پیامد مایه‌زنی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر گیاه‌پالایی سرب توسط گونه چمنی فستوکای پابلند (*Festuca arundinacea*) رقم Tomahawk

مهدیه میرزایی مشهود[۱]، جواد رضاپور فرد[۲*]، محسن برین[۳]، هادی علیپور[۴]، زهره جبارزاده[۵]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷)

چکیده

مایه‌زنی میکروبی، در بهبود رشد و افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی و پالایش سبز خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، مؤثرند. این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر مایه‌زنی قارچ *Piriformospora indica* در گیاه‌پالایی سرب توسط گونه چمنی فستوکای پابلند (*Festuca arundinacea*) رقم Tomahawk در سطوح مختلف آلودگی سرب، در آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا شد که عامل‌های آزمایشی شامل مایه‌زنی قارچ در دو سطح (مایه‌زنی و عدم مایه‌زنی با قارچ *P. indica*) و تنش آلودگی سرب در سه سطح (۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بودند. سرب در هر دو سطح آلودگی ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به‌ترتیب سبب کاهش ۳۱/۴۶ و ۴۳/۹۸ درصد وزن خشک اندام هوایی، ۳۱/۲ و ۴۴/۳۲ درصد عملکرد نسبی شاخساره، ۱۰/۸۹ و ۱۵/۷۴ درصد محتوای نسبی آب برگ، ۴۷/۸ و ۴۷/۵۵ درصد محتوای کلروفیل a، ۴۷/۴۱ و ۵۰/۲۲ درصد محتوای کلروفیل b، ۵/۲۲ و ۱۱/۶۴ درصد غلظت فسفر ریشه، ۱۱/۴۴ و ۱۴/۴۷ درصد غلظت نیتروژن برگ و افزایش ۲۷/۴۹ و ۲۰/۸۹ درصد محتوای پرولین و ۶/۱۳ و ۱۴/۷۱ درصد قند محلول برگ شد. تیمار مایه‌زنی با قارچ *P. indica* نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی در هر دو سطح آلودگی ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک سرب به‌ترتیب با افزایش ۲۶/۳۴ و ۱۸/۶۷ درصدی انباشت سرب در ریشه و افزایش ۶۴/۱۳ و ۵۹/۸۳ درصد سرب قابل استخراج توسط ریشه سبب افزایش ۴۰/۲۲ و ۱۸/۱۲ درصد وزن تر ریشه، ۵۱/۲۲ و ۵۰/۵۹ درصد وزن خشک ریشه، ۴۴/۳۲ و ۴۰/۷۲ درصد محتوای کلروفیل a، ۱۶/۹۸ و ۳۳/۹۵ درصد محتوای کاروفیل b، ۱۵/۷۱ و ۱۷/۶ درصد غلظت فسفر ریشه، ۱۶/۲۱ و ۱۳/۹۲ درصد غلظت فسفر برگ شد. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مایه‌زنی میکروبی با قارچ *P. indica* باعث افزایش انباشت سرب در ریشه‌ی گیاه چمن فستوکا می‌شود. بنابراین مایه‌زنیقارچ *P. indica* می‌تواند به‌عنوان یک تیمار زیستی مفید در بهبود کارایی گیاه‌پالایی سرب توسط گیاه چمن فستوکا رقم Tomahawk در خاک‌های آلوده استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: فلزات سنگین، فاکتور انتقال، محتوای نسبی آب برگ، محلول‌های سازگار

میرزایی مشهود م.، رضاپور فرد ج.، برین م.، علیپور ه.، جبارزاده ز. ۱۴۰۲. پیامد مایه‌زنی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر گیاه‌پالایی سرب توسط گونه چمنی فستوکای پابلند (*Festuca arundinacea*) رقم Tomahawk. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۱۱، شماره ۴. صفحه: ۴۳-۶۲.

۱- دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (مکاتبه کننده)
۳- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۴- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۵- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
*پست الکترونیک: j.rezapourfard@urmia.ac.ir

مقدمه

طی چند دهه‌ی اخیر، رشد سریع شهرنشینی، صنعتی شدن و افزایش فعالیت‌های کشاورزی سبب افزایش آلودگی فلزات سنگین در خاک و زمین‌های کشاورزی در بسیاری از بخش‌های جهان شده است (Poschenrieder & Coll, 2003). فلزات سنگین مثل سرب، نیکل، کادمیوم و روی سمیت پایدار دارند (Kabata-Pendias, 2000). سالانه در سراسر جهان ۱۰^۳ × ۷۸۳ تن سرب، ۱۰^۳ × ۲۲ تن کادمیوم، ۱۰^۳ × ۹۳۹ تن مس و ۱۰^۳ × ۱۳۵۰ تن روی به محیط آزاد می‌شوند (Singh *et al*., 2003). سرب یکی از فلزات سنگین بسیار سمی است. ورود سرب به خاک، باعث ورود آن به چرخه‌ی غذایی انسان و سایر جانوران زنده می‌شود زیرا این عنصر به‌صورت محلول و قابل دسترس گیاه در خاک وجود دارد و مقادیر زیادی از آن می‌تواند از طریق ریشه‌های مویین جذب و در دیواره‌های سلولی گیاه انباشت یابد (Limura *et al*., 1997). سرب با جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل، دخالت در جذب عناصر غذایی و اختلال در فتوسنتز خالص و تنفس، اثرات نامطلوبی بر رشد و متابولیسم گیاهان دارد (Prasad & de Oliveira Freitas, 2003). باتوجه به نوع خاک نیز، دسترسی زیستی به سرب متفاوت است به خصوص در خاک‌های آهکی در مناطق خشک و نیمه‌خشک به‌علت ترکیب شدن سرب با کلوئیدهای آلی و غیرآلی، اکسیدها، رس‌ها و کربنات معدنی به شدت کاهش می‌یابد (Khodaverdiloo *et al*., 2014). تاکنون روش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی برای پالایش فلزات سنگین از خاک مورد استفاده شده است که بیش‌تر این روش‌ها پرهزینه بوده و در نهایت سبب آلودکی بخش دیگری از محیط زیست می‌شوند (Meers *et al*., 2009). گیاه‌پالایی روشی قابل قبول، کم‌هزینه و دوست‌دار محیط زیست، جهت پالایش آلودگی فلزات سنگین در خاک‌های آلوده است. استفاده از گیاهان با توانایی انباشت زیاد فلزات سنگین و پالایش آن‌ها از خاک‌های آلوده چند دهه است که به‌کار می‌رود (Abdel-Salam *et al*., 2015). گیاهانی که در گیاه‌پالایی استفاده می‌شوند باید دارای برخی ویژگی‌ها از قبیل رقابت‌پذیری از نظر زیست محیطی، رشد سریع، تولید زیست‌توده زیاد و توانایی تحمل به فلزات سنگین باشند. بنابراین شناسایی، مطالعه و انتخاب گیاهان مناسب در گیاه‌پالایی ضروری است (Mulligan *et al*., 2001). چمن فستوکای پابلند، چمن چندساله سردسیری است که در فضای سبز به‌عنوان گیاه پوششی کشت می‌شود. این گونه از چمن، مقاوم به گرما، خشکی و بیماری است و در شرایط متنوع محیطی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه هم‌چنین توانایی تحمل فلزات سنگین مانند سرب را دارد و می‌تواند مقادیر زیادی سرب را از خاک‌های آلوده به سرب، بدون نشان دادن علائم سمیت جذب کند (Hu *et al*., 2015). استفاده از ریزموجودات مفید خاک با توانایی همزیستی با گیاهان، راهکار مناسبی جهت افزایش توانایی گیاهان در مقابل تنش‌های مختلف محیطی از جمله آلودگی خاک به فلزات سنگین می‌باشد. قارچ های مایکوریز آربوسکولار و سایر گونه‌های قارچی از جنس‌های مختلف مانند *Trichoderma* و *Aspergillus* به‌علت داشتن اثرات مثبت بر رشد گیاهان و تحت تأثیر قرار دادن جذب فلزات سنگین توسط آن‌ها، می‌توانند در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مؤثر باشند (Firmin *et al*., 2015). این قارچ‌ها توانایی تحمل آلودگی فلزات سنگین را داشته و می‌توانند از طریق تشکیل اگزالات غیرمحلول یا کلاته کردن آن‌ها در پلیمرهایی مثل ملانین، فلزات سنگین را غیر متحرک کنند (Khan *et al*., 2017). در خاک‌های آهکی نیز گیاهان با همزیستی با میکروارگانیسم‌های مختلف مثل قارچ‌های مایکوریز، انواع باکتری‌های ریزوباکتریا و قارچ *Piriformospora indica* باعث افزایش تحرک و وارد شدن سرب به شکل آزاد و محلول به خاک شده و باعث جذب آن توسط گیاه می‌شود (Yang *et al*., 2016; Karimi *et al*., 2015). در مطالعه‌ی کریمی و همکاران (Karimi *et al*., 2017; 2018) نشان داده شد که مایه‌زنی گیاه گل گندم (*Centaurea cyanus* L.) و گیاه خار زن بلبا (*Onopordum acanthium* L.) با قارچ‌های آربوسکولار مایکوریز (ترکیبی از قارچ‌های *Glomus Intraradices*، *G. mosseae*، *G. fasciculatum*) و PGPR (ترکیبی از باکتری‌های *Pseudomonas putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*) در شرایط خاک آهکی، تجمع سرب را در اندام‌های هوایی و ریشه نسبت به گیاهان مایه‌زنی نشده افزایش داد. قارچ اندوفیت *Piriformospora*

indica ، به عنوان قارچ شبه مایکوریز شناخته شده است. قارچ *P. indica* از راسته Sebacinales در سال ۱۹۹۹ توسط وارما و همکاران (Varma *et al*., 1999) از خاک ریزوسفری گیاهان خشکی پسند کُنار (*Prosopis juliflora*) و گز (*Zizyphus nummularia*) از صحرای ثار (Thar) ایالت راجستان کشور هندوستان جداسازی شد. *P. indica* در طیف‌های گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی شامل گیاهان زراعی، باغی، گیاهان دارویی و زینتی در کورتکس ریشه و لایه‌های اپیدرمی، تلقیح و کلونیزه می‌شود (Ye *et al*. 2014). افزون بر توان تحریک کنندگی رشد گیاه، گزارش‌هایی مبنی بر نقش مؤثر این قارچ در بهبود رشد و عملکرد گیاه در شرایط نامساعد محیطی و نیز افزایش مقاومت گیاه نسبت به پاتوژن‌های گیاهی موجود است (Qiang *et al*., 2012). تأثیر مایه‌زنی قارچ *P. indica* در افزایش زیست‌توده گیاهان ذرت (*Zea mays*)، تنباکو (*Nicotiana tabaccum*)، جعفری (*Petroselinum crispum*)، آرتمیزیا (*Artemisia annula*) و ناز باتلاقی (*Bacopa monnieri*) توسط وارما و همکاران (Varma *et al*., 1999) گزارش شده است. همزیستی قارچ *P. indica* با گیاه جو (*Hordeum vulgare*) موجب افزایش زیست‌توده، ارتفاع و محتوای کلروفیل نسبت به گیاه مایه‌زنی نشده شد و همچنین باعث افزایش تحمل گیاه جو به غلظت بالای سرب شد (Karimi *et al*., 2015). نتایج مشابهی از همزیستی قارچ *P. indica* در کلزا (*Brassica napus*) (Emamian Tabarestani *et al*., 2019) تحت تنش سرب در خاک آهکی گزارش شده است. مایه‌زنی قارچ *P. indica* در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) تحت آلودگی سرب در غلظت‌های ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک آهکی، سبب افزایش جذب سرب توسط ریشه و تجمع آن در ریشه و اندام هوایی گیاه گلرنگ شد (Shahabivand *et al*., 2019). هوی و همکاران (Hui *et al*., 2015) با انجام مطالعه‌ای گزارش کردند که قارچ *P. indica* در گیاه تنباکو (*Nicotiana tabacum*) با افزایش انباشت کادمیوم در ریشه‌ها و انتقال کم‌تر آن به برگ‌ها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی، پرولین و بیان ژن‌های مرتبط با بیوسنتز فیتوکلاتین‌ها، آسیب ناشی از تنش کادمیوم را کاهش داد. همزیستی قارچ *P. indica* در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus*) رقم Zaria تحت تنش کادمیوم موجب افزایش رشد با افزایش کلروفیل a، b و محتوای پرولین شد (Shahabivand *et al*., 2017). در مطالعه‌ی ناندا و آگراوال (Nanda & Agrawal, 2018)، گیاه *Cassia angustifolia* تحت تیمار قارچ *P. indica* در شرایط تنش مس قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که قارچ *P. indica* با افزایش انباشت مس در ریشه‌های این گیاه، می‌تواند به‌عنوان یک ابزار تثبیت‌کننده‌ی گیاهی در گیاه‌پالایی مس مورد توجه قرار گیرد؛ در نتیجه، بهره‌گیری از توان قارچ *P. indica* در افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی مثل فلزات سنگین از اهمیت بسیاری برخوردار است.

بررسی همزیستی قارچ *P. indica* در گونه‌های مختلف چمن تحت تنش عنصر سنگین سرب صورت نگرفته است. با توجه به اهمیت گیاه‌پالایی و استفاده از خود گیاه برای انباشت سرب در فضاهای سبز شهری از جمله بلوارها و کنار جاده‌ها، امید می‌رود که استفاده از قارچ اندوفیتی *P. indica*، به دلیل نقشی که این قارچ در توسعه سیستم ریشه‌ای و تنظیم فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاهان دارد بتولند راهکار مؤثری برای پالایش سرب از خاک باشد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر همزیستی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر توانایی گیاه‌پالایی سرب توسط گونه چمنی فستوکای پابلند رقم تاماهاک (*Festuca arundinacea* cv. Tomahawk) تحت آلودگی سرب انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سایت تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه طی سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۹ انجام گرفت. بدین منظور یک نمونه خاک از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه نمونه‌برداری گردید. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن، به دو بخش تقسیم شدند. یک بخش بعد از عبور از الک ۲ میلی‌متر، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (Carter & Gregorich, 2008) (جدول ۱) و بخش دیگر نمونه‌های

خاک پس از عبور از الک ۵ میلی‌متری، جهت کشت گلدانی به سایت تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انتقال یافت.

در این آزمایش، بذر چمن گونه‌ی *Festuca arundinaceae* رقم Tomahawk، تولیدی شرکت کانتیننتال سمنسز ایتالیا از شرکت پیشگامان صنعت و بذر کرج تهیه شد. این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا شد که عامل‌های آزمایش شامل مایه‌زنی قارچ در دو سطح، شامل مایه‌زنی و عدم مایه‌زنی با قارچ *Priphormospora indica* و تنش آلودگی سرب در سه سطح شامل ۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک انجام شد. جهت کشت و تهیه مایه تلقیح قارچ *P. indica*، جدایه قارچ *P. indica* از گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه تهیه و در تعداد کافی پتری دیش محتوی محیط کشت کفر (Käfer, 1977) (شامل عناصر ماکرو، میکرو، نمک‌ها، پپتون و عصاره مخمر) و به مدت چهار هفته در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد کشت شد تا جمعیت به حدود 10^5 اسپور در میلی‌لیتر برسد. پس از اتمام این مدت، اسپورهای قارچی با استفاده از محلول آب توئین و با کمک کاردک جمع‌آوری شدند و جهت تلقیح بذرهای جوانه‌دار استفاده شدند. برای آلوده کردن خاک، غلظت آلاینده با توجه به حدود غلظت مجاز سرب در خاک انتخاب شد (Cariny, 1995) و برای این منظور از نمک نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) استفاده شد. چهار ماه قبل از کشت گیاه، غلظت‌های مختلف نیترات جهت آلوده کردن مقدار مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، مقدار محاسبه شده‌ی نمک به یک کیلوگرم از خاک افزوده شد و برای بدست آمدن خاک همگن در حد امکان مخلوط شد. این پیش ماده‌ی آلوده به‌طور کامل با توده خاک اصلی مورد استفاده برای پر کردن گلدان‌ها مخلوط شد. نیتروژن افزوده شده به خاک توسط نمک نیترات سرب، با افزودن مقادیر محاسبه شده اوره به تیمارهای مختلف تصحیح شد. سپس خاک آلوده در جعبه‌های پلاستیکی بدون زهکش در معرض دوره‌های متناوب تر و خشک قرار گرفت. در هر چرخه، خاک از آب اشباع شد و سپس تا هوا-خشک شدن در دمای اتاق ماند. خاک‌ها در چهار چرخه به همین روش، تر و خشک شدند، که هر چرخه حدود ۳۰ روز بود که تا حد امکان برهمکنش‌های آلاینده و خاک تکوین یافته و شرایط آلودگی طبیعی‌تر باشد. سپس، خاک‌های آلوده به مقدار ۱۰ کیلوگرم با غلظت‌های یاد شده در سه تکرار برای هر غلظت در گلدانها ریخته شد (Karimi *et al*. 2018).

جهت کشت گیاه، بذرهای چمن فستوکا پس از ضدعفونی با الکل ۹۵٪ (۳۰ ثانیه) و هیپوکلریت سدیم ۷٪ (۵-۳ دقیقه) در ظرف‌های استریل پلاستیکی روی کاغذ صافی جوانه‌دار شدند. بذرهای چمن پس از جوانه‌دار شدن به مدت ۲ ساعت به‌صورت غوطه‌ور در داخل سوسپانسیون حاوی اسپور قارچ روی شیکر تکان داده شدند تا امکان اتصال اسپورهای قارچ به سطح ریشه‌چه فراهم شود. همچنین به منظور یکنواخت بودن شرایط آزمایش، بذرهای جوانه‌دار شده بدون تلقیح قارچ نیز ۲ ساعت درون محلول آب- توئین تکان داده شدند. سپس بذرها، در گلدان‌های ۱۰ لیتری حاوی بستر خاک و ماسه به نسبت ۴۰: ۶۰ کشت شدند. آبیاری گلدان‌ها بر اساس توزین گلدان‌ها و تعیین ظرفیت زراعی و بصورت روزانه انجام گرفت. طول مدت کشت، حدود هشت ماه بود تا چمن‌ها به خوبی استقرار یابند.

برای تعیین آلودگی ریشه‌ها با قارچ، رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با تریپان بلو صورت گرفت (Giovannetti & Mosse, 1980). جهت محاسبه‌ی وزن تر و خشک اندام هوایی ، وزن تر هر نمونه بلافاصله توسط ترازوی دیجیتال (METTLER, PJ300) و با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برای محاسبه وزن خشک لندام هوایی نمونه‌ها، در پاکت کاغذی، به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند و پس از خارج کردن نمونه‌ها از آون، وزن آن‌ها به کمک ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری و ثبت شد. برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه، ریشه‌ها در انتهای آزمایش از محل طوقه، قطع و شسته شدند و همانند روش اندازه‌گیری وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر و خشک ریشه اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری طول ریشه، ریشه‌ها در انتهای آزمایش از محل طوقه، قطع و شسته شدند و طول بلندترین انشعاب توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد.

عملکرد نسبی (Relative Yield- RY) ماده خشک عصاره، از تقسیم عملکرد ماده خشک گیاه در هر تیمار

بـر عملکـرد مـاده خشـک گیـاه در شـرایط بـدون سـرب و در تیمار شاهد (بدون مایه‌زنـی میکـروب‌هـا) بـه‌دسـت آمـد (Khodaverdiloo *et al*., 2012).

محتوای نســبی آب برگ‌هـا (Relative Water Content-RWC) بـر طـبـق روش بـارس و ویـتـرلـی (Barrs & Weatherley, 1962) بر حسب درصد از طریق معادله‌ی زیر به دست آمد:

$$\mathrm{RWC}\ (\%) = [\mathrm{FW} - \mathrm{DW}/\mathrm{TW} - \mathrm{DW}] \times 100 \qquad (۱)$$

که در آن RWC محتوای نسبی آب، FW وزن تر، DW وزن خشک و TW وزن آماس نمونه‌ها می‌باشد.

محتوای کلروفیل a و b به روش لیچتن‌تالر (Lichtenthaler, 1987) اندازه‌گیری شد و با استفاده از روابط ۲ و ۳ محتوای کلروفیل a و b بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

$$\mathrm{Chlorophyll}\ a = [(19.3 \times \mathrm{A663} - 0.86 \times \mathrm{A645})] / 1000\mathrm{W} \times \mathrm{V} \qquad (۲)$$

$$\mathrm{Chlorophyll}\ b = [(19.3 \times \mathrm{A645} - 3.6 \times \mathrm{A663})] / 1000\mathrm{W} \times \mathrm{V} \qquad (۳)$$

V: حجم محلول صاف شده (محلول روشناور)

A: جذب نمونه در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵

W: وزن تر نمونه‌ی برگی

انـدازه‌گیری میزان پرولین بر طبق روش بیتس و همکـاران (Bates *et al*. 1973) و اندازه‌گیری قندهای محلول بر اساس روش ایریگوین و همکاران (Irigoyen *et al*. 1992) انجام شد. برای اندازه‌گیری غلظت فسـفر، پتاسـیم و سـرب در گیاه، از روش هضـم خشـک اسـتفاده شـد. نمونه‌های گیاهی در کوره الکتریکی و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت قرار داده شدند، خاکستر به‌دست آمده توسط اسیدکلریدریک ۲ مولار هضم شد و سپس به کمک کاغذ صافی فیلتر شده و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شـد. غلظت فسـفر در گیاه به‌روش رنگ سـنجی (رنگ زرد مولبیدات وانادات) و با اســتفاده از دســتگاه اســپکتروفتومتر (HALO DB-20 Dynamica) در طول موج ۴۷۰ نـانومتر انـدازه‌گیری شـد (Cotteni, 1980). غلظت پتاسیم در عصاره‌های گیاهی توسط دسـتگاه شـعله‌سـنج (فلیم‌فتومتر ، فاطر ۴۰۵، Flame photometer) اندازه‌گیری شد (Emami, 1980). غلظت سرب در عصـاره‌های گیاهی با اسـتفاده از دسـتگاه جذب اتمی (CTA 3000) اندازه‌گیری شـد (Sun *et al*., 2009). غلظت نیتروژن به‌روش هضـم تر توسـط اسـید سـولفوریک، اسـید سـالیسـیلیک و آب اکسـیژنه و با اسـتفاده از دسـتگاه کجلدال اندازه‌گیری شـد (Mulvaney, 1996). سـرب اسـتخراج شـده توسـط شـاخسـاره (Shoot Metal Extraction- ME) از حاصلضرب غلظت سـرب شـاخسـاره در عملکرد وزن خشـک شـاخسـاره گیاه و سـرب اسـتخراج شـده توسـط ریشـه (Root Metal Extraction-MS) از حاصلضرب غلظت سرب ریشه در عـمـلـکـرد وزن خشـــک ریشـــه گـیـاه و فـاکـتـور انتقال (Translocation Factor-TF) از تقسـیم غلظت سـرب در شاخساره بر غلظت سرب در ریشه به‌دست آمد (Li *et al*. 2007).

پـس از بررسـی آزمـون نرمـال بـودن توزیـع خطاهـا بـا اســتفاده از PROC UNIVARIATE، تجزیـــه واریـــانس داده‌هـا بـا اسـتفاده از PROC GLM در نـرم‌افـزار SAS 9.4 انجـام شـد. بـرای مقایسـه میـانگین داده‌هـا از آزمـون چند دامنـه‌ای دانکـن در سـطح احتمـال ۵ درصـد اسـتفاده شد. آنـالیز گـروه‌بنـدی خوشـه‌ای توسـط نقشـه‌ی حرارتـی با استفاده از نرم‌افزار R ترسیم شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این پژوهش

Table 1. The physical and chemical properties of soil used in this study

Parameters	Value
Total Nitrogen (%)	0.08
Calcium Carbonate Equivalent (CCE)	15.5
Organic Carbon (%)	0.38
Organic Matter (%)	0.65
Pava (ppm)	10
Kava (ppm)	306
EC ($dS\ m^{-1}$)	0.88
pH	7.32
Soil Texture	loamy sand

نتایج و بحث

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (جداول ۲ و ۳) اثر اصلی مایه‌زنی قارچ *P. indica*، آلودگی سرب و اثر متقابل آن‌ها بر میزان وزن تر و خشک ریشه، کلروفیل a و b، غلظت فسفر برگ و ریشه، غلظت سرب برگ و ریشه، سرب استخراج شده توسط شاخساره و ریشه‌ی گیاه و فاکتور انتقال معنی‌دار بود. اثر مایه‌زنی قارچ *P. indica* و آلودگی سرب بر صفات طول ریشه، وزن تر اندام هوایی، محتوای نسبی آب برگ، پرولین و غلظت نیتروژن برگ معنی‌دار بود. همچنین، در صفات غلظت پتاسیم و نیتروژن ریشه، اثر اصلی تیمار مایه‌زنی *P. indica* معنی‌دار بود. بر اساس آنالیز گروه‌بندی خوشه‌ای با نقشه‌ی حرارتی، تیمارها به سه گروه اصلی تقسیم شدند. گروه اول شامل مایه‌زنی و بدون مایه‌زنی با قارچ در شرایط بدون تنش سرب، گروه دوم شامل مایه‌زنی با قارچ در شرایط تنش سرب در غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و گروه سوم شامل بدون مایه‌زنی در شرایط تنش سرب در غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بودند. بر این اساس در شرایط بدون تنش سرب، مایه‌زنی با قارچ نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی، اختلاف معنی‌داری در صفات مورد مطالعه نداشت. تأثیر تیمار مایه‌زنی با قارچ در هر دو غلظت تنش سرب در صفات مورد بررسی یکسان بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس ویژگی‌های چمن فستوکای پابلند رقم Tomahawk **تحت تأثیر آلودگی سرب و قارچ** *P. indica*

Table 2. Analysis of variance of *Festuca arundinacea* cv. Tomahawk characteristics under Pb contamination and *P. indica*

Source of variation	DF	Mean Square										
		Root Length	Root Fresh Weight	Root Dry Weight	Shoot Fresh Weight	Shoot Dry Weight	Relative Yield (RY)	Relative Water Content	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Proline	Soluble Sugars
Repetition	2	2.16 ^{ns}	2.85 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.05^{ns}	0.04 ^{ns}	0.009 ^{ns}	4.66 ^{ns}	0.71 ^{ns}	0.007 ^{ns}	2.33 ^{ns}	0.0003 ^{ns}
P. indiaca	1	37.55 *	750.91 **	70.12 **	1.75 **	0.18 ^{ns}	0.033 ^{ns}	86.73 **	14.27 **	0.029 ^{ns}	72.87 **	9.509 ^{ns}
Pb	2	50.16 **	263.60 **	12.23 **	2.24**	1.86**	0.354 **	61.21 **	7.82 **	0.62 *	49.15 **	59.59 **
P. indica × Pb	2	2.72^{ns}	28.65 *	3.87 **	0.08 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.006 ^{ns}	0.03 ^{ns}	2.90 *	0.38 *	3.706 ^{ns}	8.307 ^{ns}
Erorr	34	4.83	4.19	0.45	0.12	0.04	0.008	3.83	0.68	0.084	3.793	3.708
Coefficient of Variation (CV) (%)		7.49	6.15	10.65	5.78	11.46	11.83	5.42	15.31	21.05	10.89	5.06

*، **، ^{ns}: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

*, ** and ^{ns}: significant at 5%, 1% and non-significant respectively

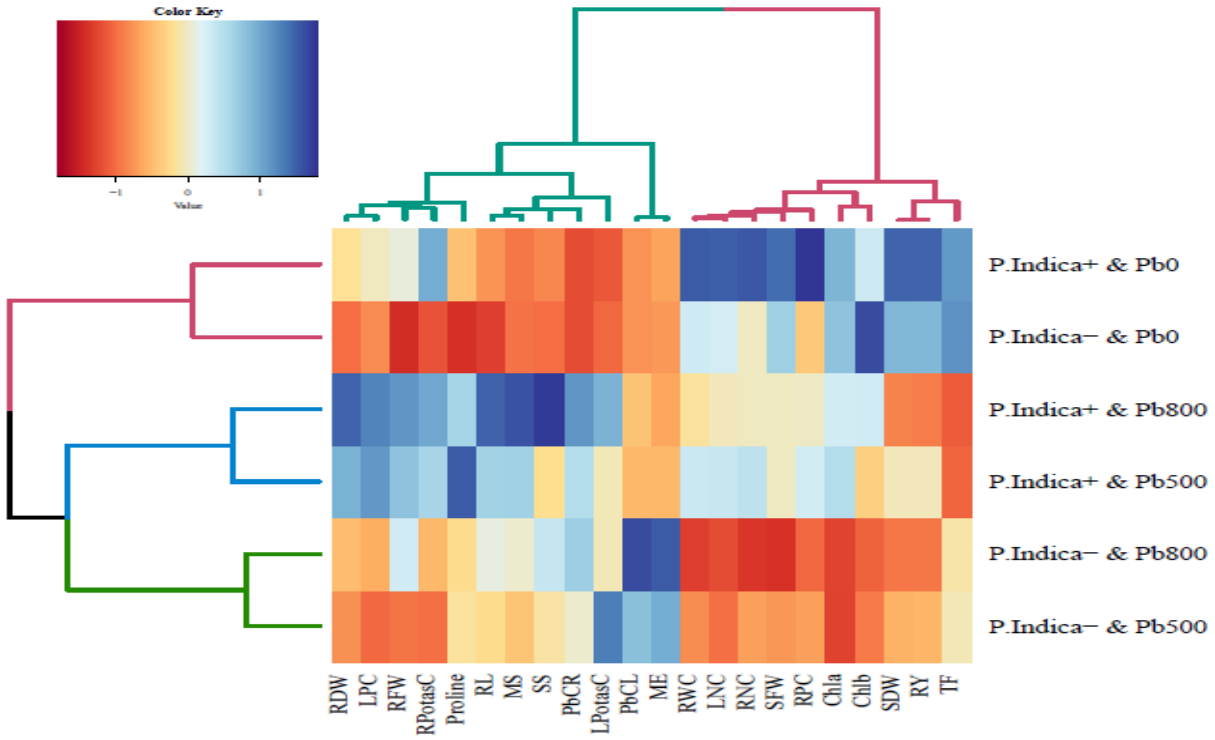
جدول ۳- تجزیه واریانس ویژگی‌های چمن فستوکای پابلند رقم Tomahawk **تحت تأثیر آلودگی سرب و قارچ** *P. indica*

Table 3. Analysis of variance of *Festuca arundinacea* cv. Tomahawk characteristics under Pb contamination and *P. indica*

Source of Variation	DF	Mean Square										
		Leaf Phosphorus Concentration	Root Phosphorus Concentration	Shoot Nitrogen Concentration	Root Nitrogen Concentration	Leaf Potassium Concentration	Root Potassium Concentration	Leaf Pb Concentration	Root Pb Concentration	Shoot Pb Extraction (ME)	Root Pb Extraction (MS)	Translocation Factor (TF)
Repetition	2	0.0009 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.019 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.008 ^{ns}	39.2 ^{ns}	20.52 ^{ns}	411.01 ^{ns}	2732.86 ^{ns}	0.027 ^{ns}
P. indiaca	1	0.318 **	0.071 **	0.115 **	0.064 *	0.00001 ^{ns}	0.27**	10336.02 **	7173.35 **	19049.13 **	5360881.88 **	0.284 **
Pb	2	0.002*	0.019 **	0.062 *	0.025 ^{ns}	0.0005 ^{ns}	0.006 ^{ns}	5209.63 **	111197.13 **	6463.71 **	7110414.07 **	0.814 **
P. indica × Pb	2	0.002 *	0.005 **	0.0002 ns	0.0006 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.003 ^{ns}	2908.56 **	1797.506 **	5853.58 **	1382518.77 **	0.06 *
Erorr	34	0.0004	0.0004	0.011	0.01	0.0001	0.016	22.106	25.49	181.76	39115.47	0.008
Coefficient of Variation (CV) (%)		3.38	4.04	8.64	13.69	5.18	13.96	9.78	3.01	17.688	15.91	18.73

*، **، ^{ns}: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

*, ** and ^{ns}: significant at 5%, 1% and non-significant respectively



شکل ۱- آنالیز گروه‌بندی خوشه‌ای چمن فستوکای پا بلند رقم Tomahawk **بر اساس ۶ گروه تیمار اصلی. فاکتور انتقال (TF)، عملکرد نسبی شاخساره (RY)، وزن خشک اندام هوایی (SDW)، کلروفیل a و b (Chl*a* و Chl*b*). غلظت فسفر ریشه (RPC)، وزن تر اندام هوایی (SFW)، غلظت نیتروژن ریشه (RNC)، غلظت نیتروژن برگ (LNC)، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، سرب استخراج شده توسط شاخساره (ME)، غلظت سرب اندام هوایی (PbCL)، غلظت پتاسیم اندام هوایی (LPotasC)، غلظت سرب ریشه (PbCR)، میزان قندهای محلول (SS)، سرب استخراج شده توسط ریشه (MS)، طول ریشه (RL)، محتوای پرولین (Proline)، غلظت پتاسیم ریشه (RPotasC)، وزن تر ریشه (RFW)، غلظت فسفر برگ (LPC)، وزن خشک اندام هوایی (RDW).**

Figure 1- Hierarchical cluster analysis *Festuca arundinacea* cv. Tomahawk based on six main treatment groups. Translocation Factor (TF), Relative Yield (RY), Shoot dry weight (SDW), Chlorophyll a and b (Chla and Chlb), Root phosphorus concentration (RPC), Shoot fresh weight (SFW), Root nitrogen concentration (RNC), Shoot nitrogen concentration (LNC), Relative water content (RWC), Shoot Metal Extraction (ME), Leaf lead concentration (PbCL), Leaf potasium concentration (LPotasC), Root lead concentration (PbCR), Soluble sugars (SS), Root Metal Extraction (MS), Root length (RL), Proline content (Proline), Root potassium concentration (RPotasC), Root fresh weight (RFW), Leaf phosphorus concentration (LPC), shoot dry weight (RDW).

جدول ۴- مقایسه میانگین ویژگی‌های چمن فستوکای پابلند رقم Tomahawk **تحت تأثیر قارچ** *P. indica*

Table 4. Mean comparison of *Festuca arundinacea* cv. Tomahawk characteristics under *P. indica*

	Root Length (cm)	Shoot Fresh Weight (g)	Relative Water Content (%)	Proline (mg g^{-1} FW)	Root Potassium Concentration (%)	Leaf Nitrogen Concentration (%)	Root Nitrogen Concentration (%)
P. indica -	27.88 b ± 2.75	5.82 b ± 0.65	33.91 b ± 3.21	15.86 b ± 2.29	0.80 b ± 0.1	1.13 b ± 0.11	0.7 b ± 0.07
P. indica +	30.77 a ± 3.49	6.44 a ± 0.56	38.3 a ± 3.3	19.89 a ± 3.64	1.05 a ± 0.12	1.29 a ± 0.14	0.82 a ± 0.13

نشان‌دهنده‌ی عدم مایه‌زنی و مایه‌زنی با قارچ *Piriphormospora indica* **هستند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک باهم اختلاف معنی‌داری ندارند** *P. indica* – **و** *P. indica* +

P. indica – *and P. indica* + indicate non inoculation and inoculation with *Piriphormospora indica*. The means of at least one letter in common do not differ significantly.

جدول ۵- مقایسه میانگین ویژگی‌های چمن فستوکای پا بلند رقم Tomahawk **تحت تأثیر آلودگی سرب**

Table 5. Mean comparison of *Festuca arundinacea* cv. Tomahawk characteristics under Pb contamination

	Root Length (cm)	Shoot Fresh Weight (g)	Shoot Dry Weight (g)	RY (g pot^{-1})	Relative Water Content (%)	Proline (mg g^{-1} FW)	Soluble Sugars (mg g^{-1} FW)	Leaf Nitrogen Concentration (%)
Pb0	26.16 a ± 1.83	6.83 a ± 0.31	2.46 a ± 0.21	1.067 a ± 0.1	39.62 a ± 3.33	14.72 b ± 1.85	35.25 b ± 0.83	1.33 a ± 0.1
Pb1	30 a ± 2.82	5.89 b ± 0.41	1.68 b ± 0.2	0.73 b ± 0.11	35.3 b ± 2.59	20.3 a ± 3.97	37.56 b ± 1.62	1.18 b ± 0.14
Pb2	31.83 b ± 2.78	5.68 b ± 0.62	1.37 c ± 0.26	0.59 c ± 0.08	33.38 b ± 3.03	18.61 a ± 2.3	41.33 a ± 3.05	1.14 b ± 0.14

به‌ترتیب نشان‌دهنده‌ی سطوح نیترات سرب در غلظت‌های صفر، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک هستند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک باهم اختلاف معنی‌داری ندارند. Pb2 **و** Pb1، Pb0

Pb0, Pb1, Pb3 and Pb4 indicate the lead nitrate levels at concentrations of 0, 500 and 800 mg kg^{-1} soil, respectively. The means of at least one letter in common do not differ significantly.

جدول ۶- مقایسه میانگین ویژگی‌های چمن فستوکای پا بلند رقم Tomahawk **تحت تأثیر آلودگی سرب و قارچ** *P. indica*

Table 6. Mean comparison of *Festuca arundinacea* cv. Tomahawk characteristics under Pb contamination and *P. indica*

		Root Fresh Weigh t (g)	Root Dry Weigh t (g)	Chlorophyll a (mg g^{-1} fw)	Chlorophyll b (mg g^{-1} fw)	Leaf Phosphorus Concentration (%)	Root Phosphorus Concentration (%)	Pb Concentr ation in Leaf (mg kg^{-1})	Pb Concentrati on in Root (mg kg^{-1})	ME (mg $pot^{-1)}$	MS (mg pot^{-1})	TF
P. indica -	Pb0	19.88 d ± 0.85	3.76 e ± 0.14	6.64 a ± 0.42	1.98 a ± 0.26	0.59 c ± 0.009	0.49 cd ± 0.02	16 d ± 1	17 e ± 2.08	37.08 c ± 5.28	65.1 e ± 0.85	0.93 a ± 0.17
	Pb1	24.4 c ± 2.48	4.3 de ± 0.81	3.46 b± 1.33	1.04 b ± 0.33	0.58 c ± 0.01	0.47 de ± 0.003	82.88 b ± 7.34	172.11 d ± 5.05	129.24 b ± 24.43	738.95 d ± 131.66	0.48 b ± 0.04
	Pb2	36.23 b ± 2.7	5.07 cd ± 0.5	3.48 b ± 0.9	0.99 b ± 0.16	0.606 bc ± 0.01	0.44 e ± 0.02	117.22 a ± 8.78	253.55 b ± 1.34	159.92 a ± 22.47	1286.06 c ± 136.07	0.46 b ± 0.03
P. indica +	Pb0	34.19 b ± 1.67	5.9 c ± 0.17	6.83 a ± 0.74	1.509 ab ± 0.14	0.63 b ± 0.03	0.69 a ± 0.007	15.66 d ± 2.08	17.33 e ± 2.3	40.81 c ± 4.62	102.4 e ± 15.42	0.91 a ± 0.19
	Pb1	40.82 a ± 1.09	8.81 b ± 0.24	6.22 a ± 0.18	1.26 b ± 0.43	0.69 a ± 0.01	0.56 b ± 0.009	26.66 c ± 3.51	233.66 c ± 9.5	48.58 c ± 6.97	2060.49 b ± 112.19	0.11 c ± 0.017
	Pb2	44.25 a ± 2.36	10.26 a ± 1.16	5.87 a ± 0.89	1.49 ab ± 0.1	0.7 a ± 0.03	0.53 bc ± 0.03	30 c ± 1	311.77 a ± 4.53	41.67 c ± 10.94	3201.64 a ± 386.77	0.09 c ± 0.003

– *P. indica* و +*P. indica* نشان‌دهنده‌ی عدم مایه‌زنی و مایه‌زنی با قارچ *Piriphormospora indica* و Pb0 ، Pb1 و Pb2 به‌ترتیب نشان‌دهنده‌ی سطوح نیترات سرب در غلظت‌های صفر، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک هستند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

P. indica – and P. indica+ indicate non inoculation and inoculation with *Piriphormospora indica* and Pb0, Pb1, Pb3 and Pb4 indicate the lead nitrate levels at concentrations of 0, 500 and 800 mg kg^{-1} soil, respectively. The means of at least one letter in common do not differ significantly

صفات مورفولوژیکی

طول و وزن تر و خشک ریشه

بر اساس نقشه‌ی حرارتی (شکل ۱) بیش‌ترین میزان طول ریشه در گروه دوم تیماری در شرایط تنش سرب و مایه‌زنی با قارچ و کم‌ترین میزان طول ریشه در گروه اول تیماری در شرایط بدون تنش سرب به دست آمد. تیمار مایه‌زنی با قارچ و تنش سرب در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به ترتیب موجب افزایش ۱۰/۳۵ و ۲۱/۶۵ درصد در طول ریشه شدند (جداول ۴ و ۵). تحت تنش سرب، بیش‌ترین میزان طول ریشه در غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک و کم‌ترین آن در شرایط بدون تنش سرب (به ترتیب میانگین ۳۱/۸۳ و ۲۶/۱۶ سانتی‌متر) ثبت شد (جدول ۵).

بیش‌ترین میزان وزن تر و خشک ریشه در گروه دوم تیماری در شرایط مایه‌زنی با قارچ تحت تنش سرب بر اساس آنالیز خوشه‌بندی نقشه‌ی حرارتی ثبت شد (شکل ۱). همچنین با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۶)، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان وزن تر ریشه به‌ترتیب در تیمار قارچ تحت تنش ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و بدون تیمار مایه‌زنی قارچ در همان غلظت تنش سرب (به‌ترتیب با میانگین ۴۴/۲۵ و ۱۹/۸۳ گرم) به‌دست آمد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان وزن خشک ریشه به‌ترتیب در تیمار قارچ، تحت تنش ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و بدون تیمار مایه‌زنی قارچ با شرایط بدون تنش سرب (به‌ترتیب با میانگین ۱۰/۲۶ و ۳/۷۶ گرم) به‌دست آمد. مایه‌زنی با قارچ، تحت تنش ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به بدون تیمار مایه‌زنی قارچ و بدون تنش سرب به ترتیب موجب افزایش ۲/۴۵ و ۳/۴۵ برابر در وزن تر و خشک ریشه شد (جدول ۶). غلظت زیاد سرب در گیاه، با کاهش تعرق و کمبود آب موجب ایجاد تنش ثانویه‌ی خشکی می‌شود (Kastori *et al*., 1992). احتمال دارد افزایش زیست‌توده ریشه تحت تنش سرب در این مطالعه به‌علت ایجاد تنش ثانویه‌ی خشکی باشد. افزایش زیست‌توده ریشه در چمن‌ها در شرایط کم‌آبی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای سازگاری برای بهبود کارایی جذب آب است (Huang *et al*., 1997). بر اساس نتایج پژوهش حاضر، با افزایش غلظت سرب خاک، طول، وزن تر و خشک ریشه و در نتیجه زیست‌توده ریشه افزایش یافت که این نتیجه با یافته‌های فتاحی و همکاران (Fattahi *et al*., 2021) مطابقت داشت ولی در گزارش آریاس و همکاران (Arias *et al*., 2010) آلودگی سرب باعث کاهش طول ریشه در درخت کهور (*Prosopis* sp.) شد. تیمار قارچ *P. indica* در مطالعه‌ی حاضر باعث افزایش وزن تر و خشک ریشه تحت آلودگی سرب شد که Shahabivand و همکاران (Shahabivand *et al*., 2017) نیز در گیاه آفتابگردان مایه‌زنی شده با *P. indica* تحت تنش کادمیوم گزارش دادند که وزن تر و خشک ریشه نسبت به گیاهان مایه‌زنی نشده افزایش یافت

وزن تر و خشک اندام‌های هوایی

در گروه سوم تیماری در تنش سرب و شرایط بدون مایه‌زنی با قارچ، وزن تر و خشک اندام هوایی کم‌ترین مقدار خود را داشت (شکل ۱) که این کاهش در تنش سرب در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در وزن تر و خشک اندام هوایی به‌ترتیب، ۲۰/۲ و ۷۵/۵۱ درصد بود (جدول ۵). طبق نتایج جدول ۴، وزن تر اندام هوایی تحت مایه‌زنی با قارچ افزایش ۱۰/۷۱ درصدی نشان داد. میزان عملکرد نسبی شاخساره در شرایط آلودگی سرب کاهش یافت که این کاهش در غلظت ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به‌ترتیب ۴۵/۳۶۷، ۷۹/۶۲۹ درصد ثبت شد (جدول ۵). در مطالعه‌ی حاضر، تنش سرب موجب کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی شد. فتاحی و همکاران (Fattahi *et al*., 2021) گزارش کردند که آلودگی سرب در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به‌ترتیب باعث کاهش ۱۰/۷۲ درصد و ۱۸/۵۱ درصدی وزن تر و خشک در برگ گشنیز (*Coriandrum sativum* .*L*) شد. کاهش وزن تر و خشک برگ تحت آلودگی سرب احتمال دارد به‌علت کاهش سرعت تعرق، اختلال در سوخت و ساز گیاه و همچنین تغییر ساختار پروتئین‌ها به‌علت اتصال فلز به گروه‌های سولفیدریل در پروتئین‌ها باشد (Weryszko-Chmielewska & Chwil, 2005). با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، عملکرد شاخساره‌ی گیاه بنگدانه (*Hyoscyamus niger*) کاهش یافت (Kazemaliloo *et al*., 2013). مطابق پژوهش حاضر، پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که *P. indica* در مواجهه با فلزات سنگین سرب و کادمیوم موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاه جو (Karimi *et al*., 2015) و قطر ساقه و وزن خشک اندام هوایی در گیاه گندم (*Triticum*) (Shahabivand & Aliloo, 2016) شد. هم‌چنین، قارچ *P. indica* با افزایش فراهمی عناصر غذایی

از طریق افزایش سطح تماس ریشه با خاک سبب بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه در برابر تنش فلزات سنگین می شود. دلیل افزایش زیست‌توده گیاه یونجه (*Medicago sativa*) تحت تنش کادمیوم و تیمار مایه‌زنی با قارچ *P. indica* افزایش جذب مواد مغذی عنوان شد (Sepehri & Khatibi, 2021). سیرنبرگ و همکاران (Sirrenberg *et al*., 2007) و واداسری و همکاران (Vadassery *et al*., 2008) گزارش کردند که قارچ *P. indica* با افزایش تولید هورمون‌های اکسین و سیتوکینین توسط گیاه میزبان موجب افزایش رشد می‌شود.

صفات فیزیولوژیکی

محتوای نسبی آب برگ

مایه‌زنی با قارچ توانست به میزان ۱۲/۹۴ درصد نسبت به شرایط بدون تیمار مایه‌زنی با قارچ، محتوای نسبی آب برگ را افزایش دهد (جدول ۴). محتوای نسبی آب برگ در گروه سوم تیماری تحت تنش سرب و در شرایط بدون مایه‌زنی با قارچ کم‌ترین مقدار خود را داشت (شکل ۱) که این کاهش در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نسبت به شرایط بدون تنش سرب، به میزان ۱۸/۶۸ درصد مشاهده شد (جدول ۵). در بررسی حاضر، آلودگی سرب موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ شد که با نتایج آلسوکاری و آلدسکوی (Alsokari & Aldesuquy, 2011) مطابقت داشت. کادمیوم با کاهش انتقال مواد از ریشه به شاخساره، کاهش قابلیت تراوایی ریشه، کاهش اندازه و تعداد آوندهای چوبی، افزایش لیگنینی شدن ریشه، جلوگیری از ساخت ریشه‌های موئین و آسیب به نوک ریشه‌های اصلی موجب اختلال در جذب آب و به‌هم ریختن تعادل آب در گیاه می‌گردد (Barcelo & Poschenrieder, 1990). انباشت پرولین در اثر تنش‌های محیطی، دلیل مناسبی برای کاهش محتوای نسبی آب برگ و به‌وجود آمدن خشکی فیزیولوژیکی در گیاه می‌باشد (Hussain *et al*. 2012). کاهش محتوای نسبی آب برگ در گیاه بنگدانه تحت تنش کادمیوم (Kazemalilou & Rasouli Sadeghiani, 2012) و مریم گلی تحت تنش شوری (Aslani *et al*., 2022) به ترتیب با مایه‌زنی با قارچ‌های مایکوریز و *P. indica* کاهش یافت. احتمال می‌رود گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ *P. indica* از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه‌ی گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های قارچ موجب افزایش جذب آب و بهبود روابط آبی می‌گردد (Augé, 2001).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

بر اساس نقشه‌ی حرارتی محتوای کلروفیل a و b در گروه سوم تیماری تحت تنش سرب و بدون مایه‌زنی با قارچ کم‌ترین مقدار خود را داشتند (شکل ۱) و کاهش در محتوای کلروفیل a بدون مایه‌زنی با قارچ در تنش سرب در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک ۹۰/۶۷ درصد بود که در تیمار مایه‌زنی با قارچ در همین سطح تنش سرب، کاهش محتوای کلروفیل a، ۱۶/۲۱ درصد بود (جدول ۶). محتوای کلروفیل b تحت تیمار قارچ در شرایط تنش سرب کاهش کم‌تری را نسبت به شرایط بدون تیمار قارچ نشان داد و بیش‌ترین و کم‌ترین محتوای کلروفیل b در شرایط بدون تنش سرب و عدم مایه‌زنی با قارچ و تنش سرب در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و عدم مایه‌زنی با قارچ به‌ترتیب ۱/۹۸ و ۰/۹۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر مشاهده گردید (جدول ۶). قلی‌نژاد و همکاران (Gholinejad *et al*., 2020) گزارش کردند تنش سرب در چمن لولیوم (*Lolium perenne*) باعث کاهش محتوای کلروفیل می‌گردد که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. با توجه به این‌که مراحل اولیه بیوسنتز کلروفیل که سنتز ۵-آمینو لوولینیک اسید (5-Aminolaevulinic acid) و فعالیت آنزیم ۵- آمینو لوولینیک اسید دهیدرلتاز (5- Aminolaevulinic acid dehydratase) که تبدیل ۵- آمینو لوولینیک اسید به پرفوبیلینوژن (Porphobilinogen) را لنجام می‌دهد، از حساس‌ترین مراحل بیوسنتز کلروفیل نسبت به فلزات سنگین محسوب می‌شود، بنابراین فلزات سنگین با ممانعت از فعالیت این آنزیم منجر به کاهش انباشت کلروفیل در سطح برگ می‌شوند (Prasad and de Oliveira Freitas, 2003). فلزات سنگین مانند کادمیوم، سرب و نیکل از طریق جایگزینی با فلز منیزیم مرکزی موجود در ساختار کلروفیل مانع دریافت نور شده و از این طریق به فتوسنتز آسیب می‌رسانند (Kapoor and Bhatnagar, 2007). کادیان و همکاران (Kadian *et al*., 2013) اظهار داشتند همزیستی با قارچ مایکوریز در شرایط تنش شوری از طریق افزایش جذب عناصر غذایی مثل فسفر و منیزیم می‌تواند باعث افزایش بیوسنتز کلروفیل شود. مشابه مطالعه‌ی حاضر، قارچ *P. indica* در جو

(Karimi *et al*., 2015) و کلزا (Emamian Tabarestani *et al*., 2019) در سطوح مختلف سرب موجب افزایش سبزینگی برگ نسبت به شاهد شد. با مایه‌زنی گیاهان گندم و آفتابگردان با قارچ *P. indica* تحت تنش کادمیوم به‌ترتیب میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی افزایش یافت (Shahabivand *et al*., 2012; Shahabivand *et al*., 2017).

پرولین و قندهای محلول

بیش‌ترین، متوسط و کم‌ترین مقدار پرولین به‌ترتیب در گروه سوم تیماری، در گروه دوم تیماری و در گروه اول تیماری ثبت شد. نتایج آنالیز نقشه‌ی حرارتی نشان داد تیمار مایه‌زنی با قارچ موجب افزایش میزان پرولین نسبت به شرایط بدون مایه‌زنی تحت تنش سرب در هر دو غلظت ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک شد (شکل ۱). میزان پرولین به مقدار ۲۵/۳۶۸ درصد تحت مایه‌زنی با قارچ افزایش داشت (جدول ۴). تحت تنش سرب میزان پرولین افزایش یافت که بیش‌ترین مقدار آن در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (میانگین ۲۰/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود، اگرچه اختلاف معنی‌داری با غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نداشت و کم‌ترین میزان آن در شرایط بدون تنش سرب (میانگین ۱۴/۷۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۵). تنش سرب در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک موجب افزایش ۱۷/۲۵ درصدی میزان قند محلول شد (جدول ۵). انباشت پرولین یکی از روش‌های متابولیکی بارز گیاهان در پاسخ به تنش اسمزی یا سایر تنش‌ها توسط گیاهان عالی است. پیشنهاد شده است که پرولین می‌تولند به‌عنوان منبع نیتروژن و کربن جهت ریکاوری سریع بعد از تنش‌های محیطی عمل کند و موجب تثبیت غشاهای سلولی و برخی ماکرومولکول‌ها شود و همچنین به‌عنوان جاروب‌کننده‌ی رادیکال‌های آزاد عمل کند، بنابراین گیاه را تحت شرایط سخت تنش محافظت کند (Boscaiu *et al*., 2013). کاهش سنتز کلروفیل با افزایش محتوای پرولین همراه بوده است. لازم به ذکر است که گلوتامات پیش ماده‌ی کلروفیل و پرولین است و کاهش محتوای کلروفیل نشان دهنده‌ی سنتز بیشتر پرولین از گلوتامات تحت شرایط تنش است (Molazem *et al*., 2010)؛ همچنین کاهش محتوای نسبی آب برگ همراه با انباشت پرولین نشان می‌دهد که محتوای پرولین برای تنظیم اسمزی افزایش می‌یابد و اثرات مخرب تنش را تعدیل می‌کند (Ashraf *et al*., 2007). آلودگی سرب و مایه‌زنی با قارچ در مطالعه‌ی حاضر موجب افزایش میزان پرولین شد که مطابق این نتایج، نتایج مشابهی در گیاه آفتابگردان (Shahabivand *et al*., 2017) و تنباکو (Hui *et al*., 2015) تحت تنش کادمیوم و مریم‌گلی (Aslani *et al*., 2022) تحت تنش شوری با مایه‌زنی با قارچ *P. indica* به‌دست آمد. تحت تنش‌های محیطی، قندهای محلول در تنظیم رشد، فتوسنتز، تقسیم کربن، متابولیسم کربوهیدرات و لیپید و سنتز پروتئین نقش دارند (Rosa *et al*., 2009). علاوه بر این، کربوهیدارت‌ها در احیای NADP+ به NADPH در مسیر اکسیداتیو پنتوز فسفات که برای مهار گونه‌های اکسیژن فعال ضروری است نقش دارند (Hu *et al*. 2012). تنش سرب با تخریب فرآیندهای فتوسنتزی و منبع انرژی، منجر به کاهش کلروفیل شده و در نتیجه بر محتوای قندهای محلول تأثیر خواهد گذاشت. افزایش در محتوای ساکارز و کاهش در محتوای گلوگز و فروکتوز در گیاه بادنجان (*Solanum nigrum*) تحت تنش سرب ثبت شد (Khan *et al*., 2021). در بررسی حاضر با افزایش تنش سرب، میزان قندهای محلول افزایش یافت. مایه‌زنی با قارچ *P. indica* در گیاه جو تحت تنش شوری محتوای قندهای محلول را افزایش داد (Ghabooli, 2014)، که با نتایج ما مطابقت نداشت.

عناصر برگ و ریشه

غلظت فسفر برگ در تیمارهای تنش سرب و مایه‌زنی قارچ افزایش یافت (شکل ۱) که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آن به‌ترتیب در مایه‌زنی قارچ و سرب در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و شرایط بدون تیمار قارچ و بدون تنش سرب (به‌ترتیب با میانگین ۰/۴ و ۰/۵۹ درصد) بود (جدول ۶). بر اساس نقشه حرارتی (شکل ۱) بیش‌ترین غلظت فسفر ریشه در گروه دوم تیماری در شرایط تنش سرب با مایه‌زنی با قارچ به‌دست آمد که طبق نتایج جدول ۶، افزایش غلظت فسفر ریشه به مقدار ۲۱/۳۶ درصد در تیمار قارچ نسبت به تیمار بدون مایه‌زنی با قارچ در شرایط آلودگی سرب در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود. غلظت پتاسیم ریشه نیز در تیمار مایه‌زنی با قارچ به مقدار ۳۰/۹۷ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). نقشه‌ی حرارتی شکل ۱ نشان می‌دهد که کم‌ترین غلظت نیتروژن برگ و ریشه در گروه سوم تیماری، تحت تنش سرب و بدون مایه‌زنی با قارچ ثبت شد. مایه‌زنی با قارچ توانست غلظت نیتروژن برگ و ریشه را به ترتیب به مقدار ۱۳/۹۸

و ۱۷/۱۴ درصد افزایش دهد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین جدول ۵ نشان می‌دهد که غلظت نیتروژن برگ با تنش سرب کاهش پیدا کرد که این کاهش، در تنش سرب با غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بیش‌تر و به مقدار ۱۶/۹۲ درصد بود.

بر اساس آنالیز گروه‌بندی خوشه‌ای با نقشه‌ی حرارتی، بیش‌ترین، متوسط و کم‌ترین غلظت سرب اندام هوایی و سرب استخراج شده توسط شاخساره (ME) به‌ترتیب در گروه سوم تیماری در شرایط تنش سرب و بدون مایه‌زنی قارچی، در گروه دوم تیماری در شرایط تنش سرب با مایه‌زنی قارچی و در گروه اول تیماری در شرایط بدون تنش سرب به‌دست آمد (شکل ۱). میزان انباشت سرب در برگ در شرایط بدون مایه‌زنی در غلظت‌های سرب ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به ترتیب ۸۲/۸۸ و ۱۱۷/۲۲ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به‌دست آمد (جدول ۶). بیش‌ترین مقدار ME در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک (میانگین ۱۵۹/۹۲ میلی‌گرم در گلدان) بود (جدول ۶). بیش‌ترین و کم‌ترین غلظت سرب ریشه و سرب استخراج شده توسط ریشه (MS) به‌ترتیب در گروه دوم تیماری در شرایط تنش سرب با مایه‌زنی قارچی و در گروه اول تیماری در شرایط بدون تنش سرب ثبت شد (شکل ۱). انباشت سرب در ریشه در مایه‌زنی با قارچ و در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک (میانگین ۳۱۱/۷۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) به‌دست آمد که در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در شرایط بدون مایه‌زنی نسبت به مایه‌زنی با قارچ، افزایش ۵/۶۷ برابر را نشان داد. بیش‌ترین مقدار MS در تیمار قارچ و در غلظت‌های سرب ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (به‌ترتیب ۳۲۰۱/۶۴ و ۲۰۶۰/۴۹ گرم در گلدان) ثبت شد که در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در شرایط مایه‌زنی نسبت به بدون مایه‌زنی با قارچ افزایش ۲/۹۷ برابر را نشان داد (جدول ۶). بیش‌ترین، متوسط و کم‌ترین مقدار صفت فاکتور انتقال به‌ترتیب در گروه اول تیماری در شرایط بدون تنش سرب تنش سرب، در گروه سوم تیماری در شرایط تنش سرب بدون مایه‌زنی قارچی و در گروه دوم تیماری در هر دو غلظت سرب و مایه‌زنی با قارچ ثبت شد (شکل ۱). نتایج به‌دست آمده نشان داد مایه‌زنی با قارچ باعث کاهش فاکتور انتقال شد. میزان فاکتور انتقال در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در شرایط بدون مایه‌زنی و مایه‌زنی با قارچ به ترتیب با میانگین ۰/۴۶ و ۰/۰۹۶ بود (جدول ۶). در مطالعه‌ی حاضر، تنش سرب باعث کاهش غلظت فسفر ریشه و نیتروژن اندام هوایی شد که با پژوهش‌های سینها و همکاران (Sinha *et al*., 2006)، زانگ و همکاران (Xiong *et al*., 2006) و کیبریا و همکاران (Kibria *et al*., 2009) مطابقت داشت. در پژوهش حاضر، همزیستی با قارچ موجب افزایش فسفر برگ و ریشه شد. سپهری و خطیبی (Sepehri & Khatibi, 2021) نیز نشان دادند گیاهان یونجه‌ی مایه‌زنی شده با قارچ *P. indica* تحت تنش کادمیوم بیش‌ترین میزان فسفر را داشتند. در همزیستی با قارچ‌ها، ذخیره‌ی مواد مغذی، به خصوص مواد مغذی که به ریشه منتقل می‌شوند در گیاهان بهبود می‌یابد (Ghanem *et al*., 2014). افزایش جذب مواد مغذی در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ‌های اندوفیتی به افزایش تولید هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین‌ها (Sirrenberg *et al*., 2007)، سیتوکینین‌ها (Vadassery *et al*., 2008)، جیبرلین‌ها، آبسیزیک اسید و براسینواستروئیدها (Schafer *et al*., 2009) و کاهش تولید اتیلن از طریق فعالیت ۱-آمینو سیکلوپروپان ۱-کربوکسیلات دآمیناز (Barazani *et al*., 2007) توسط ریزجانداران در محل اتصال به ریشه نسبت داده شده است که می‌تواند باعث بهبود تشکیل ریشه و در نتیجه جذب بیش‌تر عناصر غذایی و آب از خاک شود (Khademian *et al*., 2019). سیرنبرگ و همکاران (Sirrenberg *et al*., 2007) مشاهده کردند قارچ *P. indica* از طریق افزایش تولید اکسین موجب تحریک رشد و افزایش انشعابات ریشه در آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) می‌شود. در پژوهش حاضر نیز افزایش طول ریشه جهت فراهمی عناصر غذایی از بخش‌های عمیق‌تر خاک مشاهده گردید. قارچ *P. indica* از طریق افزایش بیان انتقال‌دهنده‌های فسفر، میزان فسفر را در آرابیدوپسیس افزایش داد (Sherameti *et al*., 2008). عناصر غذایی ممکن است به‌علت تغییراتی که ریزجانداران با ترشح اسیدهای آلی در pH ریزوسفر ایجاد می‌کنند و یا با کلاته‌شدن توسط مولکول‌های آلی تولید شده توسط ریزجانداران (سیدروفورها)، برای گیاه قابل دسترس‌تر گردند (Kasotia *et al*., 2015). در همین ارتباط، وو و همکاران (Wu *et al*., 2018) نشان دادند قارچ *P. indica* با بهبود فعالیت میکروارگانیسم‌های ریزوسفر از طریق افزایش فعالیت فسفاتاز و تولید اسیدهای آلی تحت

شرایط کمبود فسفر، باعث افزایش حلالیت فسفر از منابع غیر آلی و موجب جذب فسفر توسط ریشه‌های گیاه کلزا شد. در پژوهش حاضر، مایه‌زنی با قارچ موجب افزایش پتاسیم ریشه شد ولی بر غلظت پتاسیم اندام هوایی اثر معنی‌دار نداشت. گیاهان غنی از پتاسیم در همزیستی با قارچ‌های مختلف مایکوریز در شاخه‌های شمعدانی پیچ (*Pelargonium peltatum*) (Perner *et al*., 2007)، برگ-های کاهو (Baslam *et al*., 2013) و اندام هوایی مریم گلی (*Salvia officinalis*) (Aslani *et al*., 2022) گزارش شده است. در این پژوهش نیز قارچ *P. indica* غلظت نیتروژن را در بافت‌های اندام هوایی و ریشه افزایش داد که با مطالعات چن و همکاران (Chen *et al*., 2013)، سارما و همکاران (Sarma *et al*., 2013) و اصلانی و همکاران (Aslani *et al*., 2022) به ترتیب در گیاهان کلزا، گوجه‌فرنگی و مریم گلی مطابقت داشت. اثر قارچ *P. indica* بر تثبیت نیتروژن ثابت شده است. افزایش تثبیت نیتروژن می‌تواند به‌علت افزایش متابولیسم در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ *P. indica* باشد (Mansotra *et al*., 2015). در پژوهش حاضر، در گیاهان مایه‌زنی نشده نسبت به گیاهان مایه‌زنی شده، با افزایش سطوح تنش، غلظت سرب در بافت اندام‌هوایی و میزان سرب شاخساره افزایش یافت و با افزایش سطوح تنش، غلظت سرب در بافت ریشه و میزان سرب ریشه در گیاهان مایه‌زنی شده نسبت به گیاهان مایه‌زنی نشده بیش‌تر بود. هم‌چنین صفت فاکتور انتقال نشان داد در گیاهان مایه‌زنی شده، انتقال سرب از ریشه به اندام‌های هوایی کم‌تر بود. در نتیجه در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ، عنصر سنگین سرب در ریشه‌ها انباشت یافت که با یافته‌های Shahabivand و همکاران (Shahabivand *et al*., 2017) مطابقت داشت. در تمامی تیمارها، فاکتور انتقال کمتر از ۱ به‌دست آمد که می‌توان نتیجه‌گیری کرد که گیاه چمن فستوکا رقم تاماهاک قابلیت تثبیت‌کنندگی سرب بیشتری نسبت به استخراج کنندگی سرب داشته باشد. مشابه نتایج بررسی حاضر، ژو و همکاران (Zhou *et al*., 2018) گزارش کردند در میزان انتقال سرب به بخش‌های مختلف گیاه تفاوت وجود دارد و این میزان از ریشه تا برگ کاهش می‌یابد و بنابراین قسمت‌های مختلف گیاه درک متفاوتی از میزان سرب و در کل، فلزات سنگین دارند برین (Barin, 2014) در مطالعه‌ی خود گزارش کرد که قارچ‌های مایکوریز سبب افزایش غلظت کادمیوم و کادمیوم استخراج شده توسط شاخساره در گیاه خارزن‌بابا (*Onopordon acanthium* L.) و افزایش توانایی این گیاه در افزایش پالایش سبز خاک آلوده به کادمیوم شده‌اند. سپهری و خطیبی (Sepehri & Khatibi, 2021) مطابق نتایج پژوهش حاضر، نشان دادند غلظت کادمیوم در ریشه‌ی گیاهان یونجه نسبت به اندام هوایی در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ *P. indica* نسبت به گیاهان مایه‌زنی نشده افزایش یافت. در همین ارتباط، نتایج مشابهی در مایه‌زنی با قارچ *P. indica* به‌ترتیب در گیاهان تنباکو (Hui *et al*., 2015)، آفتابگردان (Shahabivand *et al*., 2017)، تحت تنش کادمیوم و جو (Karimi *et al*., 2015) تحت تنش سرب، به‌دست آمد. کاپور و باتناگار (Kapoor & Bhatnagar, 2007) غلظت بیش‌تر فلزات سنگین در ریشه‌های کرفس (*Apium graveolens*) تلقیح شده با مایکوریز را به رسوب فلزات سنگین در ساختارهای قارچی موجود در سلول‌های کورتکس ریشه نسبت داده‌اند. کلاته کردن یون‌های کادمیوم داخل قارچ‌ها یا جذب کادمیوم به کیتین در دیواره سلولی قارچ، منجر به انباشت کادمیوم در ریشه و ممانعت از انتقال کادمیوم از ریشه به بخش‌های بالایی گیاه می‌شود (Shahabivand *et al*., 2017). خان و همکاران (Khan *et al*. 2017) گزارش کردند که گیاه بادنجان با بکارگیری قارچ *P. indica* مقاوم به فلزات سنگین، با غیرمتحرک کردن آن‌ها از طریق تشکیل اگزالات یا کلاتین، قادر به غیر سمی کردن این فلزات است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که مایه‌زنی قارچ *P. indica* توانست با همزیستی با ریشه‌های گیاه چمن فستوکا (*Festuca arundinacea* cv. Tomahawk) و افزایش بیوماس ریشه و انباشت سرب در ریشه، موجب کاهش اثرات نامطلوب تنش سرب و بهبود رشد گیاه شود. همچنین نتایج نشان داد این قارچ با تغییر در میزان اسمولیت سازگار پرولین و محتوای نسبی آب برگ، سبب کاهش اثرات منفی آلودگی سرب در گیاه می‌شود. با توجه به تأثیر قارچ *P. indica* در بهبود رشد گیاه و افزایش جذب سرب به نظر می‌رسید که این قارچ در استخراج گیاهی (Phytoextraction) سرب مؤثر

باشد اما نتایج فاکتور انتقال نشان داد که این میکروارگانیسم به طور مؤثری در تثبیت گیاهی (Phytostabilization) سرب در گیاه مؤثر است. در نتیجه این قارچ همزیست و گیاه فستوکای پابلند دارای توانایی کاهش آلودگی سرب هستند و در کنار هم می‌توانند به‌عنوان راهکار مناسبی در افزایش کارایی گیاه‌پالایی سرب استفاده شوند.

References

Abdel-Salam A.A., Salem H.M., Abdel-Salam M.A., and Seleiman, M.F. 2015. Phytochemical removal of heavy metal-contaminated soils. In: Sherameti I., and Varma A. (eds.), Heavy Metal Contamination of Soils, Monitoring and Remediation, Soil Biology Book Series, Vol. 44, Springer Cham, pp. 299-309.

Alsokari S.S., and Aldesuquy H.S. 2011. Synergistic effect of polyamines and waste water on leaf turgidity, heavy metals accumulation in relation to grain yield. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(3): 376-384.

Appenroth K.J. 2010. Definition of "heavy metals" and their role in biological systems. In: Soil Biology, vol 19. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 19-29.

Arias J.A., Peralta-Videa J.R., Ellzey J.T., Ren M., Viveros M.N., and Gardea-Torresdey J.L. 2010. Effects of *Glomus deserticola* inoculation on *Prosopis*: enhancing chromium and lead uptake and translocation as confirmed by X-ray mapping, ICP-OES and TEM techniques. *Environmental and Experimental Botany*, 68(2): 139-148.

Ashraf M., and Foolad M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2): 206-216.

Aslani Z., Hassani A., Abdullahi Mendulkani B., Barin M., and Maleki R. 2022. The effect of inoculation with growth-promoting microorganisms on some growth and physiological characteristics and nutrient content of *Salvia officinalis* under salinity stress. *Applied Soil Research*, (9)3: 104- 122. (In Persian)

Augé R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11(1): 3-42.

Barazani O., von Dahl C.C., and Baldwin I.T. 2007. *Sebacina vermifera* promotes the growth and fitness of *Nicotiana attenuata* by inhibiting ethylene signaling. *Plant Physiology*, 144(2): 1223-1232.

Barceló J.U.A.N., and Poschenrieder, C. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *Journal of Plant Nutrition*, 13(1): 1-37.

Barin M. 2014. The role of soil microbes in green remediation of cadmium-contaminated soil by *Onopordon acanthium* L. *Applied Soil Research*, 2(1): 59-70. (In Persian)

Barrs H.D., and Weatherley P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15(3): 413-428.

Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205-207.

Baslam M., Garmendia I., and Goicoechea, N. 2013. The arbuscular mycorrhizal symbiosis can overcome reductions in yield and nutritional quality in greenhouse-lettuces cultivated at inappropriate growing seasons. *Scientia Horticulturae*, 164: 145-154.

Boscaiu M., Bautista I., Lidón A., Llinares J., Lull C., Donat P., Mayoral O., and Vicente O. 2013. Environmental-dependent proline accumulation in plants living on gypsum soils. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(7): 2193-2204.

Cariny T. 1995. The Reuse of Contaminated Land. *John Wiley and Sons Ltd. Publisher*, 219 p.

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

Chen Y.Y., Lou B.G., Gao Q.K., and Lin F.C. 2013. Preliminary study on mechanisms of drought resistance in *Brassica napus* L. conferred by *Piriformospora indica*. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 21(3): 272-281.

Cotteni A., 1980. Methods of plant analysis: 64-100. In: Westerman,R.L. (Ed.). Soil and Plant Testing, *FAO Soil Bulletin*.

Emami A. 1996. Plant Analysis Methods. No. 982. Vol. 1. Soil and Water Research Institute Publication, Tehran. (In persian).

Emamian Tabarestani M., Pirdashti H.A. Tajik Ghanbari M.H., Sadeghzadeh F. 2019. Quantification of the symbiosis of *Piriformospora indica* and *Trichoderma longibrachiatum* on some growth and physiological traits of canola under lead stress. *Journal of Crop Production*, 12: 139-156. (In persian).

Fattahi B., Arzani K., Souri M. K., and Barzegar, M. 2021. Morphophysiological and phytochemical responses to cadmium and lead stress in coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Industrial Crops and Products*, 171- 179.

Firmin S., Labidi S., Fontaine J., Laruelle F., Tisserant B., Nsanganwimana F., and Sahraoui A.L.H. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation protects *Miscanthus× giganteus* against trace element toxicity in a highly metal-contaminated site. *Science of the Total Environment*, 527: 91-99.

Ghanem G., Ewald A., Zerche S., and Hennig F. 2014. Effect of root colonization with *Piriformospora indica* and phosphate availability on the growth and reproductive biology of a *Cyclamen persicum* cultivar. *Scientia Horticulturae*, 172: 233-241.

Ghabooli M. 2014. Effect of *Piriformospora indica* inoculation on some physiological traits of barley (*Hordeum vulgare)* under salt stress. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(6): 1082-1087.

Gholinejad B., Khashij S., Ghorbani F., Bandak I. and Farajollahi A. 2020. Effects of lead ions on germination, initial growth, and physiological characteristics of *Lolium perenne* L. species and its bioaccumulation potential. *Environmental Science and Contamination Research*, 27(10): 11155-11163.

Giovannetti M., and Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500.

Hu M., Shi Z., Zhang Z., Zhang Y., and Li H. 2012. Effects of exogenous glucose on seed germination and antioxidant capacity in wheat seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 68(2): 177-188.

Hu Z., Xie Y., Jin G., Fu J., and Li H. 2015. Growth responses of two tall fescue cultivars to Pb stress and their metal accumulation characteristics. *Ecotoxicology*, 24(3): 563-572.

Huang B., Duncan R.R. and Carrow R.N. 1997. Drought-resistance mechanisms of seven warm-season turfgrasses under surface soil drying: II. Root aspects. *Crop Science*, 37(6): 1863-1869.

Hui F., Liu J., Gao Q., and Lou B. 2015. *Piriformospora indica* confers cadmium tolerance in *Nicotiana tabacum*. *Journal of Environmental Sciences*, 37: 184-191.

Hussain I., Iqbal M., Qurat-Ul-Ain S.O.B.I.A., Rasheed, R., Mahmood S., Perveen A., and Wahid, A. 2012. Cadmium dose and exposure-time dependent alterations in growth and physiology of maize (*Zea mays*). International Journal of Agriculture and Biology, 14(6): 959–964

Irigoyen J.J., Einerich D.W., and Sánchez-Díaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativd*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84(1): 55-60.

Kabata-Pendias A. 2000. Trace elements in soils and plants. CRC press.

Kadian N., Yadav K., Badda N., and Aggarwal A. 2013. AM fungi ameliorates growth, yield and nutrient uptake in *Cicer arietinum* L. under salt stress. *Russian Agricultural Sciences*, 39: 321-329.

Käfer E. 1977. Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. *Advances in Genetics*, 19: 33-131.

Kapoor R., and Bhatnagar A.K. 2007. Attenuation of cadmium toxicity in mycorrhizal celery (*Apium graveolens* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(8): 1083-1089.

Karimi A., Khodaverdiloo H., and Rasouli Sadaghiani M. 2017. Characterisation of growth and biochemical response of *Onopordum acanthium* L. under lead stress as affected by microbial inoculation. *Chemistry and Ecology*, 33(10): 963-976.

Karimi A., Khodaverdiloo H., and Rasouli-Sadaghiani M.H. 2018. Microbial-enhanced phytoremediation of lead contaminated calcareous soil by *Centaurea cyanus* L. *Clean–Soil, Air, Water*, 46(2): 1-18.

Karimi F., Sepehri M., Afuni M., and Hajabbasi M.A. 2015. Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on barley resistance to lead. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 19: 311- 320. (In Persian)

Kastori R., Petrović M., and Petrović N. 1992. Effect of excess lead, cadmium, copper, and zinc on water relations in sunflower. *Journal of Plant Nutrition*, 15(11): 2427-2439.

Kasotia A., Varma A., and Choudhary D.K. 2015. Pseudomonas-mediated mitigation of salt stress and growth promotion in *Glycine max*. *Agricultural Research*, 4(1): 31-41.

Kazemalilou S., and Rasouli-Sadaghiani M.H. 2012. Effect of soil cadmium contamination on some physiological parameters of *Hyoscyamus* plant in presence/absence of growth-promoting microorganisms. *Water and Soil Sciece*, 22: 4. 17-30. (In Persian)

Kazemalilou S., and Rasouli-Sadaghiani M.H., Khodaverdiloo H., and Barin M. 2013. Cadmium pollution and investigating its effect on the biological quality of the soil and the growth of the *Hyoscyamus* plant. *Applied Soil Research*, 1(1): 17-27. (In Persian)

Khademian R., Asghari B., Sedaghati B., and Yaghoubian Y. 2019. Plant beneficial rhizospheric microorganisms (PBRMs) mitigate deleterious effects of salinity in sesame (*Sesamum indicum* L.): Physio-biochemical properties, fatty acids composition and secondary metabolites content. *Industrial Crops and Products*, 136: 129-139.

Khan M., Rolly N.K., Al Azzawi T.N.I., Imran M., Mun B.G., Lee I.J., and Yun B.W. 2021. Lead (Pb)-induced oxidative stress alters the morphological and physio-biochemical properties of Rice (*Oryza sativa* L.). *Agronomy*, 11(3): 409.

Khan A.R., Ullah I., Waqas M., Park G.S., Khan A.L., Hong S.J., and Shin J.H. 2017. Host plant growth promotion and cadmium detoxification in *Solanum nigrum*, mediated by endophytic fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 136: 180-188.

Khodaverdiloo H., Ghorbani Dashtaki S., and Rezapour S. 2012. Lead and cadmium accumulation potential and toxicity threshold determined for land cress and spinach. *International Journal of Plant Production*, 5(3): 275-282.

Khodaverdiloo H., and Hamzenejad Taghlidabad R. 2014. Phytoavailability and potential transfer of Pb from a salt-affected soil to *Atriplex verucifera*, *Salicornia europaea* and *Chenopodium album*. *Chemistry and Ecology*, 30(3): 216-226.

Kibria M.G., Islam M., and Osman K.T. 2009. Effects of lead on growth and mineral nutrition of *Amaranthus gangeticus* L. and *Amaranthus oleracea* L. *Soil Environment*, 28(1): 1-6.

Li M.S., Luo Y.P., and Su Z.Y. 2007. Heavy metal concentrations in soils and plant accumulation in a restored manganese mineland in Guangxi, South China. *Environmental Contamination*, 147(1): 168-175.

Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350-382.

Limura K., Ito H., Chino M., Morshite T., and Herata H. 1997. Behaviour of contaminant heavy metal in soil-plant system. *Soil Biology and Biochemistry*. 31: 820–851.

Mansotra P., Sharma P., and Sharma S. 2015. Bioaugmentation of *Mesorhizobium cicer*, *Pseudomonas* spp. and *Piriformospora indica* for sustainable chickpea production. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21(3): 385-393.

Meers E., Qadir M., De Caritat P., Tack F.M.G., Du Laing G., and Zia M.H. 2009. EDTA-assisted Pb phytoextraction. *Chemosphere*, 74(10): 1279-1291.

Molazem D., Qurbanov E., and Dunyamaliyev S. 2010. Role of proline, Na and chlorophyll content in salt tolerance of corn (*Zea mays* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 9(3): 319-324.

Mulligan C.N., Yong R.N., and Gibbs B.F. 2001. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology*, 60(1-4): 193-207.

Mulvaney R.L. 1996. Nitrogen-inorganic forms. In: Sparks D.L., (Ed.). Methods of soil Analysis- Part 3. Chemical Methods- SSSA Book Series No. 5. *Soil Science Society of American and American Society of Agronomy*, Madison, 1123- 1184.

Nanda R., and Agrawal V. 2018. *Piriformospora indica*, an excellent system for heavy metal sequestration and amelioration of oxidative stress and DNA damage in *Cassia angustifolia* Vahl under copper stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156: 409-419.

Perner H., Schwarz D., Bruns C., Mäder P., and George E. 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization and two levels of compost supply on nutrient uptake and flowering of *Pelargonium* plants. *Mycorrhiza*. 17(5): 469-474.

Poschenrieder C., and Coll J.B. 2003. Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to Science*, 2: 333-344.

Prasad, M.N.V., and De Oliveira Freitas, H.M. 2003. Metal hyperaccumulation in plants—biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6(3): 110-146.

Qiang X., Weiss M., Kogel K.H., and Schäfer P. 2012. *Piriformospora indica*—a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Molecular Plant Pathology*, 13(5): 508-518.

Rosa M., Prado C., Podazza G., Interdonato R., González J.A., Hilal M., and Prado F.E. 2009. Soluble sugars: Metabolism, sensing and abiotic stress: A complex network in the life of plants. *Plant Signaling and Behavior*, 4(5): 388-393.

Sarma M.V.R.K., Kumar V., Saharan K., Srivastava, R., Sharma A.K., Prakash A., and Bisaria V.S. 2011. Application of inorganic carrier-based formulations of fluorescent pseudomonads and *Piriformospora indica* on tomato plants and evaluation of their efficacy. *Journal of Applied Microbiology*, 111(2): 456-466.

Sepehri M., and Khatibi B. 2021. Combination of siderophore-producing bacteria and *Piriformospora indica* provides an efficient approach to improve cadmium tolerance in alfalfa. *Microbial Ecology*, 81(3): 717-730.

Schäfer P., Pfiffi S., Voll L.M., Zajic D., Chandler P.M., Waller F., Scholz U., Pons-Kuhnemann J., Sonnewald S., Sonnewald U., and Kogel K.H. 2009. Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica*. *The Plant Journal*, 59(3): 461-474.

Shahabivand S., and Aliloo A.A. 2016. *Piriformospora indica* promotes growth and antioxidant activities of wheat plant under cadmium stress. *Yüzüncü Yil Üniversitesi Journal of Agricultural Sciences*, 26(3): 333-340.

Shahabivand S., Parvaneh A., and Aliloo A.A. 2017. Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145: 496-502.

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.

Sherameti, I., Venus, Y., Drzewiecki, C., Tripathi, S., Dan, V.M., Nitz, I. and Oelmüller, R. 2008. PYK10, a β-glucosidase located in the endoplasmatic reticulum, is crucial for the beneficial interaction between *Arabidopsis thaliana* and the endophytic fungus *Piriformospora indica*. *The Plant Journal*, 54(3): 428-439.

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

Singh O.V., Labana S., Pandey G., Budhiraja R., and Jain R.K. 2003. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61(5): 405-412.

Sirrenberg A., Göbel C., Grond S., Czempinski N., Ratzinger A., Karlovsky P., and Pawlowski K. 2007. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum*, 131(4): 581-589.

Vadassery J., Ritter C., Venus Y., Camehl I., Varma A., Shahollari B., and Oelmüller, R. 2008. The role of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between Arabidopsis and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(10): 1371-1383.

Varma A., Verma S., Sahay N., Bütehorn B., and Franken, P. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(6): 2741-2744.

Weryszko-Chmielewska E., and Chwil M. 2005. Lead-induced histological and ultrastructural changes in the leaves of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Soil Science and Plant Nutrition*, 51(2): 203-212.

Wu M., Wei Q., Xu L., Li H., Oelmüller R., and Zhang W. 2018. *Piriformospora indica* enhances phosphorus absorption by stimulating acid phosphatase activities and organic acid accumulation in *Brassica napus*. *Plant and Soil*, 432(1): 333-344.

Xiong Z.T., Zhao F., and Li M.J. 2006. Lead toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr.: effect on nitrate assimilation and growth. *Environmental Toxicology*, 21(2): 147-153.

Yang Y., Liang Y., Han X., Chiu T.Y., Ghosh A., Chen H., and Tang M. 2016. The roles of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in phytoremediation and tree-herb interactions in Pb contaminated soil. *Scientific Reports*, 6(1): 1-14.

Ye W., Shen C.H., Lin Y., Chen P.J., Xu X., Oelmüller R., and Lai Z. 2014. Growth promotion-related miRNAs in *Oncidium* orchid roots colonized by the endophytic fungus *Piriformospora indica*. *PLoS One*, 9(1): 84-92.

Zhou J., Zhang Z., Zhang Y., Wei Y., and Jiang, Z. 2018. Effects of lead stress on the growth, physiology, and cellular structure of privet seedlings. *PLoS One*, 13(3): e0191139.

Consequences of Endophytic Fungus *Piriformospora Indica* Inoculation on Phytoremediation of Lead by Tall Fescue (*Festuca Arundinacea* cv. Tomahawk)

Mahdieh Mirzaei Mashhood[1], Javad Rezapour Fard[*2], Mohsen Barin[3], Hadi Alipour[4], Zohre Jabbarzadeh[5]

(Received: February, 2022 Accepted: January, 2023)

Abstract

Microbial inoculation is effective in improving plant growth and tolerance to environmental stresses, and green refinement of contaminated soils with heavy metals. This study was carried out in order to evaluate the effect of *Piriformospora indica* inoculation on phytoremediation of lead by tall fescue (*Festuca arundinacea* cv. Tomahawk) at different levels of Pb contamination. It was performed in pot experiment as factorial based on randomized complete block design with three replications which the experimental factors included inoculation, and non-inoculation with *P. indica*, and Pb contamination (0, 500, and 800 mg kg^{-1} of soil). Pb contamination at levels of 500 and 800 mg kg^{-1} of soil caused a decrease of 31.46% and 43.98% of shoot dry weight, 31.2% and 44.32% of relative yield, 10.89%, and 15.74% of leaf relative water content, 47.8%, and 47.55% of chlorophyll a, 47.41%, and 50.22% of chlorophyll b, 5.22%, and 11.64% of root phosphorus content, 11.44%, and 14.47% leaf nitrogen content, and increase of 27.49% and 20.89% of leaf proline and 6.13% and 14.71% of leaf soluble sugars respectively. *P. indica* inoculation in compared with non- inoculation in Pb contamination at both 500 and 800 mg kg^{-1} of soil by increasing the accumulation of 26.34% and 18.67% Pb in roots as well as increasing the 64.13% and 59.83% root metal extraction caused an increase of 40.22% and 18.12% of root fresh and 51.22% and 50.59% dry weight, 44.32% and 40.72% of chlorophyll a and 16.98% and 33.95% of chlorophyll b content, 15.71% and 17.6% of root phosphorus concentration and 16.21% and 13.92% of shoot phosphorus concentration, respectively. It is inferred that microbial inoculation with *P. indica* increases the accumulation of Pb in the roots of *Festuca arundinacea* and it is suggested that *P. indica*-inoculated *Festuca arundinacea* cv. Tomahawk can be used as biologically useful approach in phytoremediation of Pb-contaminated soils.

Key words: Heavy metals, Transfer factor, Leaf relative water content, Compatible solutions

Mirzaei Mashhood M., Rezapour Fard J., Barin M., Alipour H. and Jabbarzadeh Z. 2024. Consequences of endophytic fungus *Piriformospora indica* inoculation on phytoremediation of lead by tall fescue (*Festuca arundinacea* cv. Tomahawk). *Applied Soil Research*, 11(4): 43-62.

1- Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciene, Faculty of Agriculture, Urmia University
2- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciene, Faculty of Agriculture, Urmia University, Corresponding Author
3- Associate Professor, Department of Soil Sciene, Faculty of Agriculture, Urmia University
4- Associate Professor, Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture, Urmia University
5- Associate Professor, Department of Horticultural Sciene, Faculty of Agriculture, Urmia University
* Corresponding Author Email: j.rezapourfard@urmia.ac.ir