فصلنامه علوم محیطی، دوره هفدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸

۱۷۵-۱۹۴

تأثیر و شناسایی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار مقاوم به سرب و روی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی گونه سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L.)

بهمن زمانی کبرآبادی [۱]، سید محمد حجتی[۱]، فرهاد رجالی[۲]، مسعود اسماعیلی شریف[۳]* و حمیدرضا رحمانی[۴]

[۱] گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[۲] بخش تحقیقات بیولوژی خاک، موسسه تحقیقات آب و خاک کشور، تهران، ایران

[۳] بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی اصفهان، ایران

[۴] بخش آب و خاک، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۳

زمانی کبرآبادی، ب.، س.م. حجتی، ف. رجالی، م. اسماعیلی شریف و ح. رحمانی. ۱۳۹۸. تأثیر و شناسایی قارچ های میکوریز آربسکولار مقاوم به سرب و روی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی گونه سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L.). فصلنامه علوم محیطی. ۱۷ (۱): ۱۹۴-۱۷۵.

سابقه و هدف: روش‌های فیزیکی و شیمیایی بسیاری برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزهای سنگین وجود دارد که بیشتر آن‌ها افزون بر هزینه زیاد منجر به تخریب ساختار فیزیکی و شیمیایی و فعالیت‌های حیاتی خاک می‌شوند. در سال‌های اخیر گیاه پالایی بعنوان روشی موثر، ارزان قیمت و دوستدار محیط زیست برای حذف، جابجایی و یا غیرفعال کردن آلاینده‌ها از خاک‌های آلوده توصیه شده است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش بمنظور بررسی تأثیر تلقیح قارچ‌های میکوریز مقاوم به سرب و روی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی (رویش قطری، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، وزن تر و خشک ریشه، افزایش ارتفاع و سطح برگ) گونه سنجد۱ انجام شد. نهال‌های یکساله گونه درختی سنجد با متوسط ارتفاع ۷۰-۵۰ سانتیمتر، کمترین قطر ۱/۵-۱ سانتیمتر و تعداد برگ حداقل تا ۳۰ عدد از نهالستان جبل عاملیان وابسته به اداره کل منابع طبیعی استان اصفهان تهیه شد. نهال‌های تهیه شده به گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منبع‌های طبیعی استان اصفهان منتقل و به مدت بیست روز برای سازگاری با شرایط جدید، در آنجا نگهداری شدند. بدین منظور شش تیمار قارچ میکوریز (*Glomus versiforme*، *G. etunicatum*، *G. intraradices*، *G. mossea*)، یک تیمار ترکیبی از گونه‌های نامبرده شده و شاهد تلقیح نشده) و پنج تیمار خاک (خاک آلوده طبیعی، خاک آلوده شده با سرب، خاک آلوده شده با روی، خاک آلوده شده با سرب و روی، خاک شاهد (بدون آلودگی) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث: نتایج این بررسی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف قارچ میکوریز وجود

* Corresponding Author. *E-mail Address*: masoudesmaeilisharif@gmail.com

دارد. بیشترین میزان کلنیزاسیون مربوط به تیما *G. mossea* به میزان ۴۰/۵٪ و کمترین میزان در تیمار شاهد ۲۵/۶٪ بود. همچنین قارچ میکوریزی *G. mossea*، رویش قطری، ارتفاع و شاخص سطح برگ را به ترتیب ۲/۸ میلیمتر، ۳۶/۱ سانتیمتر و ۲۸/۸ واحد نسبت به شاهد افزایش داد. همچنین در همه تیمارهای قارچ میکوریز، اختلاف معنی‌داری بین میانگین وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه ملاحظه شد. بیشترین وزن تر و خشک اندام هوایی در تیمار *G. mossea* به ترتیب ۱۰۸/۴ و ۵۵ گرم و کمترین میزان آن در شاهد به ترتیب ۵۹/۴ و ۳۰/۳ گرم بود. بیشترین و کمترین وزن تر به ترتیب ۹۵/۳ و ۷۸ گرم در تیمار شاهد و خاک آلوده به سرب و روی ملاحظه شد. بیشترین مقادیر همه متغیرهای بررسی شده در تیمارهای قارچ میکوریز مربوط به تیمار تلقیح شده با قارچ *G. mossea* و در تیمارهای خاک بررسی شده، مربوط به تیمار شاهد (خاک بدون آلودگی) می‌باشد. نتایج این بررسی نشان داد که تیمار تلقیح شده با قارچ *G. mossea* و تیمار خاک غیرآلوده موجب بیشترین رشد در گونه سنجد شد. با این وجود، بین میانگین متغیرهای وزن تر و خشک ریشه و شاخص سطح برگ در تیمارهای مختلف خاک اختلاف معنی‌داری ملاحظه نشد. ریشه‌ها بعنوان سطح‌های جذب کننده آب و مواد غذایی تأثیر بسیار زیادی در جذب آب و املاح گوناگون دارند و عامل‌های مختلف محیطی از طریق تأثیر بر ریشه بر رشد گیاه اثر می‌گذارند. تنش فلزهای سنگین از جمله عامل‌های محدود کننده رشد ریشه است و کاهش رشد ریشه فعالیت‌های رشدی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همچنین در گیاهانی که با قارچ میکوریز تلقیح شده بودند، میانگین همه متغیرهای اندازه‌گیری شده در مقایسه با گیاهان شاهد (بدون قارچ) بطور معنی داری بیشتر شد.

نتیجه‌گیری: بنابر نتایج حاصل، قارچ *G. mossea* در جذب آب و مواد غذایی بویژه فسفر و تجمع ماده خشک توسط گیاه بیشترین تأثیر را داشته و نسبت به دیگر قارچ‌های هم‌زیست، از بیشترین کارایی در تولید زیتوده اندام هوایی سنجد برخوردار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آربوسکولار، آلودگی خاک، زیست پالایی، سنجد، قارچ میکوریز،ویژگی‌های مورفولوژیکی.

مقدمه

خاک بعنوان جزئی از بیوسفر نقش مهمی در تولید غذا و پایداری محیط زیست دارد. امروزه آلودگی خاک با فلزهای سنگین بدلیل پایداری طولانی مدت فلزهای سنگین در خاک و دارا بودن پتانسیل تاثیرهای مضر بوم شناختی تبدیل به یک بحران محیط زیستی شده است (Bojarczuk and Kieliszewska-Rokicka, 2010). فلزهای سنگین عنصرهای فلزی با وزن مخصوص بیشتر از ۵ گرم بر سانتی متر مکعب هستند (Torresday *et al*., 2005). آلودگی اکوسیستم با فلزهای سنگین از طریق فرسایش طبیعی سنگ‌ها و فعالیت‌های بشر از قبیل احتراق سوخت های فسیلی، استخراج معادن، تصفیه سنگ‌های شامل فلز، دفع کنترل شده و نشده پساب‌ها، استفاده از کودهای شیمیایی، آفت کش‌هاء حشره کش‌ها و مواد رنگی صورت می‌گیرد (Gaur and Adholeya, 2004; Abdullahi *et al*., 2009). با توجه به نقش فلزهای سنگین در گیاه می‌توان آن‌ها را به دو دسته تقسیم کرد: ۱) عنصرهای ضروری (روی، مس، منگنز، آهن و نیکل) که برای فرآیندهای متابولیکی گیاه ضروری هستند و ۲) عنصرهای غیر ضروری (کادمیم، سرب، جیوه (Taiz and Zeiger, 1998; Sebastiani *et al*., 2004). فلزهای بالقوه سمی بر فراوانی، غنای گونه‌ای و تنوع گیاهی و میکروبی خاک‌ها اثر می‌گذارند. بطور کلی همه موجودات خاکزی بطور یکسان و یکنواخت از آلودگی فلزهای سنگین متأثر نمی‌شوند. از اثرهای اصلی فلزهای سرب و روی در گیاهان چوبی و علفی می‌توان به کاهش تولید کلروفیل و رشد گیاه، افزایش سوپراکساید دیسموتاز، کاهش سمیت نیکل و جوانه زنی بذر، افزایش نامنظم رشد گیاه و نسبت ATP به کلروفیل اشاره نمود (Lone *et al*., 2008; Jorge *et al*., 2005) فلزهای سنگین می‌توانند بعنوان عامل انتخابی قوی، در ظهور سویه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار متحمل یا مقاوم، نقش مهمی داشته باشند. از این رو، حضور اکوتیپ‌های مختلف قارچ میکوریز آربوسکولار در خاک‌هایی با آلودگی شدید به فلزهای سنگین امکان پذیر است. روش‌های فیزیکی و شیمیایی زیادی برای پالایش

خاک‌های آلوده به فلزهای سنگین وجود دارد که بیشتر آن‌ها افزون بر هزینه زیاد منجر به تخریب ساختار فیزیکی و شیمیایی و فعالیت‌های حیاتی خاک می‌شوند (Kramer, 2005). بنابراین بهتر است تا حد ممکن از روش‌های زیستی مناسب، طبیعی، مقرون به صرفه و در محل استفاده شود، در سال‌های اخیر گیاه پالایی بعنوان روشی موثر، ارزان قیمت و دوست‌دار محیط زیست برای حذف، جابجایی و یا غیرفعال کردن آلاینده‌ها از خاک‌های آلوده توصیه شده است (Susarla *et al*., 2002; Rafati *et al*., 2011). در واقع، گیاه پالایی، فناوری استفاده از گیاهان در پالایش بسترهای آلوده می‌باشد (Arriagada *et al*., 2005). عامل‌های متعددی در حفظ و پایداری گونه‌های درختی تاثیر می‌گذارند. افزون بر آب و عنصرهای غذایی موجود در خاک، حضور ریز موجودات مفید از جمله قارچ‌های میکوریزی نیز بعنوان عامل‌های تأثیرگذار بر بقای بوم‌نظام‌ها و همچنین گسترش گونه‌های گیاهی مطرح می‌باشند. یکی از راهکارهای پیشنهادی برای موفقیت در برنامه‌های احیایی، استفاده از روش‌های زیستی، از جمله تلقیح نهال‌ها با قارچ‌های میکوریز آربسکولار است (Caravaca *et al*., 2003). قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا از شناخته شده‌ترین انواع قارچ‌های میکوریز هستند که پراکنش وسیع‌تری داشته و با بیشتر گونه‌های گیاهی (بیش از ۸۰ درصد گونه‌های گیاهی) بویژه در منطقه‌های خشک و نیمه‌خشک همزیستی دارند (Sheng *et al*., 2008). در مورد اثرهای تغذیه‌ای و فیزیولوژیک قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر جوامع گیاهی و میکروبی اکوسیستم‌های کشاورزی و منبع‌های طبیعی، تحقیق‌های زیادی انجام شده، ولی در مورد اهمیت این قارچ‌ها در خاک‌های آلوده، مکانیسم‌های قارچی و نقش آن‌ها در تحمل‌پذیری این موجودات نسبت به فلزهای بالقوه سمی اطلاعات کمتری در دسترس است .

سنجد با نام علمی (*Elaeagnus angustifolia L.*) از مهمترین گونه‌های دارویی است که رویشگاه طبیعی وسیعی در اروپا و آسیا دارد. این گیاه در جنوب اروپا، باختر و شمال مرکزی آسیا تا هیمالیا بطور طبیعی می‌روید (Klich, 2000). گونه سنجد درختی نورپسند، خزان کننده، مقاوم به سرما، گرما و آلودگی هوا است. همچنین به مقادیر زیاد شوری خاک مقاوم بوده و توانایی زیادی در تثبیت نیتروژن دارد (Klich, 2000). ارتفاع این درخت تا ۱۴ متر نیز می‌رسد و در خاک‌های شنی تا رسی سنگین و مرطوب به خوبی رشد می‌کند (Daneshvar and Kiani, 2004). همچنین در کشور ما در منطقه‌های خشک و نیمه خشک به‌عنوان یک گیاه خودرو، بادشکن و در منظرسازی راه‌ها تکثیر یافته است. همچنین محلب دارای قابلیت سازگاری و انعطاف‌پذیری زیادی با شرایط مختلف محیطی می‌باشد (Hosseinzadeh *et al*., 2003). با وجود آنکه استفاده از قارچ‌های میکوریزی در مدیریت احیای منبع‌های طبیعی تخریب یافته بسیار دارای اهمیت است، تاکنون در کشور ما گام‌های موثری در این مورد برداشته نشده است. امروزه استفاده و کاربرد فنون پیشرفته همچون استفاده از میکروارگانیسم‌های همزیست با گیاه، می‌تواند سبب افزایش کارایی گیاه پالایی، کاهش مدت زمان لازم برای زودودن آلودگی و توسعه کاربرد آن شود(Khademi and Kord, 2010). تحقیق حاضر، از این جهت بسیار دارای اهمیت است که بتوان گونه‌های بومی میکوریزی را بعنوان یک ابزار بیوتکنولوژیکی موفق برای کمک به ترمیم اکوسیستم‌های تخریب یافته معرفی کرد. بنابراین هدف تحقیق حاضر، معرفی قارچ‌های میکوریز آربسکولار مقاوم به سرب و روی و تأثیر آن‌ها بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی گونه سنجد است.

مواد و روش‌ها

بمنظور اجرای پژوهش، نهال‌های یکساله و با مورفولوژی یکسان حاصل از بذر پایه‌ی مادری یکسان، هدف‌گذاری شد. سپس گونه درختی سنجد با متوسط ارتفاع ۷۰-۵۰ سانتیمتر، کمترین قطر ۱/۵-۱ سانتیمتر و

تعداد برگ حداقل تا ۳۰ عدد (سعی شد تمامی نهال‌های مورد استفاده دارای میانگین شرایط ارتفاع، قطر، شادابی، تعداد برگ و ... یکسان باشند)، از نهالستان جبل عاملیان وابسته به اداره کل منبع‌های طبیعی استان اصفهان انتخاب و تهیه شد. نهال‌های تهیه شده به گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منبع‌های طبیعی استان اصفهان منتقل و به مدت بیست روز برای سازگاری با شرایط جدید، در آنجا نگهداری شدند .

در این پژوهش، به جمع‌آوری خاک آلوده به عنصرهای سنگین سرب و روی و خاک غیرآلوده به عنصرهای سنگین در شرایط طبیعی نیاز بود. به همین منظور مقدار خاک آلوده مورد نیاز از معدن سرب و روی باما به میزان کافی برای گلدان‌ها از عمق صفر تا ۱۰ سانتی‌متر برداشت شد (Samani Majd *et al.*, 2007) و پس از خشک شدن با هوا و عبور از الک هشت میلی‌متری، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن بهمراه مقدار عنصرهای سنگین سرب و روی بر اساس روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد. همچنین جمع‌آوری خاک غیرآلوده به عنصرهای سنگین سرب و روی به میزان کافی برای گلدان‌ها از نهالستان جبل عاملیان وابسته به اداره کل منابع طبیعی استان اصفهان تهیه شد. روش آلوده کردن تیمارهای خاک نیز به این صورت بود که ابتدا ۸ کیلوگرم خاک برای هر تیمار توزین و سپس غلظت ۵۳۵ گرم برکیلوگرم سرب به صورت نمک نیترات سرب ۹۹ درصد ($Pb(NO_3)_2$ (Merck)) وغلظت ۲۲۰ گرم بر کیلوگرم روی به صورت کلرید روی ($Zncl_2$(Merck)) به ازای هر کیلوگرم خاک محاسبه و با خاک مخلوط و در گلدان ریخته شد. تفاوت در نیترات تیمارهای آلوده و شاهد از طریق کود اوره محاسبه و اعمال شد. لازم به بیان است میزان ایجاد آلودگی به سرب و روی در خاک غیرآلوده برابر با میزان سرب و روی در خاک آلوده (معدن) می‌باشد .

در این مرحله نهال‌های سنجد در گلدان‌ها همراه با شش تیمار از قارچ میکوریز آربسکولار غیربومی از نوع اندومیکوریزا که بطور معمول با گونه‌های پهن‌برگ چوبی همزیستی خوبی برقرار می‌کنند، کشت شدند. بمنظور اعمال تیمار قارچ میکوریزی آربسکولار، مقدار ۵۰ تا ۶۰ گرم زادمایه در اطراف ریشه‌های نهال پخش و روی آن‌ها با خاک پوشانده شد. کشت گلخانه‌ای در این مرحله به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور، در سه تکرار، با ۹۰ گلدان اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل (۱) قارچ غیربومی میکوریز آربسکولار در شش سطح (حاوی چهار گونه قارچ میکوریز آربسکولار *Glomus versiforme*، *G. etunicatum* *G. intraradices*، *G. mossea* یک تیمار ترکیبی از گونه‌های گفته شده و شاهد تلقیح نشده) (۲) نوع خاک با پنج سطح (خاک آلوده طبیعی، خاک آلوده شده با سرب، خاک آلوده شده با روی، خاک آلوده شده با سرب و روی، خاک شاهد (بدون آلودگی) بود. غلظت فلزهای سرب و روی در تیمارهای مختلف خاک مطابق جدول ۱ است. لازم به بیان است خاک آلوده به شکل مصنوعی، هنگام اضافه کردن فلزهای سنگین، به غلظت سرب و روی خاک معدن (۲۲۰روی و ۵۳۵ سرب گرم بر کیلوگرم) رسیده‌اند.

جدول ۱- غلظت فلزهای سرب و روی در تیمارهای مختلف خاک

Table 1. Concentration of lead and zinc metals in different soil treatments

سرب Lead ($mg.kg^{-1}$)	روی Zink ($mg.kg^{-1}$)	متغیر Variable
535	220	خاک آلوده (معدن) Contaminated soil (mine)
64	53	خاک غیرآلوده Unpolluted soil
220	53	خاک غیرآلوده+روی Unpolluted soil + zinc
53	535	خاک غیرآلوده+سرب Unpolluted soil + lead
535	220	خاک غیرآلوده+ سرب وروی Unpolluted soil + lead and zinc

بعد از کشت و تلقیح قارچ با ریشه نهال‌ها، در شرایط گلخانه‌ای در مرکز تحقیقات منبع‌های طبیعی استان اصفهان که با نور طبیعی نیاز گیاهان را تامین می‌کند، نهال‌ها به مدت سه ماه نگهداری شدند. در پایان دوره رویش قطری، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام زیرزمینی، افزایش ارتفاع و سطح برگ نهال‌ها اندازه‌گیری شد. بمنظور مقایسه متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف قارچ و تیمارهای مختلف خاک از آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین متغیرهای اندازه‌گیری شده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan Compare Means Test) استفاده شد. بمنظور بررسی میزان تأثیر همزمان تیمارهای قارچ و خاک بر روی متغیرهای اندازه‌گیری شده نیز از آزمون تجزیه واریانس تک متغیره (Univariate) استفاده شد.

نتایج و بحث

در جدول ۲ برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی (شامل عمق، قابلیت هدایت الکتریکی، اسیدیته، ازت کل، کربن آلی، فسفر، پتاسیم، مس، روی، منگنز، آهن، شن، سیلت، رس و بافت) خاک آلوده (معدن) و خاک غیرآلوده آزمایش نشان داده شده است.

نتایج آزمون تجزیه واریانس متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف قارچ میکوریز در جدول ۳ بیان شده است. همان طور که نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین همه متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف وجود دارد.

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آلوده (معدن) و خاک غیرآلوده آزمایش

Table 2. Physical and chemical properties of contaminated soil (mine) and non-contaminated soil

متغیر Variable	خاک آلوده Contaminated soil	خاک غیرآلوده Unpolluted soil	متغیر Variable	خاک آلوده Contaminated soil	خاک غیرآلوده Unpolluted soil
عمق Depth (cm)	10-20	10-20	روی قابل جذب Absorbable zinc ($mg.kg^{-1}$)	7.2	5.5
قابلیت هدایت الکتریکی Electrical conductivity	1.6	1.5	منگنز قابل جذب Absorbable manganese ($mg.kg^{-1}$)	2.52	3.88
اسیدیته pH	7.62	7.72	آهن قابل جذب Absorbable iron ($mg.kg^{-1}$)	0.9	1.1
ازت کل (٪) N total	0.03	0.16	شن (٪) Sand	54	50
کربن آلی (%) Organic carbon	0.27	1.6	سیلت (٪) Silt	26	30
فسفرقابل جذب Absorbable phosphorus($mg.kg^{-1}$)	8.22	182.5	رس (٪) Clay	20	20
پتاسیم قابل جذب Absorbable potassium ($mg.kg^{-1}$)	350	457	بافت (٪) Texture	لوم رسی شنی Lumens Clay Sandy	لوم Lumens
مس قابل جذب Available copper ($mg.kg^{-1}$)	2.44	1.8			

نتایج مقایسه میانگین متغیرهای اندازه‌گیری شده بین تیمارهای مختلف قارچ میکوریز در جدول ۴ نشان داده شده است. از نظر میزان کلنیزاسیون، اختلاف معنی‌داری در تیمار شاهد با سه تیمار *G. intraradices*، *G. mossea* و سویه ترکیبی وجود دارد. همچنین نتایج نشان داد که بین میانگین متغیر سطح برگ اختلاف معنی‌داری در همه تیمارهای بررسی شده قارچ میکوریز وجود دارد. بین میانگین متغیر رویش قطری در سه تیمار شاهد (بدون قارچ) *G. etunicatum* و *G. versiforme* اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ولی بین این تیمارها با سه تیمار *G. intraradices*، *G. mossea* و سویه ترکیبی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. نتایج افزایش ارتفاع نیز نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای شاهد (بدون قارچ) و *G. etunicatum* با دیگر تیمارها وجود دارد. بیشترین میزان کلنیزاسیون مربوط به تیمار G. Mossea به میزان ۴۰/۵٪ و کمترین مقدار در تیمار شاهد ۲۵٪/۶ بود. همچنین قارچ میکوریزی *G. Mossea*، رویش قطری، ارتفاع و شاخص سطح برگ را به ترتیب ۲/۸ میلیمتر، ۳۶/۱ سانتیمتر و ۲۸/۸ واحد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۴).

جدول ۳- تجزیه واریانس متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف قارچ میکوریز

Table 3. The analysis of variance of variables measured in different treatments of mycorrhiza fungi

F	میانگین مربعات Mean square	متغیر Variable
38.68	580.28**	کلنیزاسیون Colonization
35.92	22.59**	رویش قطری Diameter growth
108.29	4808.08**	وزن تر اندام هوایی Fresh body weight
108.44	1234.95**	وزن خشک اندام هوایی Dry body weight
177.4	1948.7**	وزن تر اندام ریشه The fresh weight of the root organ
157.61	448.94**	وزن خشک ریشه The Dry weight of the root organ
51.99	3170.33**	افزایش ارتفاع Increase altitude
192.38	1616.90**	سطح برگ Leaf area

جدول ۴- مقایسه میانگین متغیرهای اندازه‌گیری شده بین تیمارهای مختلف قارچ میکوریز

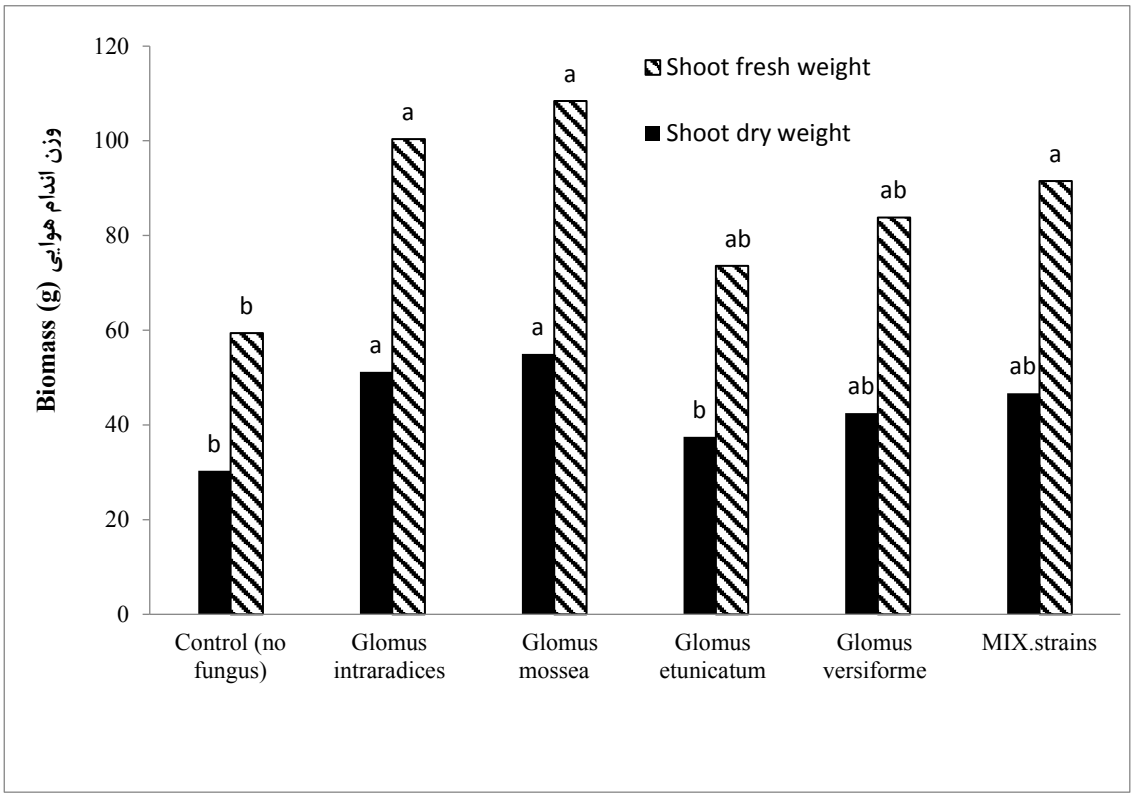
Table 4. Mean of the measured variables among different treatments of mycorrhiza fungi

متغیرهای اندازه‌گیری شده Measured variables				تیمارهای مختلف قارچ میکوریز Different treatments of mycorrhizal fungus
سطح برگ Leaf area	افزایش ارتفاع Increase altitude	رویش قطری Diameter growth	کلنیزاسیون Colonization	
10.8±0.43 a	40.4±2.40 b	0.39±0.08 b	25.6±0.85 b	شاهد Control
31.0±1.80 a	64.2±2.14 ab	2.6±0.21 a	38.1±0.92 a	*G. intraradices*
38.6±0.72 a	76.5±0.2 a	3.2±0.02 a	40.5±1.4 a	*G. mossea*
15.2±0.40 a	39.7±1.83 b	0.57±0.25 b	0.27±1.06 b	*G. etunicatum*
18.3±0.52 a	52.2±2.4 b	0.60±0.22 b	28.2±0.79 b	*G. versiforme*
22.4±1.01 a	62.9±1.55 ab	1.89±0.20 ab	34.2±0.73 ab	سویه ترکیبی Combination strain

* . مقادیر دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون آماری دانکن هستند.

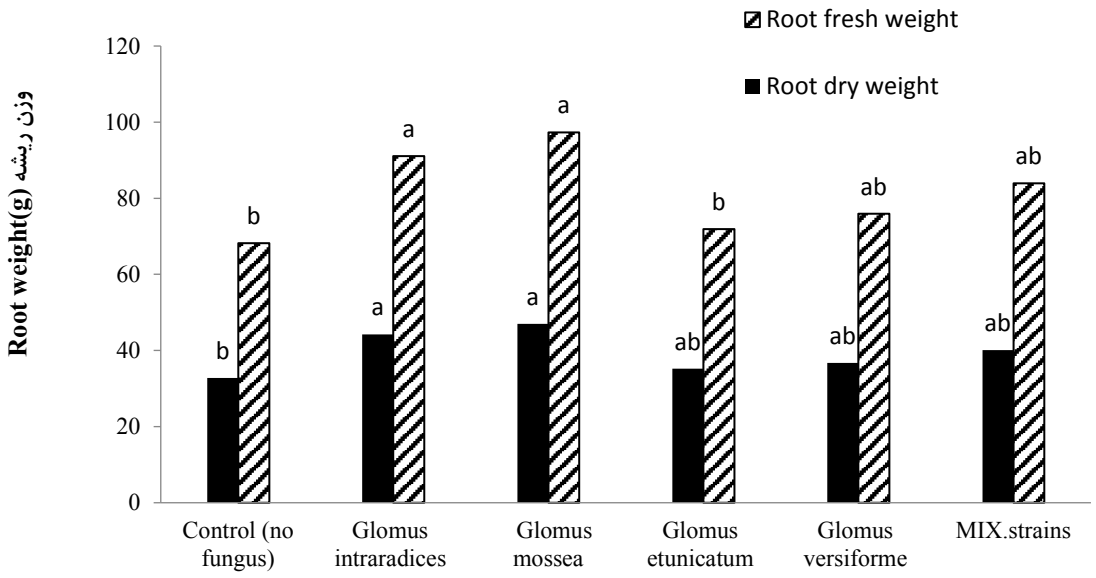
*Values in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

نتایج مقایسه میانگین متغیرهای اندازه‌گیری شده نشان داد که بین میانگین متغیرهای وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه اختلاف معنی‌داری در همه تیمارهای بررسی شده قارچ میکوریز وجود دارد (شکل‌های ۱ و۲). بیشترین وزن تر و خشک اندام هوایی نیز در تیمار *G. mossea* به ترتیب ۱۰۸/۴ و ۵۵ گرم و کمترین میزان آن در شاهد به ترتیب ۵۹/۴ و ۳۰/۳ گرم بود.



شکل ۱- مقایسه میانگین وزن تر و خشک اندام هوایی تحت تأثیر تیمارهای مختلف قارچ میکوریز

Fig. 1- Mean Comparison of fresh and dry weight of shoots affected by different treatments of mycorrhiza fungi



شکل ۲- مقایسه میانگین وزن تر و خشک ریشه تحت تأثیر تیمارهای مختلف قارچ میکوریز

Fig. 2- Comparison of of fresh and dry weight of roots affected by different treatments of mycorrhiza fungi

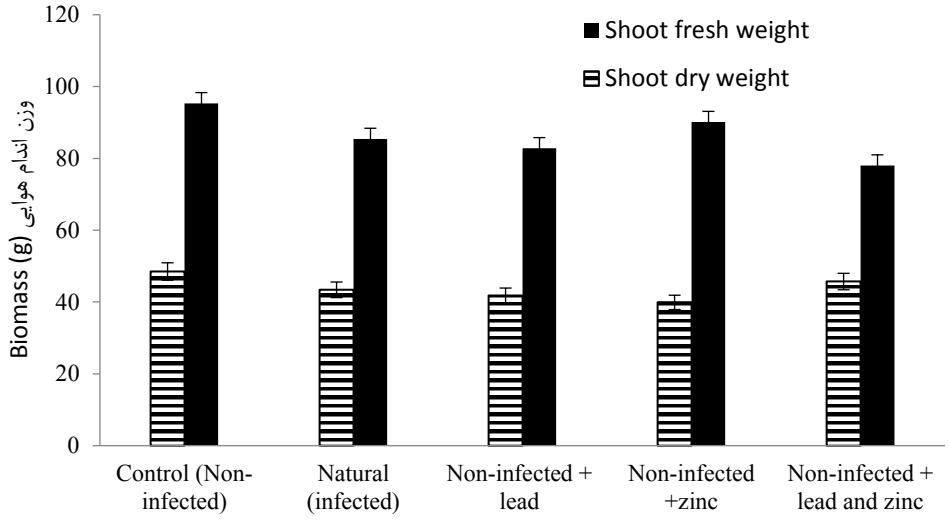
نتایج آزمون تجزیه واریانس متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف خاک نشان داد اختلاف معنی‌داری بین متغیرهای کلنیزاسیون، رویش قطری، وزن تر و خشک اندام هوایی و ارتفاع وجود دارد. در حالی که بین میانگین متغیرهای وزن تر و خشک ریشه و سطح برگ در تیمارهای مختلف خاک اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. نتایج آزمون تجزیه واریانس متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف خاک بررسی شده در جدول ۵ نمایش داده شده است.

جدول ۵- نتایج آزمون تجزیه واریانس متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف خاک
Table 5. Analysis of variance of variables measured in different soil treatments

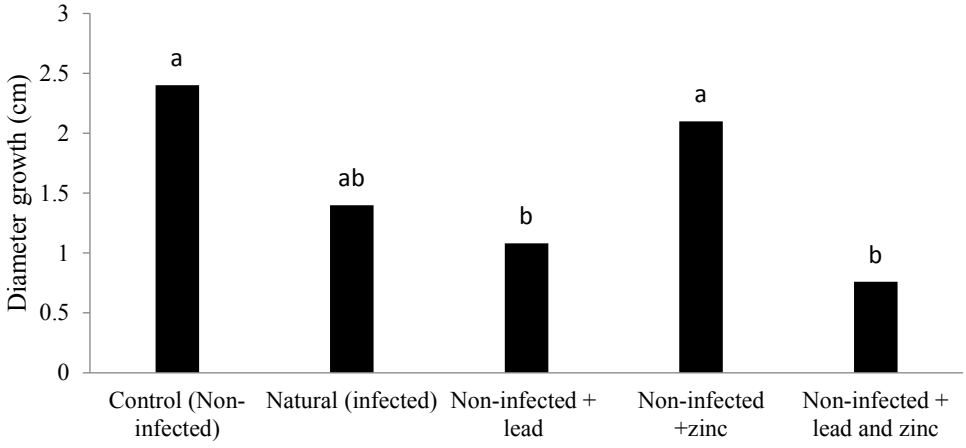
F	میانگین مربعات Mean square	متغیر Variable
8.001	284.56**	کلنیزاسیون Colonization
5.69	8.76**	رویش قطری Diameter growth
2.85	822.14**	وزن تر اندام هوایی Fresh body weight
2.72	202.66**	وزن خشک اندام هوایی Dry body weight
1.85	213.81 ns	وزن تر اندام ریشه The fresh weight of the root organ
1.86	50.00 ns	وزن خشک ریشه The dry weight of the root organ
6.46	1222.55**	افزایش ارتفاع Increase altitude
1.45	140.45	سطح برگ Leaf area

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، ns عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

**Significant difference at the level of 0.01, ns there is no significant difference in the level of 0.05.



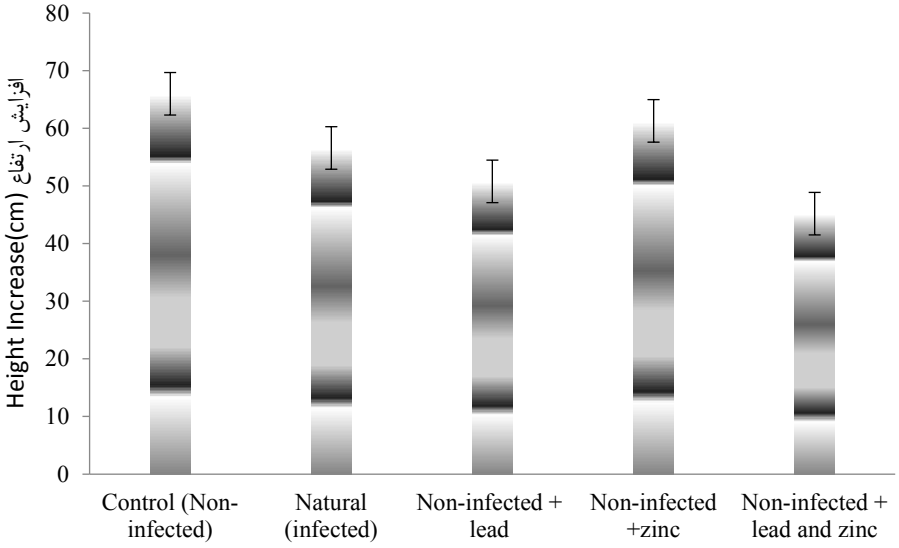
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خاک بر وزن تر و خشک اندام هوایی
Fig. 3- Comparison of the effect of different treatments on fresh and dry shoot weight



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خاک بر رویش قطری
Fig. 4- Comparison of the effect of different soil treatments on diameter growth

براساس وزن تر و خشک اندام هوایی، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای خاک ملاحظه نشد (شکل ۳). با این وجود بیشترین و کمترین وزن تر به ترتیب ۹۵/۳ و ۷۸ گرم در تیمار شاهد و خاک آلوده به سرب و روی ملاحظه شد (شکل ۳).

اختلاف معنی‌داری بین میانگین متغیر رویش قطری در سه تیمار خاک آلوده طبیعی، خاک آلوده شده با سرب و خاک آلوده شده با سرب و روی وجود ندارد. در حالی که بین میانگین رویش قطری در تیمار شاهد با تیمار خاک آلوده شده با سرب و خاک آلوده شده با سرب و روی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیشترین و کمترین رویش قطری به ترتیب ۲/۴ و ۰/۷۶ سانتیمتر در تیمار شاهد و خاک آلوده به سرب و روی ملاحظه شد (شکل ۴). همچنین از نظر میانگین افزایش ارتفاع بین تیمارهای مختلف خاک، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خاک بر افزایش ارتفاع
Fig. 5- Comparison of the effect of different soil treatments on height growth

جدول ۶- نتایج آزمون تجزیه واریانس متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمارهای قارچ میکوریز و خاک
Table 6. Analysis of variance of the measured variables in mycorrhiza fungi and soil treatments

منبع‌های تغییر SO.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square							
		کلنیزاسیون Colonization	رویش قطری Diameter growth	وزن تر اندام هوایی Fresh shoot weight	وزن خشک اندام هوایی Dry shoot weight	وزن تر ریشه Fresh root weight	وزن خشک ریشه Dry root weight	افزایش ارتفاع Height growth	سطح برگ Leaf area
قارچ Fungi	5	580.2*	22.5*	4808*	1235*	1949*	449*	3170*	1617*
خاک Soil	4	284.5*	8.7*	822*	203*	214*	50*	1223*	140*
قارچ × خاک Soil× Fungi	20	5.5*	0.38*	18.3*	6.1*	1.6*	0.38ns	8.5*	5.3*
خطا Error	60	0.17	0.16	1.2	0.38	0.58	0.52	1.01	0.62

نتایج آزمون تجزیه واریانس تک متغیره نشان داد که تأثیر همزمان تیمارهای مختلف قارچ و خاک بر متغیرهای کلنیزاسیون، رویش قطری، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه، افزایش ارتفاع و سطح برگ معنی‌دار بوده است (جدول ۶).

ریشه‌ها بعنوان سطح‌های جذب کننده آب و مواد غذایی تأثیر بسیار زیادی در جذب آب و املاح گوناگون دارند و عامل‌های مختلف محیطی از طریق تأثیر بر ریشه بر رشد گیاه اثر می‌گذارند. تنش فلزهای سنگین از جمله عامل‌های محدود کننده رشد ریشه است و کاهش رشد ریشه فعالیت‌های رشدی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نبود توسعه و گسترش مناسب سیستم ریشه‌ای سبب کاهش سطح¬های جذب کننده مواد غذایی، تغییر در ساختار غشا سلولی و کاهش جذب و محتوی آب می‌شود که این امر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تعرق، تنفس و فتوسنتز اثر گذاشته و در نهایت موجب کاهش رشد در دیگر قسمت‌های گیاه و از جمله کاهش زیتوده و سطح برگ می‌شود (Sharma and Dubey, 2005). نتایج این پژوهش نشان داد که در گیاهانی که با قارچ میکوریز تلقیح شده بودند، میانگین همه متغیرهای اندازه‌گیری شده در مقایسه با گیاهان شاهد (بدون قارچ) بطور معنی داری بیشتر بود و افزایش متغیرهای اندازه¬گیری شده در مورد گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *G. mossea* و *G. intraradices* و سویه ترکیبی در مواردی حتی بیش از یک‌ونیم برابر گیاهان غیرتیمار بود (شکل-های ۱ و ۲). نتایج بررسی میزان کلنیزاسیون نشان داد که بیشترین میزان کلونی زایی در اثر تیمار *G. mossea* ایجاد شد (شکل ۳). ایجاد کلونی زایی افزون بر نوع گیاه و سیستم ریشه‌ای به غلظت فسفر خاک نیز بستگی دارد. سطوح بسیار بالا و پایین فسفر خاک ممکن است سبب کاهش آلودگی و کلونی زایی میکوریزایی شود (Ledig *et al*., 1976). سطوح بیش از مورد نیاز فسفر خاک برای رشد گیاه سبب حذف آربسکول‌های میکوریزایی VAM شد. آربسکول‌ها، ساختارهایی هستند که در داخل سلول گیاه میزبان بوسیله قارچ های میکوریزا VAM تولید می‌شوند. این اندام مسئول انتقال عنصرهای غذایی جذب شده از قارچ به گیاه هستند (Abbott and Robson, 1979). تحقیق زیادی همبستگی بین فسفر قابل جذب را با درصد کلنیزاسیون نشان داده‌اند و تا حدودی ثابت شده است که همبستگی مثبت یا منفی بین این دو مولفه وجود

دارد(Bouamri *et al*., 2004). Reval *et al*. (1999) با تحقیق‌های خود نشان دادند که کلنیزاسیون قارچ‌های میکوریزی آربسکولار همبستگی منفی با فسفرکل و فسفر قابل جذب خاک دارند. نتایج دیگر محققان نیز نشان می‌دهد که هم زیستی و آلودگی میکوریزایی ریشه‌ها در سطوح بالاتر از این مقدار کاهش یافته و تلقیح گیاهان در این شرایط کمکی به گیاه نمی‌کند (Swift, 2004). برخی محققان نیز کاهش کلنیزاسیون ریشه را یک مکانیسم برای محدود کردن جذب اضافی برخی از فلزهای سنگین از طریق هیفهای قارچی و یا بدلیل اثرهای متقابل قارچ و گیاه در سطوح بالای فلز سنگین عنوان کرده‌اند (Oudeh et al., 2002). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان متغیر وزن اندام هوایی مربوط به تیمار تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* بوده، که این موضوع بیانگر این است که است که *G. mosseae* در جذب آب و مواد غذایی بویژه فسفر به گیاه کمک بیشتری کرده و سبب تجمع ماده خشک بیشتری شده است و از کارایی بیشتری در تولید زیتوده اندام هوایی سنجد برخوردار است. همچنین بیشترین وزن اندام هوایی مربوط به تیمار *G. mosseae* بود که ممکن است ناشی از سیستم ریشه‌ای گسترده تر و جذب میزان بالای فسفر و آهن به اندام هوایی و بهبود رشد گیاه و در نتیجه افزایش وزن خشک اندام هوایی باشد. افزون براین، بیشترین میزان متغیر وزن ریشه مربوط به تیمار تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* بوده (شکل ۲) که می‌تواند ناشی از تأثیر *G. mosseae* بر رشد بیشتر ریشه‌های فرعی و جانبی باشد که این امر شاید بدلیل افزایش نسبت ریشه‌های ریز و میسلیوم‌های میکوریزی توسط *G. mosseae* باشد، که سبب تحریک رشد ریشه‌های جانبی و فرعی می‌گردد (Glick *et al*., 1998). همچنین قارچ‌های میکوریز آربسکولار با تولید آنزیم، تنش در ریشه گیاهان را کاهش می‌دهند و به این ترتیب بر رشد و توسعه ریشه گیاه کمک می‌کنند که توانایی قارچ *G. mosseae* در کاهش تنش بیشتر بوده است. برخی از محققان نیز بیان کردند گیاهانی که هم‌زیستی بیشتری با قارچ‌های میکوریز دارند، در جذب عنصرهای غذایی از خاک تواناتر بوده و از رشد بهتری برخوردار بودند (Camargo-Ricalde *et al*., 2010)؛ زیرا قارچ‌ها می‌توانند از فواصل دور، آب و مواد غذایی را در دسترس گیاه میزبان قرار دهند (Allen *et al*., 2003). Vivas *et al*. (2003) نیز نشان دادند که گیاهان کلنیزه شده با *G. mossea* بومی منطقه‌های آلوده در افزایش رشد ریشه و اندام هوایی و جذب عناصر غذایی در مقایسه با سویه غیربومی *G. mossea* مؤثرتر می‌باشد. همچنین Mirzaei (2016) نشان داد که میانگین متغیرهای وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و رویش قطری در نهال‌های کنار (*Ziziphus spina-christi* L.) تلقیح شده با قارچ‌های میکوریز *G. mossea* و *G. fasciculatum* بیشتر از نهال‌های غیرمیکوریزی بود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین نتایج مطالعه‌ای بر روی گیاه نشان داد که وزن خشک اندام هوایی، ریشه و کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با *G. mossea* نسبت به گیاهان غیر میکوریزی بیشتر است (Tasang and Maum, 1999).

اثر تیمارهای خاک بر متغیرهای اندازه‌گیری شده نشان داد که بین میانگین متغیر وزن تر و خشک اندام هوایی در تیمار شاهد با تیمارهای خاک آلوده شده با سرب و خاک آلوده شده با سرب و روی اختلاف معنی‌داری وجود دارد (شکل ۵). بطور کلی نتایج نشان داد که میانگین همه متغیرهای اندازه‌گیری شده در تیمار شاهد (خاک غیرآلوده) بیشتر از تیمارهای خاک آلوده شده با عنصرهای سنگین سرب و روی بود. از دلیل‌های افزایش فراوانی قارچ میکوریز آربسکولار و شرایط بهتر گیاه در خاک آلوده معدن نسبت به خاک غیرآلوده که سرب و روی به آن اضافه شده است می‌توان به (۱) وجود قارچ‌های میکوریز آربسکولار بومی در خاک آلوده که نسبت به شرایط آلوده مقاومت بیشتری دارند، (۲) کمبود

عنصر فسفر در خاک آلوده که خود می‌تواند دلیلی بر افزایش درصد کلونیزاسیون قارچ باشد و (۳) همچنین اثر متقابل عناصر و فلزهای سنگین نسبت به هم که می‌تواند در خاک آلوده معدن این اثر متقابل شدیدتر باشد، اشاره کرد (Van *et al*., 1998). گزارش کرد که اکوتیپ‌های قارچ‌های میکوریز آربسکولار منشأ گرفته از خاک‌های آلوده به فلزهای سنگین نسبت به سویه‌های قارچی بومی خاک‌های غیر آلوده، تحمل پذیری و مقاومت بیشتری نسبت به آلودگی فلزهای سنگین دارند. . بر اساس گزارش (Tinker and Ney, 2000) افزایش غلظت فسفر سبب کاهش فعالیت قارچ و مقدار کلینیزاسیون می‌شود. (Weissenhorn *et al*., 1995) جذب فلزهای سنگین بوسیله گیاه ذرت میکوریزی را در خاک‌های آلوده به کادمیوم، روی، سرب، مس و منگنز مطالعه کردند، ولی بدلیل اینکه فلزها با یکدیگر برهمکنش دارند، نتایج آن‌ها بطور دقیق نقش قارچ‌های میکوریز آربسکولار را بر جذب هر یک از فلزها، مشخص نکرده است. Karimi *et al*. (2013)نیز نشان دادند مسمومیت با سرب در درجه اول بازدارنده رشد ریشه است و کاهش توسعه سیستم ریشه‌ای به محدود شدن رشد بخش هوایی هم منتهی می‌شود. کاهش رشد ریشه و بخش هوایی تحت تنش عنصرهای سنگین سرب و روی می‌تواند بدلیل تجمع زیاد این عنصرها در ریشه، لیگنینی شدن دیواره تحت تأثیر فلز سنگین (Almeida *et al*., 2007) ، تأثیر مستقیم فلز سنگین بر هسته سلولی (Dauda *et al*., 2009) و برهم کنش فلزات سنگین با گروه‌های سولفیدریل غشا سلول‌ها و غیرفعال کردن آن‌ها (Khudsar *et al*., 2000) باشد.

Zarei *et al*. (2008) در بررسی تنوع قارچ‌های میکوریز آربسکولار در خاک‌های آلوده به سرب و روی ده گونه قارچ را شناسایی کردند که جنس *Glomus* در خاک‌های آلوده غالب بود. گونه *G. mossea* در خاک‌های با آلودگی زیاد، با بالاترین تراکم و در خاک‌های با آلودگی متوسط و کم روی‌و سرب، *G. mossea*، *G. intraradices* و *G. versiforme* نسبت به دیگر گونه‌های‌قارچ‌میکوریز آربسکولار فراوانی بیشتری داشته‌اند.

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی(Lingua *et al*., 2008) بر روی تاثیر غلظت‌های بالای فلز روی بر میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه کلنهای *P. alba* و *P. nigra* نشان داد که در کلن *P. alba* فلز روی به کاهش کلنیزاسیون ریشه با قارچ‌های میکوریز *G. intraradices* و *G. mosseae* منجر شد. ولی در کلن *P. nigra* فلز روی تأثیر معنی داری بر سطح کلنیزاسیون میکوریزی ریشه گیاهان نداشت و میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه بیشتر از کلن *P. alba* بود.

از طرفی فلزهای سنگین با اثر منفی در رشد ریشه سبب محدودیت در جذب آب و مواد مغذی در گیاه می‌شود. در نتیجه رشد ساقه کاهش می‌یابد (Benyas *et al*., 2013). بنابراین کاهش رشد گیاه در طول تنش با فلزهای سنگین منجر به کاهش پتانسیل آبی، جلوگیری از جذب نیترات‌ها و تنش اکسیداتیو می‌گردد (Minakshi *et al*., 2012). فلز سرب و روی سبب کاهش وزن تر و خشک بخش‌های مختلف گیاه می‌شوند. چون بیشترین تاثیر فلزهای سنگین در رشد ریشه در مقایسه با رشد ساقه ملاحظه می‌گردد و این امر منجر به کاهش بیشتر در رشد گیاه و وزن تر آن‌ها می‌شود (Minakshi *et al*., 2012). از طرفی کاهش وزن گیاه بعنوان اولین پاسخ فیزیولوژیکی به عامل‌های تنش زا محیط رشد در قالب کاهش ماده‌سازی است که این موضوع در حضور سرب چشمگیر است. پس فلزهای سنگین مانع از رشد ریشه گیاه شده و سبب تغییرپذیری‌هایی در همانند سازی مواد و کاهش ماده خشک در گیاه می‌شود (Benyas *et al*., 2013). نتایج کلی به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که فلزهای سنگین تاثیر معنی داری بر رشد طولی، قطری و وزن خشک ریشه و اندام هوایی داشتند، این یافته با

نتایج بسیاری از تحقیق‌های انجام گرفته در رابطه با اثر سرب و روی بر گونه‌های گیاهی همخوانی دارد (Parida *et al*., 2003; Piotrowska *et al*., 2010).

Wang *et al*. (2007) بیان کردند وزن خشک اندام هوایی در گیاه با افزایش غلظت روی کاهش پیدا می‌کند، وزن خشک اندام هوایی در گیاهان میکوریزی در مقایسه با تیمار غیر میکوریزی در غلظت بالای روی (۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم روی در کیلوگرم) بطور قابل ملاحظه‌ای بیشتر بود. Zarei *et al*. (2011) بیان‌کردند تیمارهای مایه زنی نشده با قارچ‌های میکوریزی، در همه سطح‌های روی کمترین مقدار وزن خشک اندام هوایی و ریشه را نسبت به تیمارهای مایه زنی شده داشته‌اند ولی در هر یک از سطوح روی بین گونه‌های قارچ میکوریزی از نظر تاثیر بر زیست توده گیاه، اختلاف معنی داری وجود نداشت. Davood *et al*. (2009) گزارش کردند کاهش رشد اندام هوایی نمونه‌های گیاهی تحت تیمار ممکن است نتیجه کاهش فتوسنتز در شرایط آلودگی فلزهای سنگین باشد. کاهش سطح برگ گیاه با افزایش غلظت سرب و روی نیز بدلیل کاهش نفوذپذیری و افزایش دما در گیاه تحت تاثیر فلزهای سرب و روی است که، منجر به کاهش سطح برگ در گیاه می‌شود (Benyas *et al*., 2013). کاهش سطح برگ در غلظت‌های بالای فلزهای سنگین ممکن است منجر به کاهش فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها، تثبیت دی اکسیدکربن، کاهش محتوای کلروفیل و همچنین ممانعت از فعالیت فتوسنتز در گیاهان مختلف شود (Vijayaragava *et al*., 2011). تلقیح گونه قارچ *G. mossea* با گیاه *Atractylodes lancea* نشان داد که سطح برگی گیاهان تیمار شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد به طور معنی داری افزایش می‌یابد (Guo *et al*., 2006). هم‌زیستی میکوریزایی بر بسیاری از جنبه‌های بیولوژیک سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان تاثیر می‌گذارد. بطور کلی گونه‌هایی که توانایی بیشتری در افزایش سطح جذب ریشه دارند، قادر به ایجاد هم‌زیستی با میزبان و جذب آب، مواد غذایی، افزایش فتوسنتز و رشد گیاهان هستند.

فلزهای سنگین می‌توانند بعنوان عامل انتخابی قوی، در ظهور سویه‌های قارچ میکوریز آربسکولار متحمل یا مقاوم، نقش مهمی داشته باشند. از این رو، حضور اکوتیپ‌های مختلف قارچ میکوریز آربسکولاردر خاک‌هایی با آلودگی شدید به فلزهای سنگین می‌تواند نشان دهنده سازگاری بلند مدت اکوتیپ‌های خاص قارچ میکوریز آربسکولار با شرایط این خاک‌ها باشد (Zarei *et al*., 2008).

سپاسگزاری

کلیه هزینه‌های موضوع این مقاله از اعتبارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی ساری تأمین شده است. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مدیریت دانشکده منابع‌طبیعی و به ویژه اعضای هیئت علمی و کارکنان گروه جنگل‌داری آن دانشگاه اعلام می‌دارند.

پی‌نوشت

[1] *Elaeagnus angustifolia* L.

منابع

Abdullahi, M.S., Uzairu, A. and Okuno, OJ. 2009. Quantitative determination of heavy metal concentration in onion leaves. International Journal of Environmental Research -3, 271-274

Allen, M.F., Swenson, W., Querejeta, J.I., Abbott, L. K. and Robson, A. D., 1979. A quantitative study on the spores and anatomy of mycorrhizas formed by a species of Glomus, with special reference to its taxonomy. Australian Journal of Botany 27, 363-375.

Egerton-Waburton, L.M. and Treseder, K.K., 2003 .Ecology of mycorrhiza: A conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. Annual Reviews in Phytopathology. 41, 271-303.

Almeida, A.F., Valle, A.A., Mielke, M.S., Gomes, F.P. and Braz, J., 2007. Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. Plant Physiology 19, 83-98.

Arriagada, C.A., Herrera, M.A. and Ocampo, J.A. 2005. Contribution of arbuscular mycorrhizal and saprobe fungi to the tolerance of Eucalyptus globulus to Pb. Water, Air, and Soil Pollution 166, 31-47.

Benyas, E, Dabbagh-Mohammadinassab, A and Oustan, S., 2013 Effects of cadmium on some morphological and physiological traits of Amaranth (Amaranthus caudatus L.) and Oilseed rape (Brassica napus L.). International Journal of Biosciences. 3 (4), 17-26.

Bojarczuk, K. and Kieliszewska-Rokicka, B., 2010. Effect of ectomycorrhiza on Cu and Pb accumulation in leaves and roots of silver birch (Betula pendula Roth.) seedlings grown in metal-contaminated soil. Water, Air and Soil Pollution. 207, 227-240.

Bouamri, R., Y. Dalpe, M.N. Serrhini & A. Bennani, 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi species associated with rhizosphere of Phoenix dactylifera L.inMorocco, African Journal of Biotechnology. 5(6), 510-516.

Camargo-Ricalde, S.L., Montano, N.M., Reyes-Jaramillo, I., Jimenez-Gonzalez, C. and Dhillion, S.S., 2010. Effect of mycorrhizae on seedlings of six endemic Mimosa L. species (Leguminosae–Mimosoideae) from the semi-arid Tehuacan–Cuicatlan Valley, Mexico. Trees. 24, 67-78.

Caravaca, F., Barea, J.M., Palenzuela, J., Figueroa, D., Alguacil, M.M. and Roldan, A., 2003. Establishment of shrubs species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. Applied Soil Ecology. 22, 103-111.

Daneshvar, H.A. and Kiani, B., 2004. Effect of Salinity on some local cultivars of Russian olive (Elaeagnus angustifolia) in Isfahan province. Pajouhesh and Sazandegi. 65, 76-83. (In Persian with English abstract with English abstract).

Dauda, M. K., M. K. Variatha, A. Shafaqat, U. Najeeba, M. Jamilb, Y. Hayat, M. Dawooda, M. I. Khand, M. Zaffar, S. A. Cheemad, X. H. Tonga, and S. Zhua. 2009. Cadmium induced ultramorphological and physiologicalchanges in leaves of two transgenic cotton cultivars and their wild relative. Journal of Hazardous Materials. 168, 614-625.

Dauda, M.K., Variatha, M.K., Shafaqat, A., Najeeba, U., Jamilb, M., Hayat, Y., Dawooda, M., Khand, M.I., Zaffar, M., Cheemad, S.A., Tonga, X.H. and Zhua, S., 2009. Cadmium-induced ultramorphological and physiological changes in leaves of two transgenic cotton cultivars and their wild relative. J. Hazard. Mater. 168, 614-625.

Gaur, A. and Adholeya, A. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. Current Science. 86, 528-534.

Glick, B.R., Penrose, D.M. and Li, J., 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. Journal of Theoretical Biology. 190, 63-68.

Guo LP, Wang HG, Huang LQ, Jiang YX, Zhu YG, Kong WD, Chen BD, Chen ML, Lin SF and Fang ZG, 2006. Effects of Arbuscular Mycorrhizae on growth and essential oil of Atractylodes Lancea.

Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 31 (18), 96 -1491.

He LY, Chen ZJ, Ren GD, Zhang YF, Qian M, Sheng XF, 2015. Increased cadmium and lead uptake of a cadmium hyperaccumulator tomato by cadmium-resistant bacteria. Ecotox Environ Safety. 72, 1343-1348.

Hosseinzadeh, H., Ramezani, M. and Namjo, N., 2003. Muscle relaxant activity of Elaeagnus angustifolia L. fruit seeds in mice. Journal of Ethnopharmacology. 84, 275. (In Persian with English abstract).

Jorge, L., Gardea-Torresdeya, B., Jose, R., Peralta-Videab, G. and De la Rosaa, J.G., 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by Xray absorption spectroscopy. Coordination Chemistry Reviews. 249, 1797–1810.

Karimi, N., Khanahmadi, M. and Moradi, B., 2013. The effects of lead on some physiological parameters of Artichoke. Journal of Plant Production. 20(1), 49-62. (In Persian with English abstract).

Khademi, A. and Kord, B. 2010. The role of Broad Leaf tree species (the Plane tree and the ash) in reducing pollution from lead. Journal of Sciences and Techniques in Natural. 1, 1-12. (In Persian with English abstract)

Khudsar, T., Uzzafar, M., Soh, W.Y. and Iqbal, M. 2000. Morphological and anatomical variations of Cajanus cajan (Linn. Huth) raised in cadmium-rich soil. Journal of Plant Biology. 43, 149-157. (In Persian with English abstract).

Klich, M.G., 2000. Leaf variations in Elaeagnus angustifolia related to environmental heterogeneity. Environmental and Experimental Botany. 44(3), 171-183.

Kramer, U. 2005. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. Current Opinion in Biotechnology. 16, 133-141.

Ledig, F.T., Drew, A.P. and Clark, J.G. 1976. Maintenance and constructive respiration, photosynthesis, and net assimilation rate in seedlings of pitch pine (Pinus rigida Mill.). Annual Botany. 4, 289-300.

Lingua G. Franchin C., Todeschini V., Castiglione S., Biondi S., Burlando B., Parravicini V., Torrigiani P., Berta G., 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi differentially affect the response to high zinc concentrations of two registered poplar clones. Environmental Pollution. 153, 137-147.

Lingua G., Bona E., Todeschini V., Cattaneo C., Marsano F. Berta G., Cavaletto M., 2012. Effects of Heavy Metals and Arbuscular Mycorrhiza on the Leaf Proteome of a Selected Poplar Clone: A Time Course Analysis. PLOS ONE, 7: e38662

Lone, M.I., Li, H., Zhen, P.J., Stoffella, E. and Yang, X., 2008. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. Journal of Zhejiang University Science, 9: 210-220.

Minakshi, Dwivedi, Singh, A.K, Singh, V.P, Mishra, P.K and Singh, S.K (2012) "Studies on different concentration of lead (Pb) and cadmium (Cd) on growth and accumulation in different parts of Tulsi (Ocimum tenuifolium L.)", Interntional Journal of Environmental Sciences, No. 2 (3), pp. 1733-1741.

Mirzaei, J., 2016. Effects of Glomus fasciculatum and G. mosseae on growth, photosynthesis and some nutrient absorption of Ziziphus spina-christi L. seedlings. Journal of Forest and Wood Product, 69(2): 259-268. (In Persian with English abstract).

Oudeh, M., Khan, M. and Scullion J. 2002. Plant

accumulation of potentially toxic elements in sewage sludge as affected by soil organic matter level and mycorrhizal fungi. Environmental Pollution, 116: 293-300.

Pallara G., Todeschini V., Lingua G., Camussi A., Racchi ML, 2014. Transcript analysis of stress defence genes in a white poplar clone inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus mosseae and grown on a polluted soil. Plant Physiology and Biochemistry, 63: 131-139.

Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Z_ yłkiewicz, B., and Zambrzycka, E.B., 2010. Changes in Growth, Biochemical Components, and Antioxidant Activity in Aquatic Plant Wolffia arrhiza (Lemnaceae) Exposed to Cadmium and Lead. Arch Environ Contam Toxicol 58: 594–604.

Rafati M., Khorasani N., Moattar F., Shirvany A., Moraghebi F., Hosseinzadeh S., 2011. Phytoremediation potential of Populus alba and Morus alba for cadmium, chromuim and nickel absorption from polluted soil. International Journal of Environmental Research, 5: 961-970.

Rafati, M., Khorasani, N., Moattar, F., Shirvany, A., Moraghebi, F. and Hosseinzadeh, S. 2011. Phytoremediation potential of Populus alba and Morus alba for cadmium, chromuim and nickel absorption from polluted soil. International Journal of Environmental Research, 5: 961-970.

Revel, J.C., Morard, P., Bailly, J.R., Labbe, H., Berthout, C., Kaemmere, M., 1999. Utilization by plants of leachate derived from municipal solid waste. Journal of Environmental Quality. 28:1083-1089.

Samani Majd, S., Sabeti, A. and Afiouni, M. 2007. Soil pollution of urban roadsides to lead and cadmium. Journal of Environmental studies, 33(43): 1-10.

Sebastiani, L., Scebba, F. and Tognetti, R. 2004. Heavy metal accumulation and growth responses in poplar clones Eridano (Populus deltoides x maximowiczii) and I-214 (P. X euramericana) exposed to industrial waste. Environmental and Experimental Botany, 52: 79-88

Sharma, P. and Dubey, R.S.H. 2005. Lead toxicity in Plants. Plant Physiology, 17: 35-52.

Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F. and Huang, Y., 2008. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. Mycorrhiza, 18: 287-296.

Susarla, S., Medina, V.F. and McCutcheon, S.C. 2002. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. Ecological Engineering, 18: 647-658.

Swift, C. E., 2004. Mycorrhiza and soil phosphorus levels. Area Extension Agent. http://www.colostate.edu/Depts/CoopExt/TRA/PLANTS/mycorrhiza.

Taiz, L. and Zeiger, E. 1998. Mineral nutrition. In: Taiz, L., Zeiger, E. (Eds.), Plant Physiology. Sinauer Associates Inc., Sunderland, pp. 103-124.

Tasang, A. and Maum, M.A., 1999. Mycorrhizal fungi increase salt tolerance of Strophostyles helvola in coastal foredunes. Plant Ecology, 144:159–166.

Tinker, P.B., Ney, P.H. 2000. Solute movement in the rizospher. Oxford University Press, Oxford. pp. 444.

Torresday, J.L., Videa, J.R.P., Rosa, G.D. and Parsons, J. 2005. Phytoremediatoin of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. Coordination Chemistry Reviews, 249: 1797-1810.

Van der Heiden, M.G.A., Klironomose, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwoif- Engel. R., Boller. T., Wiemken, A., Sanders, I.R., 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity. Ecosystem variability and productivity, Nature 396:69-72.

Vijayaragavan, M, Prabhakar, C, Sureshkumar, J, Natarajan, A, Vijayarengan, P and Sharavanan, S (2011) "Toxic effect of cadmium on seed germination growth and biochemical content of Cowpea (Vigna unguiculata L.) plants", International Multidisciplinary Research Journal, No. 1 (5), pp. 1-6.

Vivas, A., Voros, I., Biro, B., Barea, J.M., Ruiz-Lozano, J.M. and Azco´n, R., 2003. Beneficial effects of indigenous Cd-tolerant and Cdsensitive Glomus mosseae associated with a Cd-adapted strain of Brevibacillus brevis in improving plant tolerance to Cd contamination. Applied Soil Ecology, 24:177–186.

Wang F.Y., Lin X.G. Yin R. 2007. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus Acaulospora mellea decrease Cu phytoextraction by maize from Cu-contaminated soil. Pedobiologia, 51: 99-109.

Weissenhorn, I., Leyval, C., Belgy, G. and Berthelin, J., 1995. Arbuscularmycorrhizal contribution to heavy metaluptake by maize (Zea mays L.) in pot culture with contaminated soil. Mycorrhiza, 5: 245–252.

Zaidi, M.I., A. Asrar, A. Mansoor and M.A. Farooqui. 2015. "The heavy metal concentration along roadside trees of Quetta and its effects on public health". Jornal of Applied Sciences. 5 (4), 708-711.

Zarei M., Saleh-Rastin N., Salehi Jouzani Gh., Savaghei Gh. and Buscot F., 2008. Arbuscular mycorrhizal abundance in contaminated soils around a zinc and lead deposit. European Journal of Soil Biology. 44, 381-390

Environmental Sciences Vol.17 / No.1 / Spring 2019

175-194

Identification of inoculated Arbuscular mycorrhizal fungi resistant to lead and zinc and their effect on some morphological traits of the Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.)

Bahman Zamani Kebrabadi, [1] Seyed Mohammad Hojati,[1] Farhad Rejali,[2] Masoud Esmaeili Sharif [3]* and Hamid Reza Rahmani [4]

[1] Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[2] Research Institute of Water and Soil, Education and Extension and Organization (AREO), Tehran, Iran

[3] Division of Natural Resources, Isfahan Agricultural and Natural Resources, Research and Educational Center, Isfahan, Iran

[4] Division of Water and Soil, Isfahan Agricultural and Natural Resources, Research and Educational Center, Isfahan, Iran

Received: 2018.12.31 Accepted: 2019.02.12

Zamani Kebrabadi, B., Hojati, S.M., Rejali, F., Esmaeili Sharif, M. and Rahmani, H.R., 2019. Identification of inoculated Arbuscular mycorrhizal fungi resistant to lead and zinc and their effect on some morphological traits of the Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.). Environmental Sciences. 17 (1): 175-194.

Introduction: Phytoremediation was introduced as an effective, inexpensive and environmentally friendly to remove, displace or disable pollutants from polluted soils. There are numerous physical and chemical methods for the treatment of heavy metal contaminated soils, which in addition to high costs, lead to the destruction of the physical and chemical structure and vital activities of the soil. This study was applied in order to investigate the effects of inoculated Arbuscular mycorrhizal fungi of resilience to lead and zinc on some morphological traits (colonization, diameter growth, shoot dry and fresh weight, root dry and fresh weight, height and leaf area) of *Elaeagnus angustifolia* L.

Material and methods: One-year-old seedlings of *E. angustifolia* species with an average height of 70-50 cm, minimum diameter of 1-1.5 cm and leaf number of at least 30 were provided from Jebel Amelian nursery affiliated to the Natural Resources Office of Isfahan Province. The seedlings were transferred to the greenhouse of the Agricultural and Natural Resources Research Center of Isfahan Province and were kept there for 20 days to adapt to the new conditions. In doing so, six treatments of mycorrhizal fungi (*Glomus versifome*, *G. etunicatum*, *G. intraradices*, *G. mossea*, composition and control treatments) and five treatments of soil (naturally polluted soil, soil polluted with lead, soil polluted with zinc, soil polluted with lead and zinc, control (without pollution) treatment) were considered.

---

* Corresponding Author. *E-mail Address*: masoudesmaeilisharif@gmail.com

Results and discussion: The results showed that there was a significant difference between the measured variables among the different treatment of mycorrhizal fungi. The highest and lowest colonization were observed for G. mossea (40.5%) and control treatment (25.6%), respectively. For *G. mossea*, the diameter growth (2.8mm), height (36.1cm) and leaf area index (28.8) increased in comparison to the control treatment. There was a significant difference between shoot dry and fresh weight and root dry and fresh weight in all of the treatment of mycorrhizal fungi. The highest dry and fresh weight of shoot was observed in G. mossea treatment (108.4 and 55 g) and the lowest was observed in control treatment (59.4 and 30.3 g). The highest and lowest of fresh weight were observed in control (95.3) and polluted soil with lead and zinc treatments (78g). Highest values of measured variables in all fungi and soil treatments were belonged to the inoculated treatment of *G. mossea* and the control treatment, respectively.

Conclusion: Results of this study showed that inoculated treatment with *G. mossea* fungi and control treatment of soil caused the growth enhancement in *E. angustifolia*. However, there was no significant difference between mean fresh and dry weight of root and leaf area index in different soil treatments. Roots, as absorbent levels of water and food, have great effects on the absorption of water and various salts, and various environmental factors influence the growth of the plant through its effect on root growth. Heavy metal stress is one of the factors limiting root growth which affects plant growth activity. Also, in plants that were inoculated with mycorrhizal fungi, the mean of all measured variables was significantly higher than the control treatment. The highest shoot weight was observed in *G. mosseae* treatment, which suggests that *G. mosseae* contributed to the plant's absorption of water and food, especially phosphorus, and increased the accumulation of dry matter and has more efficiency in the biomass production of *E. angustifolia*.

Keywords: Arbuscular, Soil pollution, Bioremediation, *Elaeagnus angustifolia* L., Mycorrhizal fungi, Morphological traits.