

## ارزیابی میزان همزیستی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و شاخص خطر و سلامت گشنیز تحت سمیت کادمیوم و کاربرد قارچ‌های میکوریزا

فریبا محمدی فر M.Sc.، محمد مقدم Ph.D.\*

- دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، مشهد، ایران

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: m.moghadam@um.ac.ir ، moghaddam75@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱/۱۸

### چکیده

**هدف:** هدف از این مطالعه بررسی تلقیح دو گونه قارچ میکوریزا بر برخی خصوصیات رشدی، درصد همزیستی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و شاخص خطر و سلامت گشنیز تحت تنش فلز سنگین کادمیوم است.

**مواد و روش‌ها:** این تحقیق به صورت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور و در ۳ تکرار انجام شد. فاکتور اول نیترات کادمیوم در ۴ سطح ۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و فاکتور دوم قارچ میکوریزا در ۳ سطح عدم تلقیح باقارچ و تلقیح با قارچ‌های *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* بود.

**نتایج:** نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم مقادیر زیست توده تر اندام هوایی، سطح برگ، تعداد بذر، وزن هزار دانه، درصد همزیستی، پروتئین محلول، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایکول پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز در گیاه گشنیز به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد؛ ولی مقادیر مالون‌دی‌آلدئید و شاخص خطر و سلامت افزایش یافت. درحالی‌که کاربرد قارچ‌های میکوریزا توانست اثرات زیان‌بار کادمیوم را در گیاه کاهش دهد، به طوری‌که باعث کاهش ۴۷/۱ درصدی شاخص خطر و سلامت و ۱۷/۲ درصدی مالون‌دی‌آلدئید در گیاه شدند.

**نتیجه‌گیری:** براساس دست‌آوردهای این پژوهش در شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم استفاده از قارچ‌های میکوریزا تاثیر به‌سزایی در بهبود اثرات مضر کادمیوم در گیاه گشنیز داشت، به طوری‌که باعث اصلاح شاخص خطر و سلامت برای مصرف‌کنندگان شد و استفاده از قارچ‌های میکوریزا به‌عنوان راهکاری مدیریتی در مناطق آلوده به این فلز سنگین توصیه می‌شود.

**واژگان کلیدی:** آنزیم گایکول پراکسیداز، سطح برگ، درصد همزیستی، زیست توده گیاهی

## مقدمه

یکی از مباحث چالش برانگیز در جهان امروز و مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست فلزات سنگین هستند که شامل عناصری با عدد اتمی بالاتر از ۲۰ و چگالی بالاتر از ۵ گرم بر سانتی‌متر می‌باشند (۱). در بین فلزات سنگین، کادمیوم با نیمه‌عمر زیستی حدوداً ۲۰ سال، قابلیت تحرک بالای آن در خاک و جذب توسط گیاه دارای سمیت قابل توجهی می‌باشد (۲). کادمیوم یکی از فلزات سنگین دو ظرفیتی و به‌عنوان یک ماده سرطان‌زا شناخته شده که عامل اثرگذاری در ایجاد بیماری‌های قلبی، فشار خون، جنین ناقص و جهش ژنی می‌باشد (۳). کادمیوم در خاک بسیار متحرک است و در صورت حضور در محیط ریشه به‌راحتی توسط گیاه جذب و به قسمت‌های هوایی گیاه منتقل و در اندام‌های مختلف آن مانند برگ، میوه و دانه انباشته می‌گردد (۴)، که باعث تغییرات نامطلوبی در خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه می‌شود (۵ و ۶). کادمیوم در غلظت‌های بسیار پایین هم برای طیف وسیعی از گیاهان سمی است. به‌طوری‌که در غلظت‌های بالاتر از ۵ تا ۱۰ میکروگرم بر وزن خشک گیاه می‌تواند باعث مرگ گیاه شود (۷). از اثرات نامطلوب تجمع کادمیوم می‌توان به کاهش جوانه‌زنی، مهار رشد ریشه، ساقه، کاهش سطح برگ، کلروزه شدن برگ‌ها، اختلال در جذب آب و اختلال در جذب مواد غذایی اشاره کرد (۸ و ۹). از دیگر آسیب‌هایی که فلزات سنگین ایجاد می‌کنند، افزایش تولید گونه فعال اکسیژن مانند سوپراکسیدها، رادیکال اکسیژن، هیدروکسل و پراکسیدها می‌باشند (۱۰). در صورت عدم تنظیم غلظت فلزات سنگین، سبب آسیب به پروتئین‌ها، تغییر در فرایندهای رشد، چرخه سلولی، DNA و غشا می‌گردند (۱۱ و ۱۲). از آن‌جاکه یکی از مهم‌ترین راه‌های قرارگیری انسان در معرض کادمیوم، دریافت این عنصر از طریق غذاست، ارزیابی و کنترل مقدار آلودگی منابع غذایی و شناسایی منابع آلاینده و تعدیل یا حذف آن‌ها نقش چشمگیری در سلامت و طول عمر انسان دارد. هنگامی‌که فلزات سنگین به‌صورت عنصر یا مواد آلی فلزی حضور دارند، می‌توانند تاثیر قابل توجهی بر سلامت جوامع انسانی داشته باشند. زیست‌پالایی از جمله این روش‌ها می‌باشد که در سال‌های اخیر برای جذب عناصر سنگین بسیار مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از عوامل زیستی مانند گیاهان، جلبک‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها در این رهیافت حائز اهمیت بسیاری است (۱۲). از جمله راهکارهای افزایش مقاومت گیاهان در خاک‌های آلوده استفاده از قارچ‌های همزیست مانند قارچ‌های آربوسکولار مایکوریزا با ریشه گیاهان می‌باشد (۱۳). قارچ‌های آربوسکولار مایکوریزا یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شود که با اکثر گیاهان رشد کرده در مناطق آلوده به فلزات سنگین روابط همزیستی دارند (۱۴). قارچ‌های مایکوریزا از طریق رابطه‌ی همزیستی با ریشه گیاهان موجب افزایش آب، عناصر غذایی در گیاهان شده و آن‌ها را در مقابل تنش‌های زنده و غیرزنده کمک می‌کند و موجب بهبود رشد و عملکرد در گیاهان می‌شوند (۱۵). همچنین با بهبود ساختمان خاک از طریق اتصال ذرات خاک به یکدیگر موجب افزایش رشد گیاهان می‌شوند (۱۶). مصرف سبزی‌ها در سال‌های اخیر به‌ویژه در بین جوامع شهری رو به فزونی است که ناشی از افزایش آگاهی عمومی از ارزش مفید غذاهای حاوی سبزی‌ها است (۱۷). یکی از سبزی‌های پر مصرف گشنیز می‌باشد. گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) گیاهی یکساله و علفی از خانواده چتریان (Apiaceae) است، که به‌عنوان سبزی و گیاه دارویی نقش ویژه‌ای در برنامه غذایی انسان دارد. اندام‌های مختلف گیاه از جمله برگ، ساقه و ریشه آن کاربرد خوراکی، آرایشیو دارویی دارد (۱۸ و ۱۹). از دیگر کاربردهای آن می‌توان به‌عنوان هضم‌کننده غذا، اشتهاآور، برطرف کننده دردهای عضلانی و دارا بودن اثرات آرامش‌بخشی است (۲۰). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر قارچ‌های مایکوریزا بر برخی ویژگی‌های رشدی، درصد همزیستی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و شاخص خطر و سلامت گشنیز تحت تنش فلز سنگین کادمیوم است.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت گلدانی در گلخانه گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد (واقع در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۹۸۵ متری از سطح دریا) براساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۲ فاکتور و در ۳ تکرار انجام شد. فاکتور اول کاربرد نیترات کادمیوم در ۴ سطح ۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (به ترتیب دارای ۰، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۸ درصد کادمیوم) که این غلظت‌ها بر پایه پژوهش‌های پیشین (۲۱ و ۲۲) انتخاب شد. و فاکتور دوم قارچ میکوریزا در ۳ سطح بدون تلقیح قارچ و تلقیح با قارچ‌های *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* (۲۰۰ گرم بستر حاوی مسیلیوم و قارچ به خاک هر گلدان) بود. مخلوط خاک مورد استفاده شامل خاک زراعی، خاک برگ و ماسه به نسبت ۱:۱:۱ بود (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس تاثیر قارچ‌های میکوریزا بر صفات رشدی و درصد همزیستی گشیش تحت تنش کادمیوم.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				توده تر اندام هوایی	توده تر کل گیاه
		سطح برگ	تعداد بذر	وزن هزار دانه	درصد همزیستی		
کادمیوم	۳	۸۹/۴۴**	۹۲/۹۵**	۱۶**	۳۵۹۴	۲۹۰/۱۸۸**	
مایکوریزا	۲	۱۷/۲۱**	۱۸/۸۴**	۱۸**	۱۲۱۰	۴۶۴۴/۱۱**	
کادمیوم × مایکوریزا	۶	۱/۹۳**	۱/۹۶**	۱۸۸**	۲۱۴	۲۲۹/۵۲**	
خطا	۲۴	۰/۲۵	۰/۲۵	۶/۶	۱۰/۱۲	۴/۱۱	
ضریب تغییرات		۵/۳۳	۵/۲۴	۲/۵۹	۴/۹۴	۴/۵۲	

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

سطوح مختلف نیترات کادمیوم و قارچ میکوریزا به خاک مورد نظر قبل از کاشت اضافه شد. نحوه‌ی آماده‌سازی تیمارهای حاوی نیترات کادمیوم به این شرح بود که غلظت‌های مشخص آن را در یک لیتر آب مقطر برای حجم خاک یک گلدان (۱۲ کیلوگرم) حل کرده و بر روی خاکی که بر روی پلاستیک به ضخامت ۱ یا ۲ سانتی‌متر پهن شده بود، اسپری شد. به منظور این‌که شرایط آلودگی تا حدی شبیه به شرایط طبیعی باشد، نمونه‌های تیمار شده تا حد ظرفیت زراعی، مرطوب و به مدت ۱۵ روز در این شرایط نگه‌داشته شدند. نیتروژن اضافه شده به خاک توسط نمک نیترات کادمیوم، با اضافه کردن مقادیر محاسبه شده با استفاده از اوره به تیمارهای مختلف اصلاح شد. پس از اعمال تیمارها و آماده‌سازی خاک، بذرها به‌طور مستقیم در گلدان‌ها کشت شدند. ابتدا تعداد ۲۰ بذر در هر گلدان کاشته و پس از استقرار گیاهان، تنک کردن در مرحله ۶-۴ برگی انجام و تعداد بوته‌ها به ۸ عدد در سطح هر گلدان (در گلدان‌های با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر) رسانده شد. در طول دوره رشد گیاهان کلیه اعمال زراعی شامل آبیاری (براساس نیاز گیاه و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار انجام شد) و دفع علف‌های هرز به‌طور یکنواخت در بین تیمارها انجام شد. اندازه‌گیری صفات در مرحله گلدهی صورت گرفت. صفات مورد اندازه‌گیری شامل زیست توده تر اندام هوایی و کل گیاه، سطح برگ، تعداد بذر و وزن هزاردانه، درصد همزیستی، میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، میزان مالون‌دی‌آلدئید و تعیین شاخص خطر و سلامت در گیاه بود.

زیست توده تر: با اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی (با استفاده از ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم) به دست آمد.

**سطح برگ:** جهت سنجش سطح برگ از دستگاه سنجش سطح برگ (مدل LI-COR – 3100) استفاده شد.

**تعیین درصد همزیستی:** یک گرم از ریشه‌های ظریف و ریز از هر گلدان انتخاب و با آب مقطر شستشو و به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شد. جهت شفاف‌سازی قطعات ریشه، آن‌ها را به مدت ۴۵ دقیقه در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد در حمام آب گرم ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد ریشه‌ها را برای خارج شدن اثر محلول پتاسیمی به خوبی با آب مقطر شستشو داده، سپس قطعات ریشه به مدت ۳ الی ۵ دقیقه در محلول اسید کلریدریک ۱ درصد قرار گرفتند. ریشه‌ها در محلول ۰/۰۵ درصد تریپان بلو در لاکتوگلیسرول به مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شد. برای رنگ‌بری، قطعات ریشه در محلول رنگ‌بر لاکتوگلیسرول قرار گرفت. در این روش اندام‌های قارچی به رنگ آبی مشاهده شدند (۲۳) و برای تعیین درصد همزیستی از روش تلاقی خطوط مشبک استفاده شد (۲۴).

**تهیه عصاره آنزیمی:** جهت سنجش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مختلف نیاز است که از نمونه‌های گیاهی عصاره پروتئینی تهیه شود. بدین منظور ۰/۵ گرم از نمونه تازه گیاهی در پنج میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار حاوی پلی‌وینیل‌پیرولیدین (PVP) یک درصد و EDTA یک میلی‌مولار ساییده و عصاره‌گیری انجام شد. تمامی مراحل فوق در داخل یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ، محلول شفاف رویی جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفت (۲۵).

**پروتئین محلول:** برای سنجش میزان پروتئین محلول در گیاه، به لوله‌های آزمایش ابتدا ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره و سپس ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی افزوده و به سرعت هم‌زده شد و در نهایت جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلومین محاسبه شد (۲۶).

**فعالیت آنزیم کاتالاز:** روش‌های مختلفی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز وجود دارد؛ اما به‌طور کلاسیک، فعالیت این آنزیم را از روی تغییرات غلظت پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر ارزیابی می‌کنند (۲۷). جهت اندازه‌گیری، مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شد که با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل  $\text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1}$  استفاده شد.

**فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز:** مخلوط واکنش جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود تا واکنش اکسیداسیون توسط آنزیم موجود در بافت گیاهی انجام شد. فعالیت آنزیم براساس اکسیداسیون اسید آسکوربیک و کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل  $\text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1}$  استفاده شد (۲۸).

**فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز:** جهت سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از روش پلوا و همکاران (۲۹) استفاده شد.

**فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز:** جهت سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز از پیروگالل به‌عنوان پیش‌ماده آنزیم استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و

۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر و بعد از سه دقیقه در دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل  $6/2 \text{ mM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$  استفاده شد (۳۰).

**میزان مالون‌دی‌آلدئید:** برای سنجش میزان آسیب به غشاهای می‌توان با اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) که به‌عنوان فراورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است، میزان آن را تعیین کرد که با استفاده از روش دیوی و همکاران (۳۱) در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت برای تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدئید از فرمول زیر با ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مولار بر سانتی‌متر استفاده شد.

$$\text{MDA} = (A_{532} - A_{600}) \times 1000$$

**شاخص خطر و سلامت:** میزان کادمیم گیاه با استفاده از دستگاه ICP (مدل ICP-OES) اندازه‌گیری شد. به‌منظور ارزیابی خطر سلامت برای مصرف‌کنندگان براساس مصرف محصولات آلوده با فلز با استفاده از شاخص خطر و سلامت (HRI) مشخص شد. اگر  $(HRI > 1)$  باشد هیچ خطری برای جمعیت در معرض وجود نداشت، اما اگر شاخص خطر بالاتر از یک باشد خطر برای مصرف‌کنندگان وجود خواهد داشت. برای محاسبه شاخص خطرپذیری از فرمول ارائه شده توسط سازمان حفاظت از محیط زیست آمریکا (USEPA) استفاده شد (۳۲).

$$\text{HRI} = \text{DIM} / \text{RFD}$$

$$\text{DIM} = C_V \times C_F \times D_{FI} / B_{AW}$$

$C_V$ : غلظت فلز سنگین در گیاه میلی‌گرم بر کیلوگرم بر اساس وزن خشک گیاه،  $C_F$ : عامل تبدیل وزن سبزیجات تازه به خشک براساس میلی‌گرم بر کیلوگرم،  $D_{FI}$ : مصرف روزانه (افراد بالغ  $(0/345)$  و کودکان  $(0/232)$ ،  $B_{AW}$ : وزن بدن انسان (افراد بالغ  $(55/9)$  کیلوگرم و کودکان  $(32/7)$  کیلوگرم)،  $RFD$ : دوز مرجع کادمیم  $(0/01)$  در سبزیجات می‌باشد که توسط سازمان بهداشت جهانی اعلام شده است).

## تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار Minitab 17 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون Bonferroni در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

## نتایج

### زیست توده تر اندام هوایی و کل گیاه

نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل تیمارها نشان داد که تاثیر قارچ‌های میکوریزا و فلز سنگین بر زیست توده تر اندام هوایی و کل گیاه گشنیز معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح کادمیم خاک، زیست توده تر اندام هوایی و کل گیاه گشنیز به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. به‌طوری‌که کاهش آن در گیاهان تلقیح نشده با قارچ بیشتر از گیاهان تلقیح شده با قارچ بود. بیش‌ترین مقدار زیست توده تر اندام هوایی  $(15/71)$  گرم در بوته) و زیست توده تر کل گیاه  $(16/07)$  گرم در بوته) در تیمار شاهد (بدون تنش کادمیم و کاربرد قارچ *Glomus mosseae*) حاصل شد، در حالی‌که کم‌ترین مقدار زیست توده تر اندام هوایی  $(4/36)$  گرم در بوته) و زیست توده تر کل گیاه  $(4/72)$  گرم در بوته) در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیم و بدون اعمال قارچ میکوریزا به‌دست آمد (جدول ۲). نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که بین زیست توده تر اندام هوایی و کل گیاه و فعالیت آنزیم گایکول پراکسیداز همبستگی مثبتی (به‌ترتیب  $0/902$  و  $0/901$ ) در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۳).

جدول ۲: مقایسه میانگین تاثیر قارچ‌های مایکوریزا بر برخی خصوصیات رشدی، پروتئین محلول و مالون‌دی‌الدئید گشیز تحت تنش کادمیوم.

مالون دی آلدئید (mg <sup>-1</sup> g Fw)	پروتئین محلول (mg <sup>-1</sup> g Fw)	وزن هزار دانه (g)	تعداد بذر	سطح برگ (cm <sup>2</sup> )	زیست توده تر کل گیاه (g/plant)	زیست توده تر اندام هوایی (g/plant)	*مایکوریزا	نیترات کادمیوم (mg/kg)
۱.۱۲۰	ab.۱۰۶۶	b۷/۶۵	cd۷۱/۳۳	d۹۸/۳۳	۱۱/۳۶ <sup>c</sup>	c۱۱/۱۵	۰	
ef.۱۱۵۳	a-c.۱۰۶۲	a۸/۴۶	a۹۰/۴۴	a۱۷۰/۹۵	a۱۶/۰۷	۱۵/۷۱ <sup>a</sup>	۱	
ef.۱۱۷۳	a-c.۱۰۶۲	b۷/۷۰	ab۸۶	b۱۴۶/۶۳	۱۳/۴۷ <sup>b</sup>	۱۳/۱۷ <sup>b</sup>	۲	
e.۲۱۷	a.۱۰۶۷	bc۷/۳۸	cd۷۰/۵۵	e۷۹/۲۳	de۹/۵۴	۹/۳۹ <sup>de</sup>	۰	۲۰
et.۱۱۹۳	bc.۱۰۶۱	cd۷/۰۱	ab۸۳/۵۵	bc۱۴۴/۷۹	۱۱/۳۲ <sup>c</sup>	۱۱/۰۴ <sup>c</sup>	۱	
e.۲۰۷	c.۱۰۶۱	cd۷/۰۲	bc۷۸/۳۳	c۱۳۷/۷۱	۱۰/۳۳ <sup>cd</sup>	۱۰/۰۳ <sup>cd</sup>	۲	
cd.۳۶۷	cd.۱۰۵۹	d۶/۵۹	f۵۷/۴۴	f۹۶/۸۸	۷/۳۱ <sup>f</sup>	۷/۱۶ <sup>f</sup>	۰	۴۰
d.۳۱۷	de.۱۰۵۶	c۷/۱۵	et۵۸/۷۸	d۹۶/۸۸	۸/۸۵ <sup>d-t</sup>	۸/۶۱ <sup>d-t</sup>	۱	
d.۳۵۷	cd.۱۰۶۰	cd۶/۹۶	de۶۷/۶۶	d۹۰/۶۷	۸/۶۲ <sup>et</sup>	۸/۴۰ <sup>et</sup>	۲	
a.۱۵۴۰	t.۱۰۴۵	t۳/۶۶	h۱۱/۶۷	h۳۴/۹۶	۴/۷۳ <sup>h</sup>	۴/۳۶ <sup>h</sup>	۰	
bc.۱۴۴۷	e.۱۰۵۱	e۵/۳۱	f۳۴۹	g۵۴/۴۰	۶/۷۵ <sup>g</sup>	۶/۵۷ <sup>g</sup>	۱	۸۰
ab.۱۴۵۷	e.۱۰۵۱	e۵/۲۵	g۴۷/۳۳	g۵۳/۹۹	۶/۷۰ <sup>g</sup>	۶/۵۵ <sup>g</sup>	۲	

\*، \*، \* و \* : به ترتیب نشان دهنده عدم تلقیح، تلقیح با *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae*

جدول ۳: مقادیر ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه در این پژوهش

صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
۱ - زیست توده												
تر اندام هوایی												
۲ - زیست توده	۱**											
تر کل گیاه		۱										
۳ - سطح برگ	**	**										
	۱/۹۱۹	۱/۹۲۴										
۴ - تعداد بذر	**	**										
	۱/۸۷۱	۱/۸۷۳	۰/۸۸۴**									
۵ - وزن هزار دانه	**	**	۰/۸۰۲**		۱							
	۱/۸۵۸	۱/۸۵۸	۰/۹۱۷									
۶ - درصد همزیستی	**	**	**	۰/۹۴۶**	**	۱						
	۱/۷۹۸	۱/۸۰۵	۱/۶۸۵	۰/۷۹۲	۰/۶۸۵							
۷ - پروتئین محلول	**	**	**	۰/۶۲۴**	**	۰/۴۴۶**	۱					
	۱/۷۰۵	۱/۷۰۲	۱/۸۸۲	۰/۸۲۶	۰/۸۸۲	۰/۴۴۶**						
۸ - کاتالاز	**	**	**	۰/۴۴۵**	**	**	۱/۲۸۷**	۱/۶۹۵**	۱			
	۱/۶۴۱	۱/۶۳۵	۱/۶۸۲	۰/۵۸۴	۱/۶۸۲	۱/۲۸۷**	۱/۶۹۵**	۰				
۹ - آسکوربات پراکسیداز	**	**	**	۰/۸۹۲**	**	**	۱/۷۸۸**	۱/۵۹۴**	۱/۳۱۷**	۱		
	۱/۷۹۵	۱/۷۹۹	۱/۶۲۹	۰/۷۸۳	۱/۶۲۹	۱/۷۸۸**	۱/۵۹۴**	۰				
۱۰ - گایاکول پراکسیداز	**	**	**	۰/۸۲۷**	**	**	۱/۶۵۱**	۱/۸۵۱**	۱/۷۳۶**	۱/۸۰۷**	۱	
	۱/۹۰۲	۱/۹۰۱	۱/۸۶۴	۰/۸۶۹	۱/۸۶۴	۱/۶۵۱**	۱/۸۵۱**	۰				
۱۱ - پلی فنل پراکسیداز	**	**	**	۰/۶۳۱**	**	**	۱/۶۱۱**	۱/۵۸۷**	۱/۲۱۳**	۱/۵۱۴**	۱	
	۱/۴۶۳	۱/۴۷۰	۰/۷۱۷	۰/۶۳۶**	۰/۶۳۶**	۱/۶۱۱**	۱/۵۸۷**	۰				
۱۲ - مالون دی آلدئید	**	**	**	۰/۸۲۵**	**	**	۱/۶۶۵**	۱/۸۷۷**	۱/۶۲۳**	۱/۸۱۱**	۱/۶۱۷**	۱
	۱/۸۶۴	۱/۸۶۳	۰/۸۹۷	۰/۸۷۹	۰/۸۹۷	۱/۶۶۵**	۱/۸۷۷**	۰				
۱۳ - شاخص خطر و سلامت	**	**	**	۰/۷۶۵**	**	**	۱/۶۲۶**	۱/۸۸۱**	۱/۶۲۵**	۱/۶۵۷**	۱/۶۵۰**	۱/۹۰۷**
	۱/۸۳۳	۱/۸۳۲	۰/۹۴۹	۰/۹۱۴	۰/۹۴۹	۱/۶۲۶**	۱/۸۸۱**	۰				

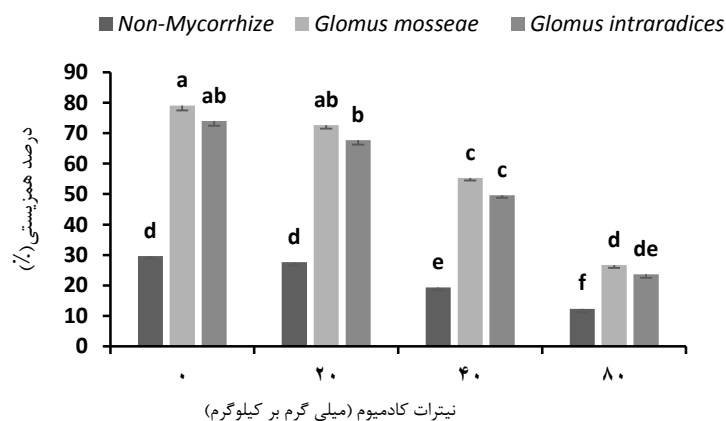
\*\* و \* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

### سطح برگ، تعداد بذر و وزن هزار دانه

نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد (جدول ۱) که تاثیر سطوح مختلف کادمیوم و میکوریزا و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان سطح برگ، تعداد بذر و وزن هزار دانه گیاه گشنیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل کادمیوم و قارچ مایکوریزا نشان داد مقادیر صفات مذکور در تیمارهای میکوریزایی و شاهد با افزایش غلظت کادمیوم روند کاهشی داشت با این تفاوت که این روند کاهشی در گیاهان غیرهمزیست به مراتب بیش‌تر بود. براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) کم‌ترین سطح برگ (۳۴/۹۶ سانتی‌متر مربع در گیاه)، تعداد بذر در بوته (۱۱/۶۶ عدد)، وزن هزار دانه (۳/۶۶ گرم در گیاه) در تیمار عدم تلقیح با قارچ مایکوریزا و کاربرد ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات کادمیوم خاک به‌دست آمد. درحالی‌که کاربرد قارچ‌های مایکوریزا موجب بهبود صفات شد. به‌طوری‌که بالاترین مقدار صفات مذکور در تیمار تلقیح با قارچ مایکوریزا در تمامی سطوح نیترات کادمیوم به‌دست آمد.

### درصد همزیستی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۱) که تیمار فلز سنگین به‌طور معنی‌داری درصد همزیستی قارچ‌ها را با ریشه گشنیز تحت تاثیر قرار دادند. به‌طوری‌که اثرات ساده و متقابل کادمیوم و قارچ مایکوریزا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. کم‌ترین میزان همزیستی (۱۲/۳ درصد) در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم و عدم کاربرد قارچ مایکوریزا مشاهده شد. در حالی‌که بالاترین میزان همزیستی (۷۹ درصد) در تیمار بدون آلودگی کادمیوم و کاربرد قارچ *Glomus mosseae* مشاهده شد (شکل ۱). همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش سطح کادمیوم درصد همزیستی قارچ‌ها کاهش یافت، به‌طوری‌که در بالاترین سطح تنش ۵۸/۴ درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین دو گونه قارچ مایکوریزا در بالاترین سطح تنش مشاهده نشد. همچنین نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که بین میزان درصد همزیستی ریشه و سطح برگ همبستگی مثبتی (۰/۹۴۶) در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۳).



شکل ۱: درصد همزیستی ریشه گشنیز با قارچ‌های مایکوریزا تحت تنش کادمیوم

### پروتئین محلول

در پژوهش حاضر میزان پروتئین محلول برگ گشنیز تحت تیمار توام فلز سنگین کادمیوم و کاربرد قارچ‌های مایکوریزا قرار گرفت. به‌طوری‌که اثر متقابل تیمارها در سطح احتمال یک درصد بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۱). همچنین اثرات ساده فلز سنگین کادمیوم و قارچ‌های مایکوریزا به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار شد. بیش‌ترین مقدار پروتئین محلول (۰/۰۶۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم و عدم کاربرد قارچ مایکوریزا و کم‌ترین مقدار آن (۰/۰۴۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم

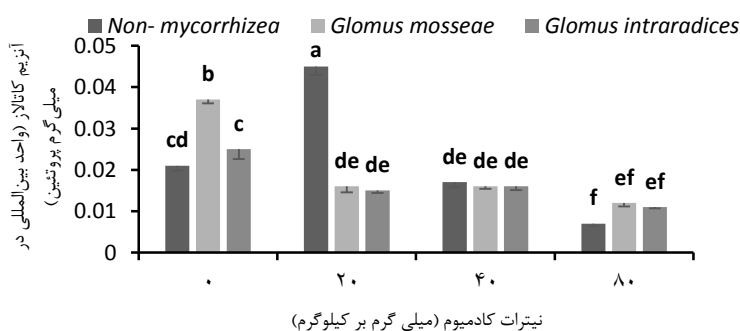
و عدم کاربرد قارچ میکوریزا مشاهده شد (جدول ۲). در بالاترین سطح تنش کاربرد قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش میزان پروتئین در گیاه شدند، ولی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین دو گونه قارچ میکوریزا مشاهده نشد. نتایج همبستگی نشان داد که بین میزان پروتئین محلول و وزن هزار دانه همبستگی مثبتی (۰/۸۸۲) در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۳).

جدول ۴ نتایج تجزیه واریانس تاثیر قارچ‌های میکوریزا بر میزان پروتئین محلول، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی، مالون‌دی‌آلدئید و شاخص خطر و سلامت گشنیز تحت تنش کادمیوم.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		پروتئین محلول	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	گیاکول پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز
کادمیوم	۳	**۰/۰۰۰۴۱	**۰/۰۰۰۶۰	**۰/۰۵۵۴	**۰/۰۰۰۰۱	**۰/۰۳۱۷
میکوریزا	۲	*۰/۰۰۰۰۱	**۰/۰۰۰۱۰	**۰/۰۱۱۹	**۰/۰۰۰۰۰۱	**۰/۰۱۶۱
کادمیوم × میکوریزا	۶	**۰/۰۰۰۰۳	**۰/۰۰۰۳۲	**۰/۰۰۰۴۹	**۰/۰۰۰۰۰۱	**۰/۰۰۰۹۰
خطا	۲۴	۰/۰۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۷
ضرب تغییرات		۲/۹۹	۱۱/۰۹	۷/۵۲	۱۱/۱۱	۱/۹۲
		۸/۹۵	۱۷/۶۷			

### فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده و متقابل تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۰۴۴) واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترا کادمیوم و عدم تلقیح با قارچ میکوریزا ثبت شد، در حالی که کم‌ترین (شکل ۲) فعالیت این آنزیم (۰/۰۰۷) واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترا کادمیوم و عدم تلقیح با قارچ میکوریزا مشاهده شد.

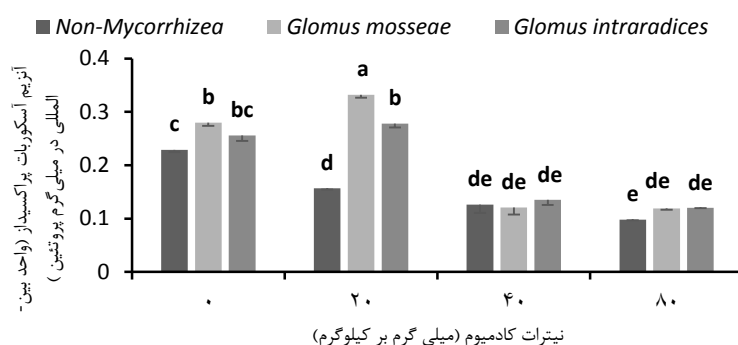


شکل ۲: فعالیت آنزیم کاتالاز برگ گشنیز تحت کاربرد قارچ‌های میکوریزا و تنش کادمیوم

### فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۲ نشان داد که اثرات ساده و متقابل تیمارها بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه گشنیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. بیش‌ترین فعالیت این آنزیم (۰/۳۳۲) واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترا کادمیوم و کاربرد قارچ میکوریزا *Glomus mosseae* و کم‌ترین فعالیت آن (۰/۰۹۷) واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترا کادمیوم و عدم تلقیح با قارچ میکوریزا مشاهده شد (شکل ۳). طبق نتایج جدول مقایسه میانگین، قارچ‌های میکوریزا توانستند باعث بهبود

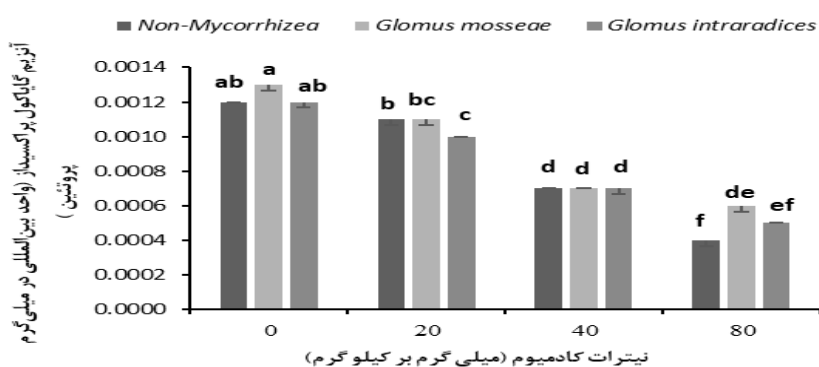
فعالیت این آنزیم در شرایط تنش شوند. براساس نتایج همبستگی بین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و سطح برگ همبستگی مثبتی (۰/۸۹۲) در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۳).



شکل ۳: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ گشنیز تحت کاربرد قارچ‌های مایکوریزا و تنش کادمیوم

### فعالیت آنزیم گایکول پراکسیداز

آنالیز آماری نشان داد، اثرات ساده و متقابل تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم گایکول پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، فعالیت این آنزیم در گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری‌که بین تیمار شاهد و بالاترین سطح کادمیوم (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نیتрат کادمیوم) در شرایط عدم تلقیح با قارچ مایکوریزا فعالیت آن به‌میزان ۶۶/۶۷ درصد کاهش مشاهده شد. بالاترین سطح فعالیت این آنزیم در تیمار شاهد و کاربرد قارچ *Glomus mosseae* به‌میزان ۰/۰۰۱۳ واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین و کم‌ترین سطح فعالیت آن در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم و عدم کاربرد قارچ مایکوریزا به‌میزان ۰/۰۰۰۳ واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد (شکل ۴).

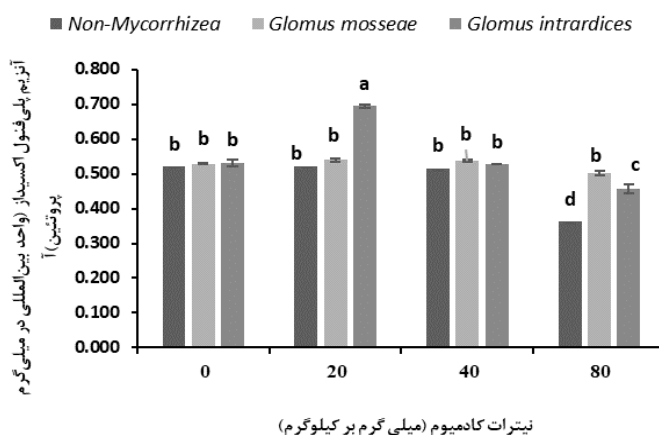


شکل ۴: فعالیت آنزیم گایکول پراکسیداز برگ گشنیز تحت کاربرد قارچ‌های مایکوریزا و تنش کادمیوم

### فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل و ساده کادمیوم و قارچ مایکوریزا در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۴). با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، فعالیت این آنزیم در گیاه کاهش پیدا کرد. فعالیت این آنزیم در تیمارهای هم‌زیست با مایکوریزا به‌مراتب بالاتر از تیمارهای غیرهم‌زیست بود، به‌طوری‌که کمترین فعالیت آن در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم و بدون اعمال قارچ مایکوریزا به‌میزان ۰/۳۶۳ واحد بین‌المللی در

میلی گرم پروتئین مشاهده شد، درحالی‌که بیش‌ترین فعالیت آن در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم و کاربرد قارچ *Glomus intraradices* به‌میزان ۰/۶۹۴ واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین دیده شد (شکل ۵).



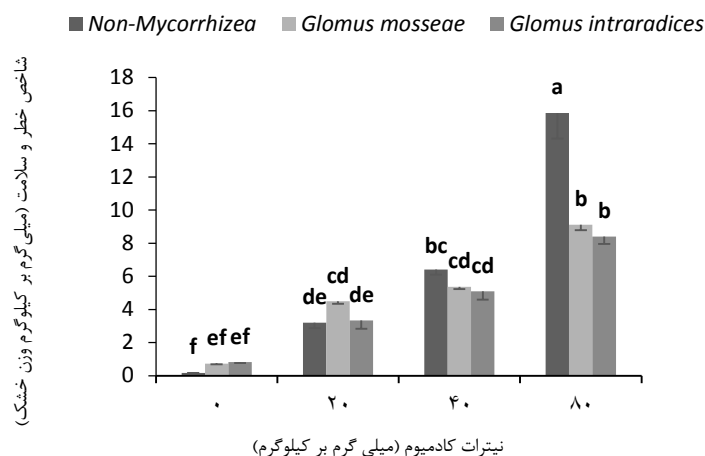
شکل ۵: فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز برگ گشنیز تحت کاربرد قارچ‌های میکوریزا و تنش کادمیوم

### مالون‌دی‌آلدئید

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر فلز سنگین کادمیوم و برهم‌کنش آن با قارچ‌های میکوریزا بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد، درحالی‌که اثر ساده کاربرد قارچ‌های میکوریزا در سطح احتمال پنج درصد بر آن معنی‌دار شد (جدول ۴). بیش‌ترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید (۰/۵۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم و عدم کاربرد قارچ میکوریزا بود، درحالی‌که کم‌ترین مقدار آن (۰/۱۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). کاربرد قارچ‌های میکوریزا در بالاترین سطح تنش (۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم) باعث کاهش معنی‌داری این صفت نسبت به تیمار شاهد شدند، به‌طوری‌که قارچ *Glomus mosseae* به‌میزان ۱۷/۲۲ درصد و قارچ *Glomus intraradices* به‌میزان ۱۵/۳۷ درصد کاهش مشاهده شد.

### شاخص خطر و سلامت

آنالیز آماری نشان داد که اثرات ساده و متقابل تیمار کادمیوم و قارچ‌های میکوریزا بر میزان شاخص خطر و سلامت گشنیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان غلظت عنصر کادمیوم در گیاه گشنیز بالاتر از حد استانداردهای بین‌المللی می‌باشد. بالاترین شاخص خطر و سلامت (۱۵/۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) در تیمار ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم و بدون حضور قارچ میکوریزا مشاهده شد. کم‌ترین مقدار آن در تیمار شاهد به‌دست آمد (شکل ۶). کاربرد قارچ‌های میکوریزا توانست سبب کاهش شاخص خطر و سلامت در گشنیز شود، به‌طوری‌که در بالاترین سطح تنش (۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) کاربرد قارچ *Glomus mosseae* به‌میزان ۴۲/۵ درصد و قارچ *Glomus intraradice* ۴۷/۱ درصد آن را کاهش داد.



شکل ۶: شاخص خطر و سلامت در گیاه گشنیز تحت سطوح مختلف نیترات کادمیوم خاک و کاربرد قارچ‌های میکوریزا

### بحث

از دلایل کاهش زیست توده گیاه می‌توان به این مورد اشاره نمود که فلز کادمیوم چه به صورت مستقیم و چه غیرمستقیم موجب مهار فرایندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، تنفس، جذب نیتروژن و رشد طولی سلول‌ها می‌شود که کاهش رشد و زیست توده تر اندام هوایی گیاه را به دنبال دارد (۳۳). همچنین فلزات سنگین با ایجاد ناهنجاری‌های کروموزومی موجب کاهش رشد گیاه می‌شوند (۳۴). علت افزایش مقادیر زیست توده تر اندام هوایی در تیمارهای همزیست با قارچ‌های میکوریزا در این پژوهش می‌تواند به این دلیل باشد که همزیستی ریشه با قارچ‌های میکوریزا باعث جذب بهتر آب و عناصر غذایی می‌شود که افزایش فتوسنتز را در پی خواهد داشت و در نتیجه رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (۳۵). علاوه بر این قارچ‌های میکوریزا از طریق افزایش هورمون آبسزیک اسید (ABA) بر روی فعالیت روزه‌ها اثر گذاشته و باعث بسته شدن روزه‌ها می‌شوند که این امر از کمبود آب در گیاه جلوگیری و منجر به رشد بهتر گیاه در شرایط تنش می‌شود (۳۶). در تحقیقاتی که بر روی تاثیر قارچ میکوریزا بر رشد و عملکرد گیاه دارویی رزماری (۲۱)، همیشه‌بهار (۲۲) و سیاه‌دانه (۳۷) در شرایط تنش فلزات سنگین (به ترتیب سرب و کادمیوم، سرب و کادمیوم و کادمیوم) انجام گرفت مشاهده شد، که با افزایش غلظت فلزات سنگین میزان رشد و زیست توده تر اندام هوایی کاهش پیدا کرد؛ اما تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزا باعث افزایش رشد و زیست توده تر اندام هوایی در این شرایط شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. افزایش وزن هزار دانه بیانگر تأمین مواد فتوسنتزی مورد نیاز دانه‌ها می‌باشد. فسفر یکی از عناصر مورد نیاز برای تشکیل گل و بذر در گیاه می‌باشد (۳۸)، در این راستا تأمین فسفر برای گیاه موجب افزایش تعداد بذر و وزن هزار دانه در گیاه می‌شود که همزیستی گیاه با قارچ‌های میکوریزا سبب استفاده بهتر گیاه از فسفر غیرقابل جذب موجود در خاک (توسط هیف‌های قارچ) می‌شود (۳۸). در این پژوهش با افزایش غلظت کادمیوم میزان تعداد برگ، سطح برگ، تعداد بذر و وزن هزار دانه کاهش چشمگیری پیدا کردند، اما در شرایط تلقیح با قارچ میکوریزا باعث بهبود صفات مذکور شد. که نتایج این پژوهش با نتایج سایر محققین که بر روی گیاهانی از جمله رزماری (۲۱) در شرایط تلقیح با قارچ میکوریزا و آلودگی با فلزات سنگین سرب و کادمیوم و گیاه ذرت (۳۹) در شرایط تلقیح با قارچ میکوریزا انجام گرفت، کاملاً همخوانی دارد. برقراری رابطه‌ی همزیستی قارچ‌های میکوریزا با ریشه گیاه باعث بهبود در جذب فسفر و پتاسیم، تجمع ماده خشک، عملکرد و افزایش کارایی مصرف آب می‌شود (۴۰). تحقیقاتی که بر روی گیاه سویا در شرایط آلودگی با فلز سنگین کادمیوم و همزیستی با قارچ میکوریزا صورت گرفت، نتایج بیانگر کاهش درصد همزیستی با

افزایش سطح کادمیوم در گیاه بود (۴۱). نتایج پژوهش‌هایی که بر روی گیاه آفتاب‌گردان (۴۲) و سه گونه گیاهی (۴۳) در شرایط آلودگی با فلز سنگین سرب و همزیستی با قارچ میکوریزا صورت گرفت نشان داد که با افزایش غلظت فلز سنگین میزان درصد همزیستی کاهش پیدا کرد.

علت کاهش میزان پروتئین در طی تنش فلزات سنگین را می‌توان به میل ترکیبی بالایی رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده با پروتئین موجود دانست، که در نهایت سبب اکسید شدن پروتئین‌ها می‌گردد (۴۴). در آزمایشی که بر روی گیاه گشنیز در شرایط تنش فلز سنگین نیکل انجام گرفت، کاهش پروتئین در شرایط این تنش گزارش شد (۴۵). همچنین در پژوهشی که بر روی گیاه ازمک (۴۶) در شرایط تنش با فلزات سنگین روی و نقره صورت گرفت نتایج حاکی از کاهش میزان پروتئین در این شرایط بود که با نتایج این آزمایش هم‌خوانی دارد. مکانیسم‌هایی که قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا برای کاهش تنش فلزات سنگین برای گیاهان اعمال می‌کنند شامل کلات شدن و غیرپویایی فلزات سنگین در میسلیم‌های خارجی و بهبود تغذیه معدنی به‌ویژه فسفر می‌باشند (۴۷). فلزات سنگین با تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های مختلف اکسیژن فعال سبب تنش اکسیدانتیو در گیاه می‌شوند (۴۸) به‌طوری‌که اکسیژن فعال تولید شده با لیپیدها واکنش داده و منجر به آسیب‌های غشایی، پراکسیداسیون لیپیدها و غیرفعال‌سازی آنزیمی می‌شود (۴۹). کاتالاز آنزیمی است که پراکسید هیدروژن تولید شده در مسیرهای تنفس نوری در درون پراکسیزوم‌ها را مهار می‌کند (۵۰) و هیدروژن پراکسید تولید شده را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند، از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی هست که در غلظت‌های پایین گونه‌های اکسیژن فعال فعالیت ندارد (۵۱). میزان فعالیت این آنزیم به‌شدت و مدت تنش بستگی دارد (۵۲). در پژوهشی که بر روی گیاه برنج صورت گرفت، نتایج بیان‌گر این بود که کادمیوم در غلظت‌های بالا منجر به کاهش فعالیت این آنزیم می‌شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (۵۳). هم‌زیستی میکوریزایی گیاه گشنیز با قارچ‌های آربوسکولار باعث بهبود فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش با فلز کادمیوم شد. قارچ‌های میکوریزایی از طریق افزایش فعالیت آنزیمی‌های آنتی‌اکسیدانتی از جمله کاتالاز باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در شرایط تنش می‌شود (۵۴). در شرایط تنش از جمله فلزات سنگین گیاهان جهت اجتناب از تنش اکسیدانتیو و پاک‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی آنزیمی و غیرآنزیمی خود را فعال می‌کنند (۵۵). آنزیم آسکوربات پراکسیداز، آنزیم اصلی در مهار ROS است که قادر به از بین بردن  $H_2O_2$  تولید شده در کلروپلاست‌ها می‌باشد (۵۷). قارچ‌های میکوریزا قادر به تنظیم واکنش‌های اکسیدانتیو و دفاع آنتی‌اکسیدانتی هستند (۵۸). در این پژوهش مشاهده شد که در بالاترین سطح تنش قارچ‌های میکوریزا سبب بهبود فعالیت این آنزیم شدند. در راستا با نتایج این پژوهش، می‌توان به پژوهشی که بر روی گیاه لوبیا در شرایط هم‌زیستی با قارچ‌های میکوریزا صورت گرفت اشاره کرد، نتایج بیان‌گر این بود که در حضور قارچ‌های میکوریزا فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت (۵۹). آنزیم گایکول پراکسیداز یکی از مهم‌ترین گروه‌های پراکسیدازی می‌باشد (۶۰). کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها باعث پیری و کاهش عمر گیاهان می‌شود (۶۱). قرار دادن گیاهان در معرض کادمیوم موجب علائم قابل‌توجهی از مسمومیت‌ها مانند مهار رشد، فعالیت آنزیم‌ها، اختلال در روابط آب-گیاه، متابولیسم یون‌ها و تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شود (۶۲). به‌همین دلایل ذکر شده در این پژوهش با افزایش سطح تنش میزان فعالیت آنزیم گایکول پراکسیداز هم کاهش پیدا کرد. قارچ میکوریزا در شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم باعث تحریک فعالیت آنزیم گایکول پراکسیداز شدند. همچنین نتایج مربوط به پژوهشی که بر روی گیاه گاوزبان آلمانی در شرایط تنش فلزات سنگین و تلقیح با قارچ میکوریزا انجام گرفت، بیان‌گر این بود که در طی هم‌زیستی با قارچ میکوریزا میزان فعالیت آنزیم گایکول پراکسیداز افزایش یافت که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد (۶۳). قارچ‌های میکوریزا با افزایش جذب مواد مغذی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی تاثیر می‌گذارند (۶۴). بنابراین می‌توان گفت حضور قارچ‌های میکوریزا باعث بهبود سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانتی در مواجهه با تنش فلز سنگین کادمیوم می‌شود.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتی از جمله پلی‌فنول اکسیداز در پاکسازی رادیکال‌های آزاد و به‌عنوان اولین سد دفاعی در برابر صدمات ناشی از تنش نقش دارند (۶۵). در اثر سمیت فلزات سنگین، تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد که منجر به اکسیداسیون چربی‌های غشا سلولی شده که به‌دنبال آن میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافته که این مسئله بیان‌گر تخریب ساختار غشا سلولی است (۶۶). مالون‌دی‌آلدئید را به‌عنوان نشان‌گر زیستی برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها شناخته می‌شود (۶۷). یکی از دلایل افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید را می‌توان به القای تنش اکسیداتیو تحت تنش کادمیوم، آسیب رساندن به ساختار و عمل غشا سلولی از طریق اتصال به پروتئین‌های غشا و آنزیم‌ها دانست (۶۸). افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گیاه ریحان در شرایط تنش فلز سنگین نیز مشاهده شد (۶۹) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. تجمع بیش از حد فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی علاوه بر آلودگی محیط زیست، کیفیت غذایی را نیز از طریق جذب توسط گیاهان به‌خطر می‌اندازد (۷۰). مصرف غذا یکی از مهم‌ترین راه‌های قرارگیری در معرض فلزات سنگین می‌باشد. سبزی‌ها بخش مهمی از برنامه‌ی غذایی را تشکیل می‌دهند، جذب فلزات سنگین در سبزیجات برگی به مراتب بالاتر از سبزیجات ریشه‌ای و غده‌ای می‌باشد (۷۱). اگر مقدار شاخص خطر سلامت کمتر از یک بود، این مطلب بیان‌گر این است که مصرف ماده غذایی هیچ تأثیر منفی بر سلامتی برای مصرف‌کننده ندارد و اگر مقدار شاخص خطر سلامت بیش‌تر از یک بود، نشان دهنده این است که مصرف ماده غذایی اثرات مخربی بر سلامتی مصرف‌کننده دارد (۷۲). در این پژوهش کاربرد قارچ‌های میکوریزا تأثیر به‌سزایی در میزان کاهش شاخص خطر و سلامت در گیاه داشتند. در بررسی‌های صورت‌گرفته بر روی سبزیجاتی که با آب فاضلاب آبیاری شدند محققین به این نتیجه رسیدند که فلز سنگین کادمیوم و منگنز به‌شدت سلامت مصرف‌کننده را به‌خطر می‌اندازند (۷۳). در بررسی‌های که بر روی سبزی‌های اسفناج و تربچه در شرایط آلودگی با فلزات سنگین سرب، روی و کادمیوم به‌منظور ارزیابی شاخص خطر سلامت صورت‌گرفت، نتایج نشان داد که غلظت این عناصر در این گیاهان بالاتر از سطح مجاز می‌باشد (۷۴). در آزمایشی که بر روی سبزیجات شهرستان ورامین (۷۵) انجام گرفت، نشان داد که فاکتور انتقال بر روی سبزی جعفری در شرایط آلودگی با کادمیوم بالاتر از یک بود. همچنین در پژوهش‌های که بر روی سبزیکاری‌های شاهرود (۷۶) انجام شد، نتایج بیان‌گر این بود که میزان غلظت فلزات سنگین در انواع سبزیجات بالاتر از یک می‌باشد که این مسئله خود بیان‌گر این است که احتمال خطر ابتلا به بیماری‌های غیرسرطانی برای مصرف‌کنندگان این نواحی وجود دارد.

### نتیجه‌گیری

فلزات سنگین را می‌توان یکی از آلاینده‌های اکوسیستم نام برد که به‌دلیل اثرات فیزیولوژیکی خاص خود بر روی موجودات زنده حتی در غلظت‌های پایین هم از اهمیت بالایی برخوردار هستند. قرار گرفتن در معرض غلظت بالای فلزات سنگین بر رشد و نمو گیاه تأثیر می‌گذارد. اثر منفی تیمار کادمیوم بر روی زیست توده تر و خشک اندام هوایی، پروتئین محلول، درصد همزیستی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایکول پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز گشنیز کاملاً مشهود بود، به‌طوری‌که در بالاترین سطح کادمیوم (۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم) کم‌ترین مقادیر برای این صفات به‌دست آمد، ولی در صفاتی چون مالون‌دی‌آلدئید و شاخص خطر و سلامت رابطه مستقیمی با سطوح غلظت کادمیوم در خاک مشاهده شد، به‌طوری‌که بیش‌ترین مقادیر آن در بالاترین سطح تنش (۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیترات کادمیوم) دیده شد. براساس دست‌آوردهای این پژوهش در شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم استفاده از قارچ‌های میکوریزا تأثیر به‌سزایی در بهبود اثرات مضر آن در گیاه گشنیز داشت، به‌طوری‌که باعث کاهش جذب کادمیوم و اصلاح شاخص خطر و سلامت برای مصرف‌کنندگان شد. با توجه به جذب بالای عناصر سنگین به‌ویژه کادمیوم توسط این گیاه و با وجود آلودگی جزئی اکثر خاک‌ها به عناصر سنگین از جمله کادمیوم، استفاده از قارچ‌های میکوریزا به‌عنوان راهکاری مدیریتی در مناطق آلوده به این

فلز سنگین توصیه می‌شود. در نهایت، طبق نتایج این پژوهش کاربرد قارچ *mosseae Glomus* جهت بهبود رشد و شاخص خطر و سلامت گشنیز در راستای کشاورزی ارگانیک توصیه می‌شود.

#### منابع

1. Alloway BJ. Heavy Metals in Soil. New York: J Wiley and Sons Inc. 2010; pp. 20-28.
2. Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. J Plant Physiol Biochem. 2010; 48(12): 909-930.
3. Jiawen WU, Jia G, Yanhong HU, Haijun G. Distinct physiological responses of tomato and cucumber plants in silicon-mediated alleviation of cadmium stress. J Plant Sci. 2015; 453: 1-14.
4. Fang Y, Sun X, Yang W, Ma N, et al., Concentrations and health risks of lead, cadmium, arsenic, and mercury in rice and edible mushrooms in China. Food Chem. 2014; 147:147-151.
5. Mahdavian K, Ghaderian SM, Schat H. Pb accumulation, Pb tolerance, antioxidants, thiols, and organic acids in metallicolous and non-metallicolous *Peganum harmala* L. under Pb exposure. Environ Exp Bot. 2016; 126: 21-31.
6. Pourrut B, Shahid M, Dumat C, Winterton P, et al., Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. Rev Environ Contam Toxicol. 2011; 213: 113-136.
7. White PJ, Brown PH. Plant nutrition for sustainable development and global health. Ann Bot. 2010; 105(7): 1073-1080.
8. Nikolic N, Kogic D, Pilipovic, A, Pajivic S, et al., Responses of hybrid poplar to cadmium stress photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation and antioxidant enzyme activity. Acta Biol Cracoviensla Series Bot. 2008; 50(2): 95-103.
9. Rasouli-Sadaghiani MH, Barin M, Khodaverdiloo H, Moghaddam SS, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria promote growth of Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.) in a Cd-contaminated soil. J Plant Growth Regul. 2019; 38(1): 113-121.
10. Schutzenhubel A, Schwanz P, Teichmann T, Gross K, et al., Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots. Plant Physiol. 2001; 127(3): 887-898.
11. Davey MWE, Stals B, Panis J, Keulemans RL. High throughput determination of malonaldehyde in plant tissues. Anal Biochem. 2005; 347(2): 201-207.
12. Zafar S, Aqil F, Ahmad E. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. Bioresour Technol. 2007; 98(13): 2557-2561.
13. Yang Y, Han X, Liang Y, Ghosh A. et al., The combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and lead (Pb) stress on Pb accumulation, plant growth parameters, photosynthesis, and antioxidant enzymes in *Robinia pseudoacacia* L. Plos One. 2015; 10(12): 1-24.
14. Smith SE, Read DJ. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. 2010; pp. 800.
15. Ryan NA, Deliopoulos T, Jones P, Haydock PP. Effects of mixed-isolate mycorrhizal inoculums on the potato – potato cyst nematode interaction. Wiley online Library. 2003; 143(1): 111-119.

16. Sadat A, Savabeghi G, Rejali F, farahbakhsh M. et al., Effects of some arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria on the growth and yield indices of two wheat varieties in a saline soil. J Water and Soil. 2010; 24 (1): 53-62.
17. Turkdogan MK, Kilicel F, Kara K, Tuncer I, et al., Heavy metals in soil, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. Environ Toxicol Pharmacol. 2003; 13(3): 175-79.
18. Cortes E, Sandra J, Javier J. Antimutagenicity of coriander (*Coriandrum sativum*) juice. Toxicol Lett. 2004; 153(2): 283-291.
19. Gurra NB, Melo EA, Filho JM. Antioxidant compounds from coriander (*Coriandrum sativum*) ethe. J. ric extract. Food Compost Anal. 2005; 18: 193-199.
20. Demir S. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turk J Biol. 2004; 28(2-4): 85-90.
21. Tabrizi L, Mohammadi S, Delshad M. Moteshare Zadeh B. The Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) under lead and cadmium stress. J Environ Sci Int. 2015; 13(2), 37-48.
22. Mohammadi S, Tabrizi L, Delshad M, Moteshare Zadeh B. Investigation of growth and yield of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under arbuscular mycorrhizal fungi symbiosis and heavy metal stress conditions. Ecol Agric. 2013; 3(2), 48-59.
23. Philips JM, Hayman DS. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular\_arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans Br Mycol Soc. 1970; 55(1):158–161.
24. Bierman B, Linderman RG. Quantifying vesicular – arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization. New Phytol. 1980; 87:63 – 67.
25. Gapinska M, Skłodowska M, Gabara B. Effect of short-and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. Acta Physiol Plant. 2008; 30(1): 11-18.
26. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72(1-2): 248-254.
27. Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P, Thorpe TA. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. J Exp Bot. 1976; 32(1): 93-101.
28. Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 1981; 22(5):867-880.
29. Plewa MJ, Smith SR, Wagner ED. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutat Res-Fund Mol Mech Mut. 1991; 247(1): 57-64.
30. Kar M, Mishra D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiol. 1976; 57(2): 315-319.
31. Davey MWE, Stals B, Panis J, Keulemans RL. High throughput determination of malon dialdehyde in plant tissues. Anal Biochem. 2005; 347(2): 201-207.
32. US-EPA. United States Environmental Protection Agency: Integrated Sisk Information System. 2002

33. Krpata D, Fitz W, Peintner U, Langer I, et al., Bioconcentration of zinc and cadmium in ectomycorrhizal fungi and associated aspen trees as affected by level of pollution. *Environ Pollut.* 2009; 157(1): 280-286.
34. Michaelis A, Takehisa R, Aurich O. Ammonium chloride and zinc sulfate pretreatments reduce the yield of chromatid aberrations induced by TEM and maleic hydrazide in *Vicia faba*. *Mutat Res Lett.* 1986; 173(1986): 187-191.
35. Khalvati MA, Mozafar A, Schmidhalter U. Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biol Stuttgart.* 2005; 7(6): 706-712.
36. Shahabivand S, Maivan HZ, Goltapeh EM, Sharifi M, et al., The effects of root endophyte and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and cadmium accumulation in wheat under cadmium toxicity. *Plant Physiol Biochem.* 2012; 60: 53-80.
37. Sadat Shamshirgan Z, Saeid Nematpour F, Safipour Afshar A. Effect of mycorrhizal symbiosis on growth, some physiological parameters and cadmium accumulation in black seed (*Nigella sativa* L.). *J Plant Process Funct.* 2015; 5(17): 133-144.
38. Ardakani MR, Majd F, Noormohammadi G. Evaluating the efficiency of mycorrhiza and esterpetomysis in phosphorous different levels and effect of their utilize on wheat yield. *J Agron Sci.* 2006; 2 (2): 17-27.
39. Samarbakhsh S, Rejali F, Ardakani MR, Pak Nejad M, et al., The combined effects of fungicides and Arbuscular Mycorrhiza on corn (*Zea mays* L.) growth and yield under field conditions. *J Biol Sci.* 2009; 9(4): 372-376.
40. Bolandnazar SA. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth parameters yield and water relation of onion (*Allium cepa* L.). Ph.D. thesis at Tabriz University of Tabriz. 2007.
41. Andrade SAL, Abreu CA, de Abreu MF, Silveria APD. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and Rhizobium symbioses under soybean. *Appl Soil Ecol.* 2004; 26(2): 123-131.
42. Daneshfar AM, AliAsgharzad N, Ostan Sh, Khoshroo B. 2017. The Role of Rhizophagus irregularis to alleviate Pb absorption by sunflower. *Agric Sci Sustain Prod.* 2004; 28(1): 37-50.
43. Mahohi A, Raiesi F. The efficiency of earthworms and rhizobacteria on mycorrhizal symbiosis and growth of three plant species in a soil contaminated with Lead (Pb) metal. *J. Water and Soil Conserv.* 2018; 25(3): 97-112.
44. Khudsar T, Mahmood Uzzafar M, Iqbal M. Cadmium induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in (*Cajanus cajan*). *Biol.* 2001; 44: 59-64.
45. Tagharobiyani M, Poozesh V, Khorshidi M. Influence of nickel on the indices of growth and content of photosynthetic pigments, protein, soluble sugar, proline and nickel accumulation in coriander. *Appl Res Plant Ecophysiol.* 2016; 2(2): 59-74.
46. Riahi-Madvar A, Nasiri-Bezenjani MA, Yousefi K, Mohammadi M. Investigation of the Ability of *Lepidium draba* L. Seedlings in Zinc and Silver Ions Absorption and Effect of the Ions on Morphological and Biochemical Characteristics of the Seedlings. *J Cell and Tissue.* 2015; 6(1): 59-70.

47. Gonzalez-Guerrero M, Azcon-Aguilar C, Mooney M, Valderas A. et al., Characterization of a *Glomus intraradices* gene encoding a putative Zn transporter of the cation diffusion facilitator family. *Fungal Genet Biol.* 2005; 42(2): 130-140.
48. Hendry GAF, Baker AJM, Ewart CF. Heavy metal tolerance and toxicity, oxygen radical processes and molecular damage in cadmium tolerant clones of *Holcus lanatus* L. *Acta Bot Neerl.* 1992; 41: 271-281.
49. Dixi V, Pandey V, Shyam R. Differential antioxidative responses to heavy metal in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. CV. Azad). *J Exp Bot.* 2001; 52: 1101-1109.
50. Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Vanbreusegem F. Reactive oxygen network of plants. *Trends Plant Sci.* 2004; 9(10): 490-498.
51. Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinert in abiotic stress in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 2010; 48(12): 909-30.
52. Sharma A, Jha AM, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plant under stressful conditions. *J Bot.* 2012; 2012: 26: 1-26.
53. Shah K, Kumar RG, Verma S, Dubey R. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.* 2001; 161(6): 1135-1144.
54. Younesi O, Moradi A, Namdari A. Influence of arbuscular mycorrhiza on osmotic adjustment compounds and antioxidant enzyme activity in nodules of salt-stressed soybean (*Glycine max*). *Acta Agric Slov.* 2013; 101(2), 219-230.
55. Tang C, Song J, Hu X, Hu X. et al., Exogenous spermidine enhanced Pb tolerance in *Salix matsudana* by promoting Pb accumulation in roots and spermidine, nitric oxide, and antioxidant system levels in leaves. *Ecol Eng.* 2017; 107: 41-48.
56. Zhang LL, Zhu XM, Kuang YW. Responses of *Pinus massoniana* seedlings to lead stress. *Biol Plantarum.* 2017; 61(4): 785-790.
57. Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.* 2010; 33(4): 453-467.
58. Ortiz N, Armada E, Duque E, Roldan A. et al., Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. *J Plant Physiol.* 2015; 174: 87-96.
59. Andrade SA, Gratao PL, Azevedo RA, Silveira AP. et al., Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. *Environ Exp Bot.* 2010; 68(2): 198-207.
60. Amiri Deh Ahmadi SR, Parsa M, Nezami, A, Ganjeali A. The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. *Iran Journal Pulses Res.* 2011; 1(2): 69-84.
61. Marie O. Alteration in lipid composition and antioxidative protection during senescence in drought stressed plants and non-drought stressed plants of *Pisumsativum* L. *Plant Physiol Biochem.* 1995; 33: 547-53.
62. Valentiova K, Haluskova L, Huttova J, Mistrik I, Tamas L. Effect of cadmium on diaphorase activity and nitric oxide production in barley root tips. *J Plant Physiol.* 2010; 167: 10-14.

63. Balouchzahi Shahbakhsh Z. Effects of mycorrhiza fungi on some morphological and physiological characteristics of *Borage officinalis* under nickel and chromium stress. MS thesis. Zabol University of Zabol. 2017.
64. Heikham E, Rupam K, Bhoopander G. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Ann Bot.* 2009; 104(7): 1263-1280.
65. Pan J, Wang Q, Snell WJ. Ciliugenerated signaling and ciliarelated disorders. *Lab Invest.* 2005; 85(4):452-463.
66. Khan M, Daud MK, Basharat A, Khan MJ. et al., Alleviation of lead-induced physiological, metabolic, and ultramorphological changes in leaves of upland cotton through glutathione. *Environ Sci Pollut Res.* 2016; 23: 8431-8440.
67. Gunes A, Inal A, Alpaslan M, Eraslan F. et al., Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *J Plant Physiol.* 2007; 164(6): 728-736.
68. Chen J, Zhu C, Lin D, Sun ZX. The effects of Cd on lipid peroxidation, hydrogen peroxide content and antioxidant enzyme activities in Cd-sensitive mutant rice seedlings Canadian. *J Plant Sci.* 2007; 87(1): 49-57.
69. Bafeel S. Physiological and biochemical aspects of tolerance in *Lepidium sativum* (cress) to lead toxicity. *Catrina: Int J Environ Sci.* 2010;5(1): 1-7.
70. Muchuweti M, Birkett JW, Chinyanga E, Zvauya R. et al., Heavy metal content of vegetables irrigated with mixtures of wastewater and sewage sludge in Zimbabwe: Implications for human health. *Agric Ecosyst Environ.* 2006; 112(1): 41-48.
71. Mohammadi J. Cadmium concentration in vegetable crops grown in polluted soils of Kempen region (Belgium). *Fourth National Conference on Environmental Health.* 2001; 528-535.
72. Apau J, Acheampong A, Appiah JA, Ansong E. Levels and health risk assessment of heavy metals in tubers from markets in the Kumasi metropolis, Ghana. *Int JSci Technol.* 2014; 3(9): 534-539.
73. Mahmood A, Malik RN. Human health risk assessment of heavy metals via consumption of contaminated vegetables collected from different irrigation sources in Lahore, Pakistan. *Arab J Chem.* 2014; 7(1): 91-99.
74. Gupta N, Khan DK, Santra SC. Heavy metal accumulation in vegetables grown in a long term waste water irrigated agricultural land of tropical India. *Environ Monit Assess.* 2012;184(11): 6673-6682.
75. Babaakbari Sari M, Shakouri M, Hasani A. Assessing heavy metals risk indices caused by vegetable consumption in Varamin city. *Electron J Soil Manag Sustain Prod.* 2019; 9(1): 119-133.
76. Nazem S, Asgari AR, Raei M. Surveythe amount of heavy metals in cultural vegetables in suburbs of Shahroud. *J Health and Environ.* 2010; 3(2): 195-202.

## The effect of cadmium toxicity on health and risk index, coexistence and activity of some coriander antioxidant enzymes inoculated with Mycorrhiza fungi

Mohammadifard F, M.Sc., Moghaddam M, Ph.D.\*

- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

\* Email corresponding author: m.moghadam@um.ac.ir, moghaddam75@yahoo.com

Received: 7 Apr. 2019

Accepted: 5 Jul.2020

---

### Abstract

**Aim:** The aim of this study was to investigate the effects of inoculation of two species of mycorrhizal fungi on growth, colonization percentage, antioxidant enzymes activity, health and risk index of coriander under cadmium stress.

**Material and methods:** A pot experiment was conducted in a completely randomized design with 2 factors and 3 replications in the research greenhouse of the Department of Horticultural Science and Landscape Engineering at the Ferdowsi University of Mashhad in 2018. The first factor was cadmium nitrate at 4 levels of 0, 20, 40, and 80 mg kg<sup>-1</sup> soil and the second factor was mycorrhiza application at 3 levels of non-inoculation, inoculation with *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*.

**Results:** The results showed that with increasing cadmium concentration in the soil, the shoot and total biomass of plant, leaf area, number of seeds, 1000 seeds weight, colonization percentage, soluble protein, catalase, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase, and polyphenol oxidase activities were significantly decreased in coriander. But malondialdehyde content, health and risk index increased. However, the use of mycorrhizal fungi reduced the harmful effects of cadmium in the plant. This resulted in a decrease of 47.1% of the risk and health index and 17.2% of malondialdehyde in the plant.

**Conclusion:** According to the findings, use of mycorrhizal fungi had a significant effect on the improving of harmful effects of cadmium in coriander, thus improved the risk and health index for consumers. Therefore, using mycorrhizal fungi as a management strategy in polluted areas with this heavy metal is recommended.

**Keywords:** Biomass, Colonization, Guaiacol peroxidase, Leaf area