرت تکثیر گردید. شمارش اسپورها به روش الک تر (Gerdemann & Nicolson, 1963) انجام شد. در گیاهان تلقیح‌نشده، همان مقدار زادمایه پس از استریل با اتوکلاو، اضافه گردید. پس از جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، تعداد آن‌ها به ۲۰ عدد کاهش یافت. گیاهان در اتاقک رشد به مدت ۱۲ هفته در شرایط دوره نوری ۱۶ ساعت رو شنایی (^{0}C ۲۵) و ۸ ساعت تاریکی (^{0}C ۲۰) نگهداری شدند و از هفته دوم، بعد از جوانه زنی، یک روز در میان با محلول غذایی هوگلند (Millner

& Kitt, 1992) حاوی سطوح مختلف کادمیوم (۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میکرومول کادمیوم در لیتر محلول غذایی) از منبع نیترات کادمیوم، دارای بافر MES ۰/۵ میلی‌مولار برای حفظ pH= ۶/۱ (۱۷) آبیاری شدند. برای یکسان‌سازی اثر نیترات در سایر تیمارها نسبت به تیمار ۴۵ میکرومولار کادمیوم، نیتروژن به‌صورت نیترات سدیم در مقادیر مساوی با نیتروژن اضافه شده به بالاترین سطح کادمیوم افزوده شد (Janouskova *et al.*, 2005). گیاهان به مدت چهار هفته با محلول غذایی هوگلند حاوی نصف غلظت فسفر آبیاری شدند. سپس آبیاری با محلول غذایی کامل انجام شد.

پس از سپری شدن دوره رشد، بخش هوایی گیاهان برداشت گردید. پس از تهیه نمونه از ریشه‌های تر برای تعیین در صد کلونیزا سیون ریشه، باقی‌مانده ریشه‌ها و شاخسارها در دمای ^0C ۷۰ به مدت ۴۸ ساعت خشک گرد ید. رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلونیزاسیون مایکوریزی با استفاده از روش تغییر یافته کورمانیک و مک گراو (Kormanik & McGraw, 1982) انجام شد. جهت هضم نمونه های گیاهی، از روش تغییر یافته ویلینگ و همکاران (Waling *et al.*, 1989) استفاده گردید، سپس، غلظت فسفر به روش رنگ سنجی وانادات-مولیبدات (Cottenie, 1980) توسط اسپکتروفتومتر و غلظت کادمیوم، آهن، روی، مس و منگنز شاخسارها و ریشه توسط دستگاه جذب اتمی قرائت گردید. برای ارزیابی نیاز گیاه به همزیست مایکوریزی (Tawaraya, 2003)، شاخص وابستگی مایکوریزی[1](MD) و فاکتور انتقال عناصر (Chen *et al.*, 2006) کادمیوم، آهن، روی، مس و منگنز از روابط (۱) و (۲) محاسبه شدند:

$$MD(\%) = \frac{\text{وزن خشک گیاه تلقیح‌نشده- وزن خشک گیاه تلقیح‌شده با AM}}{\text{وزن خشک گیاه تلقیح‌شده با AM}} \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

$$\text{فاکتور انتقال (Translocation factor)} = \frac{\text{غلظت عنصر در شاخساره}}{\text{غلظت عنصر در ریشه}} \quad (۲)$$

آزمون تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها به‌وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد، با استفاده از نرم افزار آماری IBM SPSS 22 انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

وزن خشک شاخسارها و ریشه

اثر اصلی قارچ و کادمیوم بر وزن خشک شاخسارها و ریشه معنی‌دار گردید (جدول ۱). اثرمتقابل قارچ و کادمیوم بر وزن خشک شاخسارها غیرمعنی‌دار و بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطح کادمیوم، وزن خشک شاخسارها و ریشه به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (شکل A-۱)، کادمیوم به‌دلیل پویایی زیاد، دارای اثرات مخرب متعدد از جمله اختلال در فرآیند تقسیم سلولی، تنفس و فتوسنتز، تخریب کلروفیل و ایجاد کلروز و نکروز در برگ‌ها، برهم‌زدن تعادل آبی گیاه، تغییر در نفوذپذیری غشاء سلولی و اختلال در فعالیت های آنزیمی می باشد (Sharma & Dietz, 2006). علی و همکاران (Ali *et al.*, 2004) تحمل و تجمع کادمیوم را در گیاه *Phragmite australis* بررسی و مشاهده کردند با افزایش غلظت کادمیوم محلول غذایی، ارتفاع شاخساره و وزن گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. ژی-شی و همکاران (Zhi-Xin *et al.*, 2007) در مطالعه تجمع کادمیوم و سرب در شاخسارهای گیاهان آفتابگردان، کرچک، یونجه و خردل در کشت هیدروپونیک، گزارش کردند که زیتوده گیاهان با افزایش غلظت فلزهای سمی کاهش یافت. ژیکیانگ و همکاران (Zhiqiang *et al.*, 2009) در بررسی اثر سطوح مختلف سرب بر رشد و جوانه‌زنی چهار رقم کلم دریافتند تحت تنش سرب، طول ریشه و شاخسارهای همه ارقام به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. در تمام سطوح کادمیوم، وزن خشک شاخسارها و ریشه در گیاهان تلقیح شده با AM بیشتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. افزایش زیتوده گیاه و اعمال اثر رقت توسط گیاهان تلقیح شده با AM می‌تواند در تخفیف اثر سمی کادمیوم موثر باشد (Shahabivand *et al.*, 2012).

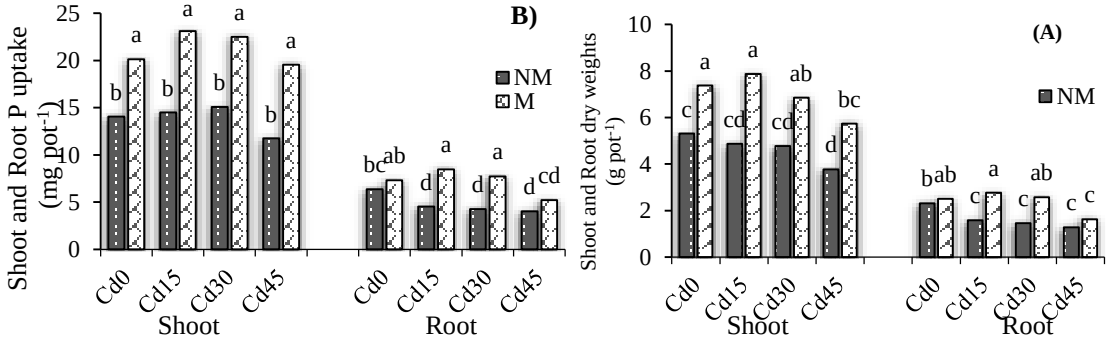
1 Mycorrhizal dependency

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر اصلی و متقابل قارچ *R. intraradices* و کادمیوم بر رشد، جذب عناصر غذایی در شاخسارها و ریشه و فاکتور انتقال عناصر از ریشه به شاخسارها در گیاه یونجه

Table 1. Variance analysis of the significance of *R. intraradices*, Cd and their interactions on growth, shoot and root nutrient contents and their translocation factor from root to shoot by alfalfa plant

		Source of variation				
		Fungus (F)	Cd	F×Cd	Error	CV(%)
Mean Square	Degree of freedom	1	3	3	16	-
	Shoot dry weight	31.1^{***}	3.42^{**}	0.350^{ns}	0.567	12.9
	Root dry weight	3.04^{***}	1.003^{***}	0.395^{**}	0.043	10.3
	Shoot Cd uptake	16831.8^{***}	28174.4^{***}	2016.9^{**}	263.3	14.8
	Root Cd uptake	47345.8^{***}	75294.1^{***}	5778.6^{**}	822.7	17.1
	Shoot P uptake	336.6^{***}	13.8^{ns}	1.69^{ns}	4.99	12.7
	Root P uptake	34.1^{***}	5.8^{***}	3.5^{**}	0.543	12.3
	Shoot Fe uptake	1908508.4^{***}	2770779.1^{***}	177381.6^{**}	25900.1	13.3
	Root Fe uptake	4830878.3^{***}	13442031.3^{***}	1702869.1^{**}	233347.13	27.3
	Shoot Zn uptake	326120^{***}	611916.1^{***}	43193.4^{*}	10351.2	19.3
	Root Zn uptake	66121.9^{***}	546436.4^{***}	1877.8^{ns}	1101.9	10.7
	Shoot Cu uptake	39645.4^{***}	5391.7^{***}	1327.8^{*}	386.4	15.8
	Root Cu uptake	15072.6^{***}	38553.8^{***}	1534.7^{*}	425.5	17.7
	Shoot Mn uptake	365259.7^{***}	621338.45^{***}	44178.8^{**}	5840.9	15.3
	Root Mn uptake	101727.6^{***}	156388.6^{***}	31729.1^{*}	9308.9	19.3
	Cd-Translocation factor	0.000043^{ns}	0.077^{***}	0.003^{***}	0.000066	5.1
	Fe-Translocation factor	0.015^{ns}	0.098^{***}	0.023^{**}	0.004	19.4
	Zn-Translocation factor	0.006^{ns}	0.917^{***}	0.023^{ns}	0.012	14.8
	Cu-Translocation factor	0.06^{***}	0.584^{***}	0.022^{***}	0.001	6.5
	Mn-Translocation factor	0.026^{ns}	0.26^{***}	0.035^{ns}	0.016	15.4

ns: not significant, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001



شکل ۱- وزن خشک شاخسارها و ریشه (A) و جذب فسفر شاخسارها و ریشه (B) گیاه یونجه همزیست با R. intraradices **در سطوح کادمیوم.** M **و** NM **عبارتند از گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با** AM.

Figure 1. Shoot and root Dry weights (A) and P contents of shoot and root of alfalfa colonized by *R. intraradices* at Cd levels. M and NM are representing mycorrhizal and non-mycorrhizal plants.

کمترین وزن خشک شاخسارها و ریشه در تیمار غیرمایکوریزی سطح ۴۵ میکرومولار بود که نسبت به بیشترین مقدار وزن خشک شاخسارها و ریشه در تیمار مایکوریزی سطح ۱۵ میکرومولار به ترتیب کاهش ۵۲/۱ و ۵۳/۸ در صدی داشتند (شکل A-۱). وزن خشک گیاه ذرت همزیست با سه جدایه قارچ *گلوموس اینترارادیسز* (به نام جدید *رایزوفاگوس اینترارادیسز*) در خاک آلوده به سرب (Sudova & Vosatka, 2007) و گیاه *Elsholtzia splendens* همزیست با چهار جدایه قارچ گلوموس در خاک آلوده به سرب، روی، مس و کادمیوم (Wang *et al.*, 2005) نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده افزایش یافت. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2010) افزایش چشمگیر عملکرد باقلا در خاک‌های آلوده به سرب در اثر مایه‌زنی با مایکوریزا را گزارش کردند. جذب بهتر عناصر غذایی به دلیل انتشار مایسلیوم‌های[2] بیرونی قارچ، تشکیل سیستم جذب اضافی و مکمل سیستم

2.Mycelium

ریشه گیاه، توان بالای جذب و انتقال مواد مغذی توسط آن ها، می‌توانند از دلایل زیتوده بیشتر در گیاهان تلقیح‌شده با AM در مقایسه با تلقیح‌نشده باشد (Feddermann *et al.*, 2010; Punamiya *et al.*, 2010). مایه‌زنی با مایکوریزا در خاک‌های آلوده به فلزهای سمی با افزایش جذب عناصرغذایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده رادیکال های آزاد (ROS) و نیز تحریک سیستم فنولیک گیاه، سمیت آن‌ها را در ریشه گیاهان کاهش داده و منجر به افزایش طول و وزن خشک شاخسارهای گیاهی می‌گردد (Marquez et al., 2008).

جذب فسفر در شاخسارها و ریشه

اثر اصلی قارچ بر جذب فسفر شاخسارها معنی‌دار، ولی اثر اصلی سطوح کادمیوم و اثر متقابل قارچ و کادمیوم بر این ویژگی غیرمعنی‌دار گردید (جدول ۱). اثر اصلی قارچ، سطوح کادمیوم و اثر متقابل قارچ و کادمیوم بر جذب فسفر ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱). بین سطوح مختلف کادمیوم، جذب فسفر شاخسارها در گیاهان تلقیح‌شده با AM و نیز تلقیح‌نشده اختلاف معنی‌دار نداشتند (شکل B-۱). افزایش جذب فسفر تحت شرایط تنش فلزی در پژوهش‌های مختلفی گزارش شده است (Zhang *et al*., 2015; Tabrizi *et al*., 2015; Jianfeng *et al*., 2009; Kapoor & Bhatnagar, 2007; Zhang *et al*., 2006). افزایش جذب فسفر نه‌تنها می‌تواند منجر به سمیت‌زدایی کادمیوم در گرانول‌های پلی‌فسفات گردد (Yao *et al*., 2013)، بلکه می‌تواند با افزایش زیتوده گیاه و اثر رقت، از سمیت کادمیوم بکاهد (Shahabivand *et al*., 2012). افزایش جذب فسفر در گیاهان تلقیح شده با AM منجر به افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه گردید (شکل A-۱). این نتایج مشابه پژوهش‌های پیشین است که کلونیزاسیون مایکوریزی ریشه با تقویت جذب فسفر، رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Amir *et al*., 2013; Saad *et al*., 2013). فسفر در بیوسنتز گلوتاتیون-ترکیبی که پیش‌نیاز سنتز فیتوکلاتین می‌باشد، دخیل است (Sarwar *et al*., 2010) و نقش فیتوکلاتین‌ها در محصور کردن کادمیوم داخل واکوئل‌ها از طریق تشکیل کمپلکس کادمیوم-فیتوکلاتین شناخته شده است (Salt & Rauser, 1995). علاوه‌براین، مقادیر بالای فسفر در گیاه، با افزایش غلظت فلزهای سنگین، آشکارا با افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آن مرتبط است که با کاهش تنش اکسیداتیو از آسیب غشایی ممانعت بعمل آورده است (Wang *et al*., 2009). در گیاهان تلقیح‌شده با AM، جذب فسفر ریشه با افزایش سطح کادمیوم تا سطح ۳۰ میکرومولار تغییری نداشت و در سطح ۴۵ میکرومولار کاهش معنی‌دار داشت. در حالی که در گیاهان تلقیح‌نشده، جذب فسفر علی‌رغم عدم اختلاف معنی‌دار بین سطوح کادمیوم نسبت به شاهد کاهش داشت (شکل B-۱). جذب فسفر شاخسارها و ریشه در گیاهان تلقیح‌شده با AM به ترتیب افزایش ۵۴/۱۵ و ۴۹/۶ درصدی نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده داشت. بیشترین مقدار جذب فسفر ریشه در تیمار مایکوریزی سطح ۱۵ میکرومولار بود که افزایش ۱۱۰/۹ درصدی نسبت به کمترین مقدار جذب فسفر ریشه در تیمار غیرمایکوریزی سطح ۴۵ میکرومولار کادمیوم داشت (شکل B-۱). از یک‌سو مایسلیوم‌های قارچی به دلیل ثابت مایکلیس-منتن (Km) پایین و از سوی دیگر به‌خاطر قطر بسیار ریزتر از ریشه‌های موئین (۵ در برابر ۱۵۰ میکرون) و دسترسی به حجم وسیعی از خاک اطراف ریشه، شیب غلظتی از فسفر را در پیرامون مایسلیوم‌های برون ریشه‌ای فرآهم می‌کنند. در نتیجه، حتی در غلظت‌های کم فسفر، مقدار بیشتری فسفر جذب گیاه می‌گردد و به شکل گرانول‌های پلی‌فسفات و فیتات در ریشه‌های کلونیزه‌شده تجمع می‌یابد (Zhu *et al*., 2010). سرور و همکاران (Sarwar *et al*., 2010) استدلال کردند که جذب بالای فسفر، رابطه مستقیمی با مقدار کادمیوم بافت‌های گیاه دارد و ممکن است گیاه با جذب فسفر، اثر سمی کادمیوم را به‌واسطه رقیق سازی کاهش دهد.

درصد کلونیزاسیون ریشه و وابستگی مایکوریزی

اثر سطوح کادمیوم بر درصد کلونیزاسیون ریشه و وابستگی مایکوریزی گیاه معنی‌دار گردید (جدول ۲). درصد کلونیزاسیون ریشه و وابستگی مایکوریزی با افزایش سطح کادمیوم تا ۱۵ و ۳۰ میکرومولار، به‌ترتیب افزایش۳۸/۲، ۳۵/۷ درصد و ۱۰۰، ۷۷ درصدی نسبت به شاهد داشتند (شکل A-۲). افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه با افزایش غلظت کادمیوم بیانگر افزایش وابستگی و ترجیح گیاه جهت برقراری همزیستی (شکل B-۲) در شرایط تنش فلزی می‌باشد (Audet & Charest, 2006). با افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه، وزن خشک

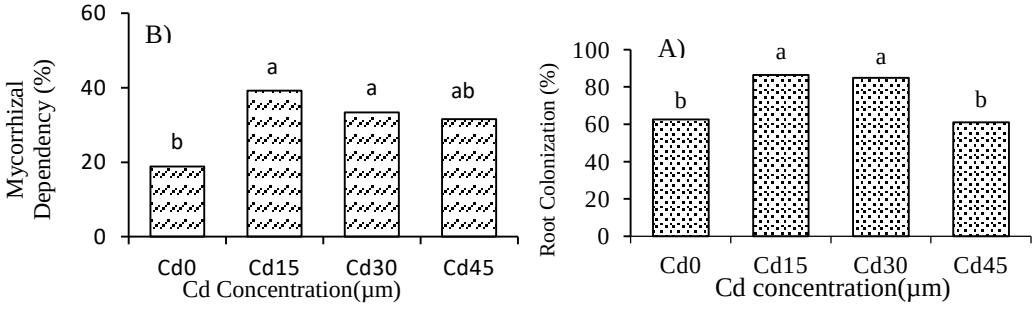
شاخسارها نیز افزایش یافته است. به‌عبارت بهتر، افزایش توانایی گیاه در جذب فسفر، افزایش وزن خشک گیاه را در پی داشته است (شکل A-۱). افزایش وابستگی مایکوریزی در خاک‌های آلوده به فلزهای سمی، از اهمیت بیشتری برخوردار می‌باشد. چراکه خصوصیات شیمیایی حاکم بر این نوع خاک‌ها و غلظت بیش از حد فلزهای سمی، باعث عدم جذب سایر عناصر موردنیاز گیاه شده و منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاه خواهد شد. در سطح ۴۵ میکرومولار کادمیوم، درصد کلونیزاسیون ریشه و وابستگی مایکوریزی کاهش یافت که اختلاف معنی‌دار آماری با تیمار شاهد نداشت (شکل ۲). کاهش کلونیزاسیون با افزایش تنش در گیاهان تلقیح‌شده با AM توسط محققان گزارش شده است (Andrade *et al*., 2004; Pawlowska & Charvat, 2004; Zhang *et al*., 2015). رسک و همکاران (Rask *et al*., 2019) گزارش کردند در چهار گونه گیاه (*Hordeum vulgare*، *Linum usitatissimum*، *Sorghum bicolor* و *Matricaria recutita*) تلقیح‌شده با قارچ AM کلونیزاسیون ریشه با افزایش سطح کادمیوم تا غلظت مشخصی، افزایش و سپس کاهش یافت. به عبارت بهتر، همزیستی تا آستانه مشخصی از غلظت کادمیوم توسط قارچ AM گسترش می‌یابد و بعد از آن محدود می شود. زیرا همزیستی با قارچ AM وابسته به فتوسنتز گیاه است (Lenoir *et al*., 2016). در نتیجه، در بالاترین غلظت کادمیوم، از یک سو به‌دلیل کاهش سهم فتوسنتزی قارچ (Rask *et al*.,2019) و از سوی دیگر برای حفاظت گیاه میزبان از غلظت بالای کادمیوم، کلونیزاسیون ریشه کاهش می‌یابد (Zhang *et al*., 2015). گسترش همزیستی تابع شرایط گیاه میزبان می‌باشد و در شرایط نامساعد برای گیاه، کلونیزاسیون تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Pawlowska & Charvat, 2004).

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس اثر کادمیوم بر درصد کلونیزاسیون ریشه و وابستگی مایکوریزی

Table 2. Variance analysis of the significance of Cd on root colonization and mycorrhizal dependency percentage

Source of variation	Degree of freedom	Mean Square	
		Root colonization	Mycorrhizal dependency
Cd	3	569.6***	220.9*
Error	8	7.84	52.99
CV		3.8	23.7

ns: not significant, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001



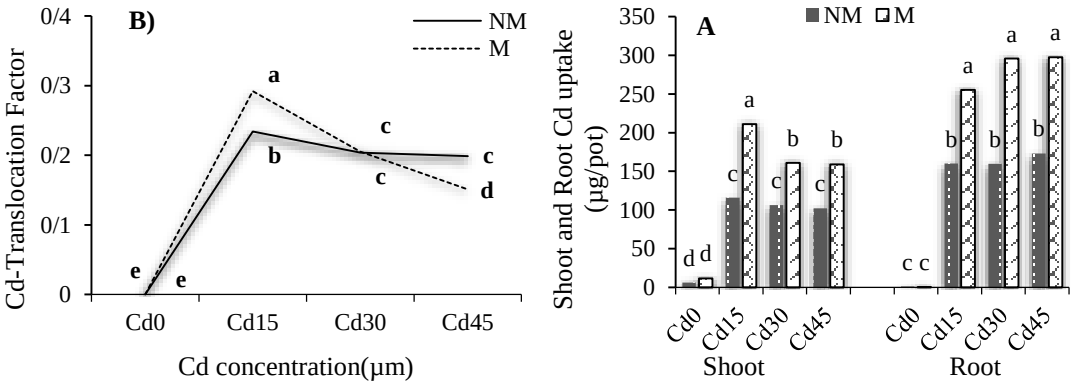
شکل ۲- درصد کلونیزاسیون ریشه (A) و وابستگی مایکوریزی (B) گیاه یونجه همزیست با R. intraradices در سطوح کادمیوم. M و NM عبارتند از گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با AM.

Figure 2. Root colonization (A) and mycorrhizal dependency percentage of alfalfa colonized by *R. intraradices* at Cd levels. M and NM are representing mycorrhizal and non-mycorrhizal plants.

جذب کادمیوم در شاخسارها و ریشه و فاکتور انتقال از ریشه به شاخسارها

اثر اصلی قارچ، سطوح کادمیوم و اثرمتقابل آن‌ها بر جذب کادمیوم در شاخسارها و ریشه معنی‌دار گردید (جدول ۱). در سطوح مختلف کادمیوم، جذب کادمیوم در شاخسارها و ریشه گیاهان تلقیح شده با AM به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. با افزایش سطح کادمیوم، جذب کادمیوم به‌ترتیب در شاخسارها و ریشه گیاهان تلقیح شده با AM و تلقیح‌نشده کاهش و افزایش نشان داد (شکل A-۳). حسین و همکاران (Hossain *et al*., 2012) بیان داشتند که گیاهان استراتژی‌های متفاوتی برای روبروی با فلزهای سنگین

اتخاذ می‌کنند تا غلظت فلزهای ورودی به سلول را از طریق ترسیب برون سلولی، جذب سطحی به دیواره سلولی، کاهش جذب یا افزایش انتشار به خارج، کاهش دهند. بعلاوه، گیاهان طیف وسیعی از مکانیسم‌های تحمل و سمیت‌زدایی دارند که در درجه اول در جلوگیری از غلظت‌های سمی در نقاط حساس داخل سلولی نقش دارند و سپس اثرات آسیب‌زننده را مانع می‌شوند (Hall & William, 2003). در نتیجه، فلزات در غلظت‌های بالا، اغلب در ریشه‌ها ذخیره می‌شوند تا فرآیندهای فیزیولوژیک کمتر تحت تاثیر قرار گیرند. بیسنت و همکاران (Bissonnette *et al*., 2010) گزارش کردند قارچ *Rhizophagus intraradices* در همزیستی با گیاه *Salix viminalis* غلظت کادمیوم را در شاخسارها کاهش ولی در ریشه‌ها افزایش داد. جیانگ و همکاران (Jiang *et al*., 2016) دریافتند مایه‌زنی گیاه *L. japonica* با قارچ *R. intratadices*، غلظت کادمیوم را در شاخسارها کاهش ولی در ریشه‌های گیاه افزایش داد. آن‌ها کاهش غلظت کادمیوم در شاخسارها با مکانیسم‌های احتمالی اینگونه توضیح دادند: ۱) مایسلیوم‌های مایکوریزی با جذب سطحی و غیرپویایی کادمیوم از انتقال آن به شاخسارها ممانعت می‌کنند؛ ۲) افزایش زیتوده گیاه و کاهش تخصیص کادمیوم به شاخسارها با "اثر رقت" مرتبط است. بیشترین کادمیوم جذب‌شده در شاخسارها، در تیمار مایکوریزی سطح ۱۵ میکرومولار افزایش ۳۴ برابری نسبت به تیمار شاهد داشت. بیشترین جذب کادمیوم ریشه، در تیمار مایکوریزی سطح ۴۵ میکرومولار بود که اختلاف معنی‌دار آماری با تیمار مایکوریزی سطوح ۱۵ و ۳۰ میکرومولار نداشت (شکل A-۳). دِ ماریا و همکاران (De Maria *et al*., 2013) در یافتند که آفتابگردان، کادمیوم را عمدتا در ریشه‌ها و برگ‌های پیر تجمع می‌دهد. جذب و تحمل بیشتر غلظت‌های بالای کادمیوم در گیاهان تلقیح‌شده با AM نسبت به تلقیح‌نشده با افزایش سمیت کادمیوم و در سطوح مشابه بیانگر نقش موثر کلونیزاسیون ریشه گیاه یونجه توسط قارچ *R. intraradices* در افزایش مقاومت گیاه و افزایش بقای آن و در نتیجه جذب گیاهی کادمیوم بیشتر می‌باشد (شکل A-۳).



شکل ۳- جذب کادمیوم شاخسارها و ریشه (A) و فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به شاخسارها (B) گیاه یونجه همزیست با R. intraradices **در سطوح کادمیوم. M و NM عبارتند از گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با** AM.

Figure 3. Cd contents of shoot and root (A) and Cd-translocation factor from root to shoot of alfalfa colonized by *R. intraradices* at Cd levels. M and NM are representing mycorrhizal and non-mycorrhizal plants.

قارچ‌های AM با اندوزش، غیرپویایی و سمیت‌زدایی فلزهای سمی در مایسلیوم‌های درون و برون ریشه‌ای، اثر سمیت آن‌ها را تعدیل می‌کنند و این سازوکار، احتمالا در کنار تقویت جذب فسفر گیاهان تلقیح شده با AM را از اثرهای سمی کادمیوم حفاظت می‌کند (Jiang *et al*., 2016). اثر کادمیوم و اثر متقابل قارچ و کادمیوم بر فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به شاخسارها معنی‌دار و اثر قارچ بر این شاخص غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). فاکتور انتقال کمتر از یک و کاهش آن با افزایش غلظت کادمیوم در مقایسه با شاهد، نشان می‌دهد ساز وکار تجمع کادمیوم بیشتر در ریشه‌ها نسبت به انتقال آن به شاخسارها اتفاق افتاده است (شکل B-۳). غیرپویایی فلزهای سمی توسط تراوش‌های رایزوسفری، رسوب در گرانول‌های پلی‌فسفات، واکوئل‌ها و وزیکول‌ها، جذب

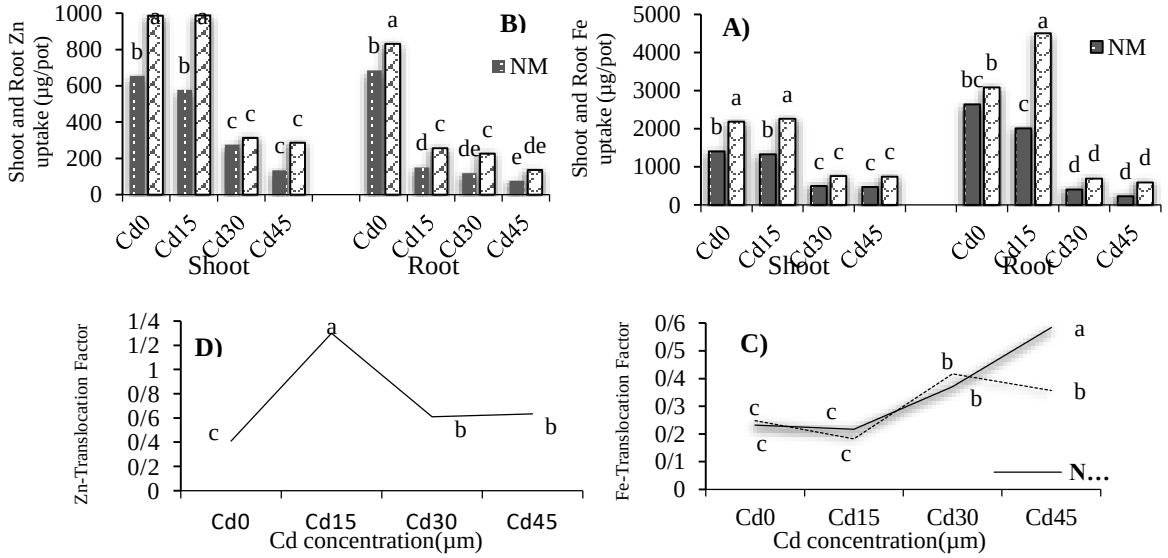
سطحی در دیواره یاخته‌ای اندام‌های قارچی به‌واسطه حضور کیتین، ملانین و/یا کی‌لیت کردن در اندام‌های قارچی توسط گلومالین، صورت می‌گیرد (Ferrol *et al.*, 2016). وُو و همکاران (Wu *et al.*, 2016) غیرپو یایی کروم را در ریشه‌های مایکوریزی و اندوزش ترجیحی و بیشتر آن را در ساختارهای قارچی موجود در مایسلیوم‌های درون و برون ریشه‌ای در مقایسه با یاخته‌های ریشه با روش‌های اسپکتروسکوپی گزارش کرده‌اند. همچنین، اندوزش فلزهای سمی در ریشه‌های مایکوریزی با استفاده از طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس متصل به میکرو سکوپ الکترونی عبوری[1] نیز تایید شده است (González-Guerrero *et al.*, 2008; Nayuki *et al.*, 2014). جذب و تقسیم فلز در اندام‌های گیاه و انواع سلول‌ها و نیز ذخیره فلز و پویایی مجدد آن، همگی به عملکرد انتقالی ناقل‌های فلزی بستگی دارد (Krämer *et al.* 2007). فقدان سیستم جذب و توزیع اختصاصی نیز منجر به تجمع فلزهای سمی نظیر کادمیوم می‌گردد (Clemens, 2006). به‌عنوان مثال، نیکوتیانامین (اسیدآمینه غیرپروتئینی در تمام گیاهان) که در هموستازی آهن، مس و روی در گیاهان و حفظ پویایی چنین یون‌هایی در بافت‌های آوندی و بین سلول‌ها نقش دارد (Kramer *et al.*, 2007)، به نظر می‌رسد در کی‌لیت‌سازی، انتقال و سمیت‌زدایی کادمیوم نیز نقش داشته باشد (Sharma & Dietz, 2006).

جذب آهن شاخسارها و ریشه

اثر اصلی قارچ، سطوح کادمیوم و اثر متقابل قارچ و کادمیوم بر جذب آهن شاخسارها و ریشه معنی‌دار گردید (جدول ۱). با افزایش سطح کادمیوم، جذب آهن در شاخسارها و ریشه گیاه به طور معنی‌دار کاهش یافت. همچنین، در تمام سطوح کادمیوم، جذب آهن در شاخسارها و ریشه گیاهان تلقیح شده با AM بیشتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود (شکلA-۴). بیشترین جذب آهن شاخسارها و ریشه در تیمار مایکوریزی سطح ۱۵ میکرومولار بود که به‌ترتیب افزایش ۶۹/۸ و ۱۲۴ درصدی نسبت به تیمار غیرمایکوریزی در سطح مشابه کادمیوم داشتند. کمترین مقدار جذب آهن شاخسارها و ریشه در تیمار غیرمایکوریزی سطح ۴۵ میکرومولار مشاهده گردید که نسبت به تیمار حداکثری جذب آهن در شاخسارها و ریشه، به‌ترتیب ۷۹/۳ و ۹۴/۸ در صد کاهش داشتند (شکل A-۴). آهن، تنظیم‌کننده مهم پتانسیل رداکس گیاه بوده و در ترکیب دو گروه مهم از پروتئین‌ها شامل پروتئین‌های هم و Fe-S پروتئین‌ها نقش دارد (Romheld & Nikolic, 2007). مقدار آهن در ریشه‌ها (۲۷۴/۳۴ تا۱۴۴۸/۹۹ میکروگرم در گرم) نسبت به شاخسارها (۱۰۷/۴۶ تا ۲۸۲/۴ میکروگرم در گرم) در تمام تیمارهای کادمیوم بیشتر بوده است. اثر کادمیوم و اثرمتقابل قارچ و کادمیوم بر فاکتور انتقال آهن از ریشه به شاخسارها معنی‌دار و اثر قارچ بر این شاخص غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). فاکتور انتقال کمتر از یک نیز بیانگر تجمع بیشتر آهن در ریشه‌ها نسبت به شاخسارها می‌باشد و علت افزایش فاکتور انتقال در مقایسه با شاهد، این است که با افزایش غلظت کادمیوم، جذب آهن در ریشه به شدت کاهش می‌یابد و با کاهش جذب آهن در شاخساره نیز، فاکتور انتقال از نظر عددی افزایش می‌یابد (شکل C-۴). شااو و همکاران (Shao *et al.*, 2007) نشان دادند که تنش اکسیداتیو ناشی از کادمیوم در برنج، توسط آهن کاهش پیدا می‌کند. آهن کوفاکتور اصلی در ساختار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز است (Sharma *et al.*, 2004). در نتیجه، حفظ غلظت‌های بالای آهن در ریشه‌ها وقتی غلظت کادمیوم افزایش پیدا می‌کند، می تواند فعالیت این آنزیم‌ها را افزایش داده و مکانیسم دفاعی مهمی در برابر تولید رادیکال‌های آزاد (ROS) ناشی از تنش باشد (Wang *et al.*, 2013). کاهش معنی‌دار فاکتور انتقال آهن در سطح ۴۵ میکرومولار کادمیوم نیز می‌تواند موید این مطلب باشد (شکلC-۴). زیرا بیشترین جذب کادمیوم ریشه در این سطح و در گیاه تلقیح شده با AM اندازه‌گیری شده است. از سوی دیگر، کاهش مقدار آهن در شاخسارها با افزایش غلظت فلزهای سمی و با اختلال این فلزها در انتقال آهن به شاخسارها قابل توضیح است (Sandalio *et al.*, 2001). کادمیوم از انتقال آهن به بخش هوایی گیاه با مکانیسم‌های مختلف نظیر حرکت شعاعی آهن در ریشه‌ها و انتقال آهن به داخل

1. Transmission electron microscope connected to an energy dispersive X-ray spectrometer

آوند چوبی ممانعت به‌عمل می‌آورد (Sandalio *et al.*, 2001). همچنین، انتقال آهن به تولید فیتوکلاتین ها وابسته است. زیرا فیتوکلاتین‌ها تمایل متفاوتی به فلز های مختلف دار ند و آلودگی کادمیوم می‌توا ند از طریق تاثیر بر تولید فیتوکلاتین ها، بر انتقال آهن به شاخسارها تاثیرگذار باشد (Sandalio *et al.*, 2001). مقادیر بالای کادمیوم در ریشه‌ها ممکن است منجر به افزایش تولید فیتوکلاتین ها گردد. در نتیجه، آهن با افزایش سمیت کادمیوم در ریشه‌ها غیرپویا گردد. همبستگی منفی بین غلظت آهن شاخسارها با غلظت کادمیوم در ریشه (**۰/۶۸۱-) موید مطالب فوق است. مطالعات متعددی گزارش کردند که فلزهای سنگین قابلیت دسترسی و جذب آهن در آپوپلاست ریشه، جذب به درون سلول‌های ریشه و انتقال آن به بخش‌های هوایی را کاهش می‌دهند و سبب می‌شوند آهن کم‌تری در اختیار برگ‌ها قرار گیرد (Sinha *et al.*, 2006; Gopal *et al.*, 2008).



شکل ۴- جذب آهن (A) و روی (B) در شاخسارها و ریشه، و فاکتور انتقال آهن (C) و روی (D) از ریشه به شاخسارهای گیاه یونجه همزیست با R. intraradices در سطوح کادمیوم. M و NM عبارتند از گیاهان گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با AM.

Figure 4. Fe (A) and Zn (B) contents of shoot and root, and Fe (C) and Zn (D) translocation factor from root to shoot of alfalfa colonized by *R. intraradices* at Cd levels. M and NM are representing mycorrhizal and non-mycorrhizal plants.

جذب روی شاخسارها و ریشه

اثر اصلی قارچ و سطوح کادمیوم بر جذب روی در شاخسارها و ریشه معنی‌دار گردید در حالی که اثر متقابل قارچ و کادمیوم بر جذب روی در شاخسارها معنی‌دار و در ریشه گیاه غیرمعنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش سطح کادمیوم، جذب روی در شاخسارها و ریشه گیاه به‌طور معنی‌دار کاهش یافت و این کاهش در گیاهان تلقیح‌شده بیشتر از گیاهان تلقیح شده با AM بود (شکل B-۴). بیشترین جذب روی در شاخسارها، در تیمار مایکوریزی سطح ۱۵ کادمیوم بود که با سطح صفر کادمیوم اختلاف معنی‌دار نداشت و نسبت به تیمار غیرمایکوریزی سطح صفر و ۱۵ میکرومولار کادمیوم، به ترتیب افزایش ۵۰/۹ و ۷۱ درصدی داشت. کمترین جذب روی در شاخسارها، مربوط به تیمار غیرمایکوریزی سطح ۴۵ میکرومولار کادمیوم بود که اختلاف معنی‌دار آماری با تیمار غیر مایکوریزی سطح ۳۰ و تیمار مایکوریزی سطح ۳۰ و ۴۵ میکرومولار کادمیوم نداشت. بیشترین جذب روی در ریشه، در تیمار مایکوریزی سطح صفر کادمیوم مشاهده شد که نسبت به تیمار غیرمایکوریزی در سطح مشابه، افزایش ۲۱/۳ در صدی داشت. کمترین جذب روی در ریشه، مربوط به تیمار غیرمایکوریزی سطح ۴۵ میکرومولار کادمیوم بود که با تیمار مایکوریزی در سطح مشابه کادمیوم و تیمار غیرمایکوریزی سطح ۳۰، اختلاف معنی‌دار آماری نداشت (شکل B-۴). ویت فیلد و همکاران (Whitfield *et al.*, 2004) مشاهده کردند قارچ مایکوریزا باعث افزایش

جذب فلز روی و بهبود رشد گیاه آویشن (*Thymus polytrichus*) تحت تنش فلزهای سنگین شد. روی عنصر ریزمغذی ضروری برای رشد و توسعه گیاه و به‌عنوان ترکیب مهم در ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌های تنظیم‌کننده رونویسی می‌باشد (Vallee & Falchuk, 1993). مقدار روی در ریشه‌ها (۷۱/۶۴ تا ۳۱۴ میکروگرم در گرم) نسبت به شاخساره‌ها (۴۳/۳ تا ۱۲۸/۵۶ میکروگرم در گرم) در تمام تیمارهای کادمیوم بیشتر بود. اثر قارچ و اثرمتقابل قارچ و کادمیوم بر فاکتور انتقال روی از ریشه با شاخساره‌ها غیرمعنی‌دار و اثر کادمیوم بر این شاخص معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج فاکتور انتقال روی تقریباً مشابه آهن است. به‌عبارت دیگر، غلظت روی در ریشه و نیز شاخساره‌ها تحت تاثیر افزایش غلظت کادمیوم قرار می‌گیرد و نتیجه افزایش عددی فاکتور انتقال نسبت به شاهد است. البته در سطح ۱۵ میکرومولار کادمیوم، فاکتور انتقال بیش از ۱ می‌باشد. در این سطح سمیت کادمیوم، علی‌رغم کاهش مقدار روی در ریشه، روی شاخساره‌ها را کمتر تحت تاثیر قرار داده است. در نتیجه، فاکتور انتقال بیش از یک می‌باشد (شکل D-۴). عدم اختلاف معنی‌دار مقدار روی شاخساره‌ها در سطح ۱۵ میکرومولار کادمیوم در مقایسه با شاهد، می‌تواند ناشی از اثر سینرژیستی کادمیوم بر انتقال روی در این غلظت باشد. زیرا مطابق شکل A-۳ و B-۴، به‌ترتیب با افزایش غلظت کادمیوم به ۱۵ میکرومولار، مقدار کادمیوم شاخساره‌ها افزایش یافته و نیز مقدار روی شاخساره‌ها نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار پیدا نمی‌کند. حسین و همکاران (Hossain *et al*., 2017) افزایش غلظت روی را با افزایش غلظت کادمیوم در گندم گزارش کردند که پیش‌تر نیز در گندم و ذرت گزارش شده بود (Nan *et al*., 2002). رابطه سینرژیستی و/یا آنتاگونیستی بین کادمیوم و روی، بسته به غلظت دو عنصر و نوع بافت گیاه گزارش شده است (Tkalec *et al*., 2014). مطالعات درباره برهم‌کنش کادمیوم و روی، جذب و تجمع در گیاهان مختلف نشان می‌دهد که عمدتاً اثرات آنتاگونیستی (Balen *et al*., 2011) بین دو عنصر وجود دارد، گرچه اثر سینرژیستی بین دو عنصر نیز مشاهده شده است (Puga *et al*., 2015). شاید این اثرات به‌دلیل وجود ناقل‌های پروتئینی مشترک جهت ورود این دو عنصر به داخل سلول باشد (Tkalec *et al*., 2014). روی در کاهش سمیت سلولی فلز های سنگین مهم است. زیرا می تواند تولید رادیکال های آزاد (ROS) را کاهش دهد (Aravind *et al*. 2009). به این ترتیب، حفظ غلظت بالای روی در ریشه‌ها با توجه به تجمع بیشتر کادمیوم در ریشه نسبت به شاخساره‌ها، می‌تواند در به حداقل رساندن سمیت کادمیوم موثر باشد. طبق نتایج، در سطوح متوسط و زیاد کادمیوم، مقدار روی شاخساره‌ها در مقایسه با شاهد کمتر است (شکل B-۴). با توجه به کاهش غلظت کادمیوم شاخساره‌ها در این دو سطح (شکل A-۳)، کاهش محتوای روی شاخساره‌ها ممکن است ناشی از برهم‌کنش با فسفر باشد. برهم‌کنش روی-فسفر پیش‌تر توضیح داده شده است (Cakmak & Marschner, 1986; Webb & Loneragan, 1988) و مطابق نظر کاکماک و مارشنر (Cakmak & Marschner, 1986)، کمبود روی در شاخساره‌ها، جذب فسفر را توسط ریشه‌ها و انتقال آن به شاخساره‌ها را افزایش می‌دهد. به‌طور کلی، با توجه به همبستگی منفی بین مقدار روی و فسفر شاخساره‌ها (**۰/۷۴-)، احتمالاً اثر آنتاگونیستی در جذب فسفر و روی به شاخساره‌ها نیز وجود دارد.

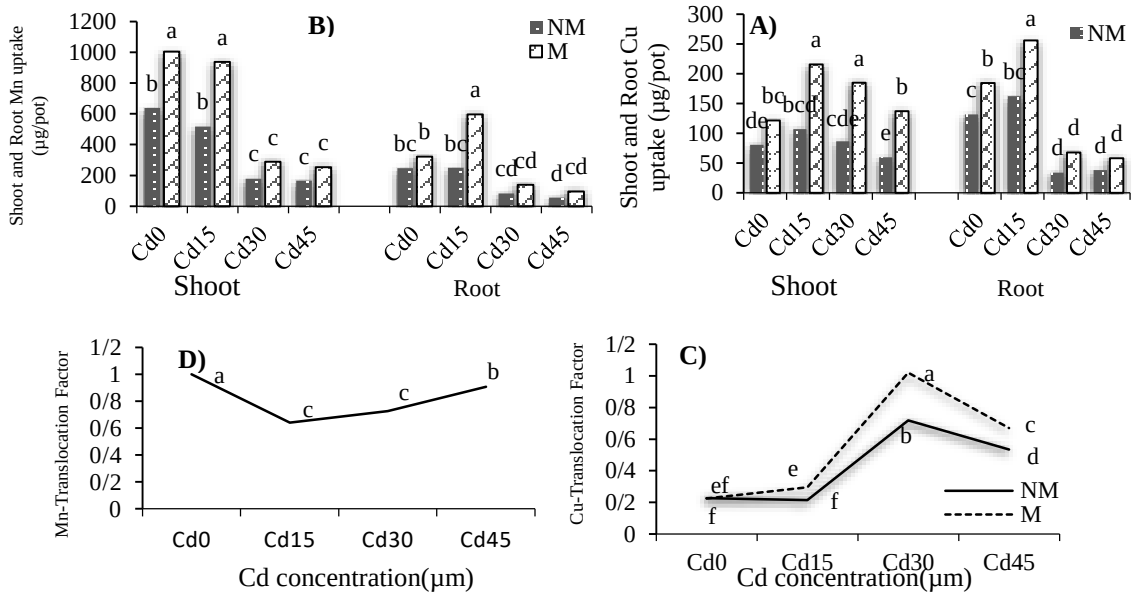
جذب مس در شاخساره‌ها و ریشه

اثر اصلی قارچ، کادمیوم و اثر متقابل قارچ و کادمیوم بر جذب مس شاخساره‌ها و ریشه و فاکتور انتقال مس از ریشه به شاخساره‌ها معنی‌دار گردید (جدول ۱). به‌طور کلی با افزایش سطح کادمیوم، جذب مس در شاخساره‌ها و ریشه گیاه کاهش یافت و این کاهش در گیاهان تلقیح‌نشده بیشتر از گیاهان تلقیح‌شده با AM بود. بیشترین جذب مس شاخساره‌ها و ریشه در تیمار مایکوریزی سطح ۱۵ کادمیوم بود و به ترتیب نسبت به تیمارهای غیرمایکوریزی در سطح مشابه، افزایش ۱۰۲ و ۵۷/۷ درصدی داشتند. کمترین جذب مس در شاخساره‌ها و ریشه به‌ترتیب در تیمار غیرمایکوریزی سطح ۴۵ و ۳۰ میکرومولار کادمیوم بود که به‌ترتیب نسبت به تیمار مایکوریزی در سطح مشابه، کاهش ۵۶/۴ و ۴۹/۹۷ درصدی داشتند (شکل A-۵). مس در انتقال الکترون در فتوسیستم I و II و تثبیت نیتروژن مولکولی در گره‌های ریشه نقش دارد (Marschner, 2012). مقدار مس در ریشه‌ها (۲۴/۷۸ تا ۹۵/۱۶ میکروگرم در گرم) در مقایسه با شاخساره‌ها (۱۵/۹۱ تا ۲۴/۶۲ میکروگرم در گرم)، در

تمام تیمارهای کادمیوم بیشتر است. به نظر می‌رسد افزایش سمیت کادمیوم اگرچه باعث کاهش جذب مس در ریشه گیاه شده است، ولی انتقال مس به شاخسارها در سطوح ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میکرومولار (به ترتیب ۲۴/۶۲، ۲۲/۴۴ و ۱۹/۸۶ میکروگرم در گرم) نسبت به شاهد (۱۵/۹۱ میکروگرم در گرم) افزایش یافته است. به عبارت بهتر، برخلاف آهن و روی، غلظت مس شاخسارها با افزایش غلظت کادمیوم نسبت به شاهد افزایش یافته است و همین امر باعث افزایش معنی‌دار فاکتور انتقال نسبت به شاهد شده است (شکل C-۵). این نتایج می‌تواند بیانگر مقابله گیاه با اثر سمی کادمیوم در شاخسارها باشد. با توجه به این‌که مس جزء تشکیل‌دهند متالوآنزیم‌ها می‌باشد و در فرآیندهای اکسیداسیون-احیاء، سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد اکسیژن (O^{-}_{2})، سنتز پروتئین و لیگنین دخالت دارد، برای گیاه در مواجه با فلزهای سمی ضروری است (Ribera-fonseca *et al.*, 2013). حسین و همکاران (Hossain *et al.*, 2017) بیان داشتند، عناصر Fe، Zn، Cu، Mn و Cd می‌توانند در تقویت یا مهار جذب و انتقال با یکدیگر رقابت کنند. علت این امر مکانیسم‌ها و پروتئین‌های انتقال مشابه برای این عناصر است. بنابراین، شاید علت انتقال مس به شاخسارها در مقایسه با دیگر عناصر ریزمغذی و با افزایش غلظت کادمیوم، حضور برخی لیگاندها در غشاء سلولی گیاه باشد که اتصال اختصاصی و باثبات تری با مس ایجاد می‌کنند. لیگاندهایی نظیر سیستئین و هیستیدین اتصال اختصاصی‌تر و باثبات‌تری با روی در مقایسه با آهن تشکیل می‌دهند (Hossain *et al.*, 2017).

جذب منگنز در شاخسارها و ریشه

اثر اصلی قارچ، کادمیوم و اثرمتقابل قارچ و کادمیوم بر جذب منگنز شاخسارها و ریشه گیاه معنی‌دار گردید (جدول ۱). به‌طور کلی با افزایش سطح کادمیوم، جذب منگنز در شاخسارها و ریشه کاهش یافت و این کاهش در گیاهان تلقیح‌نشده بیشتر از گیاهان تلقیح‌شده با AM بود. بیشترین جذب منگنز شاخسارها در تیمار مایکوریزی سطح صفر کادمیوم بود که با سطح ۱۵ میکرومولار کادمیوم، تفاوت آماری نداشت و به ترتیب نسبت به تیمارهای غیرمایکوریزی در سطوح مشابه افزایش ۵۷/۳ و ۸۱/۵ درصدی نشان دادند. کمترین جذب منگنز شاخسارها، تیمار غیرمایکوریزی سطح ۴۵ بود که با سطح ۳۰ میکرومولار کادمیوم و تیمارهای مایکوریزی سطوح ۳۰ و ۴۵ کادمیوم، اختلاف معنی‌دار نداشت. بیشترین جذب منگنز در ریشه مربوط به تیمار مایکوریزی سطح ۱۵ بود که نسبت به سایر تیمارها تفاوت مشخصی داشت. کمترین جذب منگنز ریشه در تیمار غیرمایکوریزی سطح ۴۵۰ سرب بود که با سطح ۳۰۰ میکرومولار سرب و تیمارهای مایکوریزی سطوح ۳۰۰ و ۴۵۰ سرب، تفاوت معنی‌دار آماری نداشت (شکل B-۵). منگنز در بسیاری از اعمال بیوشیمیایی به‌عنوان فعال‌کننده آنزیم‌های درگیر در تنفس، واکنش‌های رداکس داخل سیستم انتقال الکترونی فتوسنتز، در واکنش‌های Hill در کلروپلاست‌ها، در سنتز اسیدهای آمینه و لیگنین و در تنظیم غلظت هورمون‌ها نقش دارد (Humphries *et al.*, 2007.). غلظت منگنز در ریشه‌ها (۵۰/۷۷ تا ۱۸۴ میکروگرم در گرم) نسبت به شاخسارها (۳۹/۷۸ تا ۱۲۸/۵۶ میکروگرم در گرم) در تمام تیمارهای کادمیوم بیشتر بود. بر اساس گزارش بازینسکی و همکاران (Baszynski *et al.*, 1980)، کادمیوم و منگنز برای ناقل‌های غشایی مشابه رقابت می‌کنند. بنابراین، کاهش غلظت منگنز با افزایش سمیت کادمیوم دور از انتظار نیست. اثر قارچ، اثرمتقابل قارچ و کادمیوم بر فاکتور انتقال منگنز از ریشه به شاخسارها غیرمعنی‌دار و اثر کادمیوم بر این شاخص معنی‌دار بود (جدول ۱). در سطح صفر کادمیوم، فاکتور انتقال منگنز یک می‌باشد و کاهش معنی‌دار فاکتور انتقال با افزایش غلظت کادمیوم، به‌دلیل کاهش غلظت منگنز در ریشه و شاخسارها بدیهی است (شکل D-۵). از سوی دیگر، مکانیسم اصلی جذب منگنز تماس ریشه-یون است و به‌دلیل کاهش رشد ریشه با افزایش سمیت فلزهای سمی، جذب منگنز محدود شده و در پی آن، محتوای منگنز شاخسارها کاهش می‌یابد (Marschner, 2012). ساندایو و همکاران (Sandalio *et al.*, 2001) و لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2006) به ترتیب کاهش جذب منگنز را با افزایش غلظت کادمیوم در گیاه نخود و ذرت گزارش کردند. گزارش شده است به دلیل اثر رقابتی، غلظت آهن و منگنز در گیاه سویا (Cataldo *et al.*, 1998; Hossain *et al.*, 2017) و کلم، چاودار، ذرت و شبدر سفید (Yang *et al.*, 1998) با افزایش غلظت کادمیوم کاهش یافت.



شکل ۵- جذب مس (A) **و منگنز** (B) **در شاخسارها و ریشه، و فاکتور انتقال مس** (C) **و منگنز** (D) **از ریشه به شاخسارهای گیاه یونجه همزیست با** R. intraradices **در سطوح کادمیوم. M و NM عبارتند از گیاهان گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با** AM.

Figure 5. Cu (A) and Mn (B) contents of shoot and root, and Cu (C) and Mn (D) translocation factor from root to shoot of alfalfa colonized by *R. intraradices* at Cd levels. M and NM are representing mycorrhizal and non-mycorrhizal plants.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی با افزایش غلظت کادمیوم، مقدار عناصر آهن، روی، مس و منگنز در گیاه نسبت به شاهد کاهش داشت. گرچه به الگوی کاملاً مشخصی برای جذب عناصر ریزمغذی و انتقال از ریشه به شاخسارها در سطوح مختلف کادمیوم دست نیافتیم، ولی به‌طور کلی، انتقال آهن، روی و منگنز از ریشه به شاخسارها نسبت به شاهد کاهش و در مورد مس افزایش یافت. این اثر متقابل پیچیده می‌تواند بین عناصر سمی و مغذی همراه با اثرات سینرژیستی و آنتاگونیستی بین آن‌ها باشد که به عنصر غذایی و اندام گیاهی وابسته است. در شرایط آلوده به کادمیوم، مایه‌زنی با مایکوریزا سبب افزایش تحمل، تغذیه و رشد بهتر گیاهان تلقیح شده با AM در مقایسه با تلقیح‌نشده گردید. گرچه همزیستی گیاه یونجه با قارچ *R. intraradices* سبب غیرپویایی کادمیوم بیشتری در ریشه شده است، ولی با افزایش غلظت کادمیوم، جذب توسط گیاه نیز افزایش چشمگیری داشت. لذا، در صورتی که هدف کاربرد گیاه یونجه برای پالایش خاک آلوده به فلز سمی باشد، بسته به غلظت فلزهای سمی در خاک، مقدار تجمع و انتقال در اندام‌های گیاهی، بایستی در مصرف آن به‌عنوان علوفه دام احتیاط صورت گیرد.

References

Abbaspour A., Kalbasi M., Haj Rasouliha Sh., and Golchin Ahmad. 2006. Investigation of contamination in some agricultural soils of Iran with cadmium and lead. *9th Iranian Soil Science Congress, Soil Conservation and Watershed Management, Research Center, Tehran, Iran.* (In persian)

Ali N.A., Pilar Bernal M., and Ater M. 2004. Tolerance and bioaccumulation of cadmium by Phragmites australis grown in the presence of elevated concentrations of cadmium, copper, and zinc. *Aquatic Botany*, 80:163-176.

Amir H., Lagrange A., Hassaïne N., and Cavaloc Y. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species. *Mycorrhiza*, 23: 585-595.

Andrade S.A.L., Abreu C.A., de Abreu M.F., and Silveira A.P.D. 2004. Influence of lead addition on arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* symbioses under soybean plants. *Applied Soil Ecology*, 26 (2): 123-131.

Aravind P., Prasad M.N.V., Malec P., Waloszek A., and Strzaka K. 2009. Zinc protects *Ceratophyllum demersum* L. (free-floatingh ydrophyte) against reactive oxygen species induced by cadmium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 23: 50–60.

Audet P., and Charest C. 2006. Effects of AM colonization on 'wild tobacco' grown in zinc contaminated soil. *Mycorrhiza*, 16 (4): 277-283.

Balen B., Tkalec M., Šikić S., Tolić S., Cvjetko P., Pavlica M., and Vidakovic-Cifrek Z. 2011. Biochemical responses of *Lemna minor* experimentally exposed to cadmium and zinc. *Ecotoxicology*, 20: 815–826.

Baszynski T., Wajda L., Krol M., Wolinska D., Krupa Z., and Tukendorf A. 1980. Photosynthetic activities of cadmium-treated tomato plants. *Physiologia Plantarum*, 48: 365–370.

Bissonnette L., St-Arnaud M., and Labrecque M. 2010. Phytoextraction of heavy metals by two *Salicaceae* clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial. *Plant and Soil*, 332: 55–67.

Cakmak I.H., and Marschner H. 1986. Mechanism of phosphorus induced zinc deficiency in cotton. I. Zinc deficiency-enhanced uptake rate of phosphorus. *Physiologia Plantarum*, 68: 483–490.

Cataldo D.A., Garland T.R., and Wildung R.E. 1998. Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. *Plant Physiology*, 73:844–848.

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

Citterio S., Prato N., Fumagalli P., Aina R., Massa N., Santagostino A., Sgorbati S., and Berta G. 2005. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* induces growth and metal accumulation changes in *Cannabis sativa* L. *Chemosphere*, 59:21–29.

Clemens S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88: 1707–1719.

Cottenie, A. 1980. Methods of Plant Analysis. In: Soil and Plant Testing. NO. 38/2. *FAO Soils Bulletin*, pp. 94-100.

Cozzolino V., Perelomov L., Caporale A.G., and Pigna M. 2010. Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10: 268–292.

De Maria S., Puschenreiter M., and Rivelli A.R. 2013. Cadmium accumulation and physiological response of sunflower plants to Cd during the vegetative growing cycle. *Plant, Soil and Environment*, 59: 254–261.

Dinakar N., Nagajyothi P.C., Suresh S., Udaykiran Y., and Damodharam T. 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedling. *Journal of Environmental Science*, 20: 199-206.

Feddermann N., Roger F., Boller T., and Elfstrand M. 2010. Functional diversity in arbuscular mycorrhiza – the role of gene expression, phosphorous nutrition and symbiotic efficiency. *Fungal Ecology*, 3: 1-8.

Ferrol N., Tamayo E., and Vargas P. 2016. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. *Journal of Experimental Botany*, 67 (22): 6253-6265.

Food and Agricultural Organization (FAO). 1999. Summary and conclusions. *In: 53rd Meeting, Rome, 1-10 June, Rome*, pp.123-130.

Gerdemann J.W., and Nicolson T.H. 1963. Spores of mycorrhizal endogen species extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46: 235-244.

Ghaderian S.M., and Jamali Hajiani N. 2010. The evaluation of tolerance and accumulation of cadmium in *Matthiola chenopodiifolia*. *Iranian Journal of Botanical Biology*, 6(8): 87-98.

Gharineh M.H., Haydari M., and Nadian H. 2012. Interactive effects of salinity and mycorrhizal colonization on some heavy metals uptake by saffron plant (*Crocus sativus* L.). *International Conference on Agriculture, Chemical and Environmental Sciences (ICACES'2012) Oct. 6–7, Dubai (UAE).*

Gohre V., and Paszkowski U. 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta*, 223: 1115–1122.

Gomes M.P., Marques T.C.L.L.S.M., Soares A.M. 2013. Cadmium effects on mineral nutrition of the Cd-hyperaccumulator *Pfaffia glomerata*. *Biologia*, 68 (2): 223-230.

González-Guerrero, M., Melville, L.H., Ferrol, N., Lott, J.N.A., Azcón-Aguilar, C., and Peterson, R.L. 2008. Ultrastructural localization of heavy metals in the extra radical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Microbiology*, 54 (2): 103–10.

Gopal R., and Rizvi A.H. 2008. Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. *Chemosphere*, 70 (9): 1539-1544.

Grath M.C., Postma S.L. and Mc Cormeck R.J. 2000. Analysis of Irish sewage slug suitability of sludge for us in agriculture Irish. *Agricultural and food Research*, 39 (1): 73-78.

Hall J.L., and Williams L.E. 2004. Transition metal transporters in plants. *Journal of Experimental Botany*, 54: 2601–2613.

Hossain K. G., Islam N., Ghavami F., Durant C., Durant C., and Johnson M. 2017. Effect of increased amounts of Fe, Zn, and Cd uptake, translocation, and accumulation of human health related micronutrients in wheat. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 5(1): 19-29.

Hossain M.A., Piyatida P., da Silva J.A.T., and Fujita M. 2012. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: Central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. *Journal of Botany*, 2:1-37.

Howard H. 2002. Human health and heavy metals exposure. In: McCally M. (Ed.), Life Support: The Environment and Human Health. *MIT Press*, pp. 1-13

Humphries J., Stangoulis J., and Graham R. 2007. Manganese. In: Barker A. and Pilbeam D. (Eds.), Handbook of Plant Nutrition. *Taylor and Francis*, USA, pp. 351–366.

Janouskova M., Pavlikova D., Macek T., and Vosatka M. 2005. Arbuscular mycorrhiza decreases cadmium phytoextraction by transgenic tobacco with inserted metallothionein. *Plant and Soil*, 272: 29–40.

Jianfeng H., Xiangui L., Rui Y., and Yufang S. 2009. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on arsenic accumulation by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Journal of Environmental Sciences*, 21:1214–1220.

Jiang Q.Y., Zhuo F., Long S.H., Zhao H.D., Yang D.J., Ye Z.H., Li S.S., and Jing Y.X. 2016. Can arbuscular mycorrhizal fungi reduce Cd uptake and alleviate Cd of *Lonicera japonica* grown in Cd-added soils? *Scientific Reports*, 6: 21805; doi: 10.1038/srep21805.

Joner E.J., and Leyval C. 1997. Uptake of ^{109}Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytologist*, 135(2): 353-360.

Kapoor R., and Bhatnagar A.K. 2007. Attenuation of cadmium toxicity in mycorrhizal celery (*Apium graveolens* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23: 1083–1089.

Karimi A., Khodaverdiloo H., Sepehri M., and Rasouli Sadaghiani M.H. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils. *African Journal of Microbiology Research*, 5: 1571-1576.

Kormanik P.P., and McGraw A.C. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: Schenck N.C. (Ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research. *American Phytopathological Society*, Saint Paul, MN. pp. 37-45.

Krämer U., Talke I.A., and Hanikenne M. 2007. Transition metal transport. *FEBS Letters*, 581: 2263–2272.

Lenoir, I., Fontaine, J., and Sahraoui, A.L.H. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: a review. *Phytochemistry*, 123: 4–15.

Liu D.H., Wang M., Zon J.H., and Jiang W.S. 2006. Uptake and accumulation of cadmium and some nutrient ions by root and shoots of maize *(Zea mays* L.*). Pakistan Journal of Botany*, 38: 701 – 709.

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.

Marschner P. 2012. Mineral Nutrition of Higher Plants. 3.Ed. Londres, *Elsevier*, 649p.

Millner P.D., and Kitt D.G. 1992. The Beltsville method for soilless production of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 2: 9-15.

Mozafar A., Ruh R., Kilingel P., Gamper H., Egli S., and Frossard E. 2002. Effect of heavy metal contaminated shooting range soils on mycorrhizal colonization of roots and metal uptake by leek. *Environmental Monitoring and Assessment*, 79: 177-191.

Nan Z., Li J., Zhang J., and Cheng Z. 2002. Cadmium and Zinc interactions and their transfer in soil-crop system under actual field conditions. *Science of the Total Environment*, 285:187–195.

Nayuki K., Chen B., Ohtomo R., and Kuga Y. 2014. Cellular imaging of cadmium in resin sections of arbuscular mycorrhizas using synchrotron micro X-ray fluorescence. *Microbes and Environments*, 29: 60–66.

Olsson P.A., Thingstrup I., Jakobsen I., and Bååth E. 1999. Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology Biochemistry*, 31: 1879-1887.

Park S., and Ahn Y.J. 2016. Multiwalled carbon nanotubes and silver nanoparticles differentially affect seed germination, chlorophyll content and hydrogen peroxide accumulation in carrot (*Daucus carota* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 8: 257-262.

Pawlowska T.E., and Charvat I. 2004. Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (11): 6643-6649.

Puga A.P., Abreu C.A., Melo L.C.A., and Beesley L. 2015. Biochar application to a contaminated soil reduces the availability and plant uptake of zinc, lead and cadmium. *Journal of Environmental Management*, 15: 86-93.

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.). *Journal of Hazardous Materials*, 177:465-474.

Rask K.A., Johansen J.L., Kjoller R., and Ekelund F. 2019. Differences in arbuscular mycorrhizal colonization influence cadmium uptake in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 162: 223-229.

Ribera-Fonsecc A., Rumpel C., Mora M.D., Nikolic M., and Cartes P. 2013. Early induction of Fe-SOD gene expression is involved in tolerance to Mn toxicity in perennial ryegrass. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73:77-82, 2013.

Romheld V., and Nikolic M. 2007. Iron. In: Barker A.V. and Pilbeam D.J. (Eds.), Handbook of Plant Nutrition-Chapter 11. *CRC Press: Taylor and Francis Group*, Boca Raton, pp. 329–350.

Saad E.H., Mohamed H., and Marc S.A. 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on trace metal uptake by sunflower plants grown on cadmium contaminated soil. *New Biotechnology*, 30: 780-787.

Sahmurova A., Celik M., Allahverdiyev, S. 2010. Determination of the accumulator plants in Kucukcekmece Lake (Istanbul). *African Journal of Biotechnology*, 6(4): 6545-6551.

Salt D.E., and Rauser W.E. 1995. Mg-ATP-dependent transport of phytochelatins across the tonoplast of oat roots. *Plant Physiology*, 107: 1293–1301.

Sandalio L.M., Dalurzo H.C., Gomez, M. M., Romero-Puertas, C., and Del Rio, L.A. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidation metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany*, 52(364): 2115-2126.

Sarwar N., Malhi S.S., Zia M.H., Naeem A., Bibi S., and Farid G. 2010. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 925–37.

Shahabivand S., Maivan H.Z., Goltapeh E.M., Sharifi M., and Aliloo A.A. 2012. The effects of root endophyte and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and cadmium accumulation in wheat under cadmium toxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60: 53–58.

Shao G., Chen M., Wang W., Mou R., and Zhang G. 2007. Iron nutrition affects cadmium accumulation and toxicity in rice plants. *Plant Growth Regulation*, 53: 33–42.

Sharma S.S., and Dietz K.J. 2006. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*, 57: 711–726.

Sharma N.C., Gardea-Torresdey J.L., Parsons J., and Sahi S.V. 2004. Chemical speciation and cellular deposition of lead in *Sesbania drummondii*. *Environmental Toxicology Chemistry*, 23: 134.

Sinha P., Dube B., Srivastava P., and Chatterjee C. 2006. Alteration in uptake and translocation of essential nutrients in cabbage by excess lead. *Chemosphere*, 65(4): 651-656.

Sudova R., and Vosatka M. 2007. Differences in the effects of three arbuscular mycorrhizal fungal strains on P and Pb accumulation by maize plants. *Plant and Soil*, 296: 77-83.

Tabrizi L., Mohammadi S., Delshad M., and Motesharezadeh B. 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and phytoremediation performance of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under heavy metals stress. *International Journal of Phytoremediation*, 17(12): 1244-1252.

Tkalec M., Stefanic P.P., Cvjetko P., Sikic S., Pavlica M., Balen B. 2014. The effects of cadmium-zin interactions on biochemical responses in tobacco seedling and adult plants. *PLoS ONE*, 9(1): e87582. doi: 10.1371/journal.pone.0087582

Tawaraya k. 2003. Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars. *Soil Science and Plant Nutrition*, 49 (5): 655-668.

Vallee B.L., and Falchuk H. 1993. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews*. 73: 79–117.

Wagner G. 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances in Agronomy*, 51:173-211.

Waling I., Vark W.V., Houba V.J.G., and Vanderlee J.J. 1989. Soil and Plant Analysis, a Series of Syllabi. Part 7- Plant Analysis Procedures. *Wageningen Agricultural University*, Netherland, 263p.

Wang F., Li X., and Yin R. 2005. Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzia splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. *Plant and Soil*, 269: 225–232.

Wang X., Zhang ZW., Tu SH., Feng WQ., Xu F., Zhu F., Zhang DW., Du JB., Yuan S., and Lin HH. 2013. Comparative study of four rice cultivars with different levels of cadmium tolerance. *Biologia*, 68 (1): 74-81.

Wang C., Zhang S.H., Wang P.F., Hou J., Zhang W.J., Li W., and Lin Z.P. 2009. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. *Chemosphere*, 75: 1468–1476.

Webb M.J., and Loneragan J.F. 1990. Zinc translocation to wheat roots and its implications for phosphorus/zinc interaction in wheat plants. *Journal of Plant Nutrition*, 13: 1499–1512.

Whitfield L., Richards A.J., and Rimmer D.L. 2004. Relationships between soil heavy metal concentration and mycorrhizal colonization in *Thymus polytrichus* in northern England. *Mycorrhiza Journal*, 14(1): 55-62.

Wu F.Y., Hu J.L., Wu S.C., and Wong M.H. 2015. Grain yield and arsenic uptake of upland rice inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi in As-spiked soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 22: 8919–8926.

Wu S., Zhang X., Chen B., Wu Z., Li T., Hu Y., Sun Y., and Wang Y. 2016. Chromium immobilization by extraradical mycelium of arbuscular mycorrhiza contributes to plant chromium tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 122: 10–18.

Yang M.G., Lin X.Y., and Yang X.E. 1998. Impact of Cd on growth and nutrient accumulation of different plant species. *China Journal of Applied Ecology*, 19:89–94.

Yao Q., Yang R., Long L., and Zhu, H 2013: 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.

Zhang X., Chen B., and Ohtomo R. 2015. Mycorrhizal effects on growth, P uptake and Cd tolerance of the host plant vary among different AM fungal species. *Soil Science and Plant Nutrition*, 61 (2): 359-368.

Zhang G.P., Fukami M., and Sekimoto H. 2002. Influence of cadmium on mineral concentration and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage. *Field Corp Research*, 40(79): 1-7.

Zhang X., Gao B., and Xia H. 2014b. Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of bana grass and vetiver grass. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 106:102-108.

Zhang X.H., Lin A.J., Chen B.D., Wang Y.S., Smith S.E., and Smith F.A. 2006. Effects of *Glomus mosseae* on the toxicity of heavy metals to *Vicia faba*. *Journal of Environmental Sciences*, 18: 721–726.

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. *European Journal of Soil Biology*, 46:306-311.

Zhang X., Zhang X., Gao B., Li Z., Xia H., Li H., and Li J. 2014a. Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of an energy crop, king grass (*Pennisetum americanum* x *P. purpureum*). *Biomass and Bioenergy*, 67:179-187.

Zhiqiang X., Qixing Z., and Weitao L., 2009. Joint effects of cadmium and lead on seedlings of four Chinese cabbage cultivars in northeastern China. *Environmental Sciences*, 21: 1598-1606.

Zhi-Xin N., Li-na S., Tie-heng S., Yu-shuangL., and Hong W. 2007. Evaluation of phytoextracting cadmium and lead by sunflower, ricinus, alfalfa and mustard in hydroponic culture. *Environmental Sciences*, 19: 961-967.

Zhu J., Zhang C., and Lynch J.P. 2010. The utility of phenotypic plasticity for root hair length for phosphorus acquisition. *Functional Plant Biology*, 37: 313–322.

The Effect of Cadmium on Growth and some Nutrient Uptake in Alfalfa Plant Inoculated by *Rhizophagus Intraradices*

Elham Malekzadeh[1]*

(Received: September 2019 Accepted: December 2019)

Abstract

The main objective of the current research was to evaluate the effect of Cd concentrations on the growth, uptake of P, Fe, Zn, Cu and Mn of alfalfa plant mycorrhized by *Rhizophagus intraradices*. A pot culture experiment was performed as completely randomized design by two factors, including AM fungus (inoculated with *R. intraradices* and non-inoculated) and four levels of Cd (0, 15, 30 and 45 µM Cd^{+2}) with three replications. Shoot and root dry weights of mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) plants were affected by increasing of Cd levels. At the levels of 15, 30 and 45 µM Cd^{+2} shoot and root dry weights were decreased by 0%, 8.2%, 25% and 9.5%, 16.2%, 39.8% compared to the control (0 µM Cd^{+2}), respectively. Shoot and root dry weights of M plants were increased by 48.7% and 42.8% compared to the NM ones. P contents of shoot and root were affected by AM fungus, so that the shoot and root P contents of M plants were increased by 54.1% and 49.6% compared to the NM ones. Root colonization and mycorrhizal dependency were affected by Cd treatments. At the levels of 15 and 30 µM Cd^{+2}, root colonization and mycorrhizal dependency were increased by 38.2%, 35.7% and 100%, 77% compared to the control, respectively. Maximum Cd contents of shoot and root were recorded at the levels of 15 and 45 µM Cd^{+2} in M plants which were increased by 81.97% and 71.99% respectively, compared to the NM ones at the same levels. Cd-translocation from root to shoot was decreased as the Cd concentration increased. At the all levels of Cd, the concentrations of Fe, Zn, Cu and Mn were often higher in roots than in shoots. Generally, with increasing Cd concentration, plant uptake of Fe, Zn, Cu and Mn were decreased compared to the control. At the Cd levels, metal translocation from root to shoot were decreased for Fe, Zn and Mn and increased for Cu compared to the control, respectively.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, Forage crop, Heavy metals, Micronutrients, Soil pollution

Malekzadeh E. 2021. The effect of Cadmium on growth and some nutrient uptake in alfalfa plant inoculated by *Rhizophagus intraradices*. *Applied Soil Research*, 8(4): 98-115.

1.Assistant Professor, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources
* Corresponding Author Email: malekzadeh.elham@gmail.com