دو فصلنامه
بیوتکنولوژی و میکروبیولوژی کاربردی
سال پنجم، شماره ۱ و ۲، بهار و تابستان ۱۳۹۵

مقایسه اثرات همزیستی دو سویه میکوریزا بر توان گیاه‌پالایی سرب بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

مجتبی یوسفی‌راد[1*]، محسن اصغری[1]، ابوالفضل معصومی زواریان[2]، حمزه فضل‌الهی[1]

[1] گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
[2] دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، ساوه، ایران

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر همزیستی بادرنجبویه و میکوریزا در گیاه‌پالایی سرب به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های‌کامل تصادفی در سه تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. فاکتورهای تحقیق شامل غلظت نیترات سرب در ۳ سطح صفر (شاهد)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک و تلقیح گیاهان با مایکوریزا شامل عدم تلقیح، تلقیح با سویه *Glomus mosseae* و تلقیح با سویه *Glomus intraradices* بود. صفات مورد بررسی شامل ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، غلظت سرب ریشه و اندام هوایی، محتوای سرب ریشه و اندام هوایی و فاکتور انتقال بودند. بر اساس نتایج تحقیق، آلودگی سرب سبب کاهش ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و اندام هوایی شد، همچنین با افزایش غلظت سرب خاک تا ppm ۱۰۰، غلظت و محتوای آن در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت، اما با افزایش سرب خاک از ۱۰۰ به ppm ۲۰۰، غلظت آن در اندام هوایی و همچنین فاکتور انتقال کاهش داشتند. تلقیح میکوریزایی بادرنجبویه باعث بهبود ارتفاع و وزن خشک ریشه و اندام هوایی، غلظت و محتوای سرب در ریشه و اندام هوایی و فاکتور انتقال شد. البته تاثیرسویه *Glomus mosseae* بیشتر از سویه *Glomus intraradices* در گیاه بادرنجبویه بود. نتایج تحقیق نشان داد بادرنجبویه یک گیاه بیش‌اندوز سرب نبود ولی کاربرد میکوریزا موجب افزایش بردباری بادرنجبویه و گیاه‌پالایی سرب شد.

واژه‌های کلیدی: بادرنجبویه، غلظت سرب، فاکتور انتقال، بیش اندوز، تلقیح میکوریزایی

مقدمه

در بین گیاهان دارویی، بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی است معطر، علفی و چندساله که خاستگاه اصلی آن شرق مدیترانه بوده و از راسته نعناسانان (Lamiales) و تیره نعنائیان (Lamiaceae) می‌باشد (۱). بادرنجبویه بومی جنوب اروپا، آسیای صغیر و بخش‌های جنوبی آمریکای شمالی است. همچنین جمعیت‌های بادرنجبویه در تمام کشورهای

* مسئول مکاتبات: m.yousefirad@iau-saveh.ac.ir

مدیترانه‌ای شامل مناطق ساحلی ترکیه و شمال ایران پراکندگی دارند (۲).

آلودگی‌های حاصل از فلزات سنگین از جمله کادمیوم، سرب، آرسنیک و جیوه، در محیط زیست به شدت در حال گسترش می‌باشد و زندگی موجودات را تحت تاثیر قرار داده است (۳). بیشترین مقدار فلزات سنگین از طریق استفاده از لجن فاضلاب و مواد زائد در خاک‌های کشاورزی و نیز در نتیجه فعالیت‌های صنعتی انسان نظیر رنگ‌سازی، کارخانجات سیمان، لاستیک‌سازی، تولید کودها از خاک فسفات، سوخت خودرو و صنایع ذوب فلز وارد خاک می‌گردد (٤). آلودگی خاک‌ها به سرب یکی از مشکلات بزرگی است که کشورهای در حال توسعه و صنعتی با آن رو به رو هستند (۵). سرب عنصری ضروری برای رشد و نمو گیاه نمی‌باشد، اما توسط گیاهان جذب می‌شود و گیاه در معرض آلودگی به آن قرار می‌گیرد. در این حالت افزون بر آسیب‌هایی که به خود گیاه می‌رساند انسان‌ها و دام‌هایی که از این گیاه تغذیه می‌کنند نیز در خطر آلودگی به سرب قرار می‌گیرند (٦). آلودگی سرب سبب بروز مشکلات فراوانی برای گیاهان از جمله کاهش وزن ریشه و اندام هوایی، مهار جوانه‌زنی، القای کلروز و نکروز برگ، تغییر رنگ و سوبرینی شدن ریشه می‌شود (۷و۸). زمانی که سرب توسط گیاه جذب می‌گردد، جابجایی آن به قسمت‌های هوایی گیاه بسیار آهسته صورت می‌پذیرد و بیشترین مقدار سرب در ریشه تجمع می‌یابد (۹). نتایج متشرع‌زاده و ثواقبی (۱۳۹۰) نشان داد که جذب سرب در ریشه بیشتر از اندام هوایی در آفتابگردان بود، همچنین میزان سرب موجود در اندام‌های گیاهی از غلظت قابل جذب این عناصر در خاک تبعیت می‌کرد و با افزایش غلظت سرب قابل جذب در خاک، غلظت آن در گیاه نیز افزایش یافت(۱۰).

در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، حضور میکروارگانیسم‌هایی مانند قارچ‌های میکوریزا در ریزوسفر، می‌تواند فراهمی و سمیت فلزات سنگین را برای گیاه تغییر دهد و از این طریق نقش مهمی در گیاه-پالایی داشته باشد (۱۱). میکوریزا نقش اکولوژیک قابل توجهی در تثبیت فلزات سنگین توسط گیاه در خاک‌های آلوده به این فلزات با ایجاد کمپلکس، ایفا می‌کند و به نوبه خود به بقای گیاهان میکوریزی کمک می‌کند. از طرف دیگر، برخی گزارش‌ها حاکی از افزایش جذب فلزات سنگین توسط گیاهان میکوریزی است که در این صورت از جهت استخراج فلزات از خاک توسط گیاه حایز اهمیت بوده و برای اصلاح خاک‌های آلوده مفید خواهد بود (۱۲). میکوریزا رشد و سلامتی گیاه را به وسیله بهبود تغذیه معدنی و یا افزایش بردباری به تنش‌های فلزات سنگین بهبود می‌بخشند (۱۳). مشاهده شده است که تلقیح میکوریزی سویا، موجب تحریک رشد و افزایش سرعت جذب مواد غذایی گردید، همچنین جذب بهتر سرب توسط گیاهان تلقیح شده با میکوریزا، سبب تولید اندام‌های هوایی با غلظت‌های کمتر سرب در غلظت‌های بالای سرب اضافه شده به خاک شد (١٤). اما نتایج تحقیق دیگری نشان داد که گیاهان شبدر و ذرت میکوریزی شده نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی دارای سرب بیشتری در ریشه و اندام هوایی بودند (۱۵). همچنین گزارش شده همزیستی میکوریزی تجمع سرب در بخش هوایی و ریشه گیاهان را به طور معنی‌داری افزایش داد. همینطور در غلظت‌های بالای سرب، همزیستی

میکوریزی می‌تواند رشد گیاهان را بر اثر افزایش جذب فسفر و کاهش سمیت سرب از طریق کمپلکس کردن سرب در ریشه گیاهان مورد مطالعه، افزایش دهد (۱۶). بر اساس نتایج پژوهشگران تلقیح سورگوم با میکوریزا انتقال سرب به بخش هوایی را به طور معنی‌داری کاهش داد. همچنین در سطوح بالای سرب تلقیح میکوریزا سبب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک گیاه و سطح برگ در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی شد (۱۷). محققان افزایش چشمگیر عملکرد گیاه باقلا در خاک‌های آلوده به سرب را در اثر تلقیح با میکوریزا گزارش کرده‌اند (۱۸). در تحقیقی دیگر بیان شد با افزایش غلظت سرب در خاک، رشد گیاه کاهش و غلظت سرب در گیاه افزایش یافت و کاربرد میکوریزا موجب افزایش رشد گیاه، جذب و انتقال سرب شد (۱۹).

آلودگی محیط زیست یکی از مشکلاتی است که جوامع بشری با آن روبرو هستند. در دهه‌های اخیر، افزایش بی‌رویه فعالیت‌های بشر در زمینه صنعت و استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی در بخش کشاورزی، افزایش مقدار فلزات سنگین در محیط زیست را در پی داشته است. همزیستی گیاه با میکوریزا در خاک‌های آلوده به سرب می‌تواند رشد، تغذیه و مقاومت گیاه به فلزات سنگین را تحت تأثیر قرار داده و نقش مهمی در گیاه‌پالایی داشته باشد، لذا این تحقیق با هدف بررسی تأثیر همزیستی بادرنجبویه و میکوریزا در گیاه‌پالایی سرب صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل غلظت نیترات سرب در ۳ سطح صفر (شاهد)، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm در هر کیلوگرم خاک و تلقیح گیاهان با مایکوریزا شامل عدم تلقیح گیاهان، تلقیح با سویه *Glomus mosseae* و سویه *Glomus intraradices* بود. خصوصیات خاک مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

در این آزمایش از گلدان‌های ۱۸ کیلوگرمی استفاده شد. برای آماده سازی خاک گلدان‌ها، ابتدا خاک آزمایش با مقداری کود حیوانی پوسیده و ماسه مخلوط گردید. همچنین کود حیوانی پوسیده (به‌میزان ۱۰ درصد) قبل از کاشت به گلدان ها اضافه شد و همچنین کود مایع میکرو و ماکرو به‌میزان ۱ در هزار و ۱/۵ در هزار، برای بهبود وضعیت تغذیه ای گیاهان استفاده شد. سپس نیترات سرب به میزان ۱ و ۲ گرم برای اعمال تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm برای هر کیلوگرم خاک به گلدان‌ها اضافه شد. روش آلوده‌سازی خاک گلدان‌ها بدین صورت انجام شد که ابتدا نیترات سرب مورد نیاز برای هر گلدان در مقدار آبی حل گردید که جهت رساندن خاک یک گلدان به ظرفیت زراعی نیاز است. البته خاک هر گلدان در

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

بافت	شن (٪)	ماسه (٪)	رس (٪)	K (ppm)	P (ppm)	Total N (٪)	O.C (٪)	T.N.V (٪)	pH	EC (ds/m)
لوم ماسه	٦٦	٢٤	١٠	٣١٢	١٠/٣	٠/٠٥	٠/٥٨	١٣/٢	٧/٨	٣/٤

یک نایلون گسترده شده بود تا آب آلوده شده به طور یکنواخت به آن اضافه گردد. سپس برای تثبیت فلز در خاک، خاک‌های هر گلدان در نایلون‌هایی مجزا به مدت ۳ هفته نگه داشته شدند. پس از این مدت، خاک‌ها به گلدان‌ها منتقل شدند. برای تلقیح با میکوریزا، ٦٠ گرم از مایه تلقیح هر یک از سویه‌های *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* به گلدان‌ها اضافه گردید. به این ترتیب که پس از پر کردن گلدان‌ها، حدود ۵ سانتی‌متر از لایه رویی خاک برداشته و مایه تلقیح را به صورت یک لایه به خاک اضافه شد وسپس گلدان‌ها از خاک پر گردید. در محل قرار گرفتن بذر نیز مقداری مایه تلقیح ریخته شد. مایه تلقیح حاوی ۵۰ اسپور در هر میلی گرم مایه تلقیح بود. در نهایت برای هر گلدان تعداد ۵۰ بذر با عمق ۰/۵ سانتی‌متر کاشته و بلافاصله آبیاری شد. با توجه به بافت خاک و دمای هوا تا زمان جوانه‌زنی سطح خاک خیس نگاه داشته شد و پس از جوانه‌زنی و استقرار گیاه آبیاری هر ۲ روز صورت پذیرفت. گلدان ها در مرحله ٤-۲ برگی تنک شدند. پس از حدود ۹۰ روز از کاشت، نمونه‌برداری برای تعیین صفات مورد بررسی انجام گردید. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، عصاره‌گیری به روش هضم خشک با اسید کلریدریک انجام شد. غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی با دستگاه جذب اتمی مدل (Analytic Jena, Contera AA300) اندازه‌گیری شد (۲۰). محتوای سرب ریشه و اندام هوایی از طریق حاصلضرب غلظت سرب ریشه و اندام هوایی در وزن خشک اندام‌های ذکر شده محاسبه شد و بر حسب میلی‌گرم در گیاه بیان شد. فاکتور انتقال با نسبت غلظت عنصر در اندام هوایی به غلظت عنصر در ریشه محاسبه شد (۲۱). فاکتور تمرکز در ریشه (BCF) و اندام هوایی (BAC) با استفاده از فرمول زیر در هرگیاه و در هر سطح فلز سنگین اندازه گیری شد(۲۲).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

ارتفاع بوته: اثر اصلی سرب و میکوریزا در سطح احتمال یک درصد بر ارتفاع بوته معنی‌دار شدند(جدول ۲). با افزایش سرب، ارتفاع بوته کاهش پیدا کرد به طوری که کمترین ارتفاع بوته با کاهش ٤٤/٤ درصدی نسبت به تیمار شاهد در تیمار ppm ۲۰۰ سرب به دست آمد. همچنین تلقیح میکوریزا موجب افزایش ارتفاع بوته شد، به نحوی که بیشترین ارتفاع بوته با افزایش ۷۳/٦۲ درصدی مربوط به تیمار *Glomus mosseae* بود (جدول ۳). نتایج حاکی از آن بود که اثر متقابل سرب با میکوریزا تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع بوته نداشت، با این حال تلقیح میکوریزا در شرایط عدم حضور و حضور سرب سبب افزایش ارتفاع بوته شد، به گونه‌ای که در تیمار عدم حضور و حضور ppm ۱۰۰ سرب با سویه *Glomus mosseae* بیشترین افزایش را نشان داد و در حضور ppm ۲۰۰ بین سویه‌های استفاده شده تفاوت معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نشد (جدول ٤).

وزن خشک ریشه: نتایج نشان داد که اثرات سرب و میکوریزا در سطح احتمال یک درصد بر وزن خشک ریشه معنی‌دار شدند(جدول ۲). با افزایش سرب، وزن خشک ریشه به صورت خطی

کاهش یافت، به طوری که کمترین وزن خشک ریشه در تیمار ppm ۲۰۰ سرب حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد به میزان ٤٧/٠٦ درصد کاهش یافته بود. تلقیح میکوریزا افزایش وزن خشک ریشه را سبب شد به گونه‌ای که در تلقیح با سویه *Glomus mosseae* بیشترین افزایش به میزان ٣٧/٣٦ درصد را نشان داد(جدول ۳). بر اساس نتایج به دست آمده اثر متقابل سرب با میکوریزا بر وزن خشک ریشه معنی-دار نشد، اما در تیمارهای عدم مصرف و مصرف سرب، تلقیح میکوریزا موجب افزایش وزن خشک ریشه نسبت به شرایط عدم تلقیح شد. البته در عدم مصرف و مصرف ppm ۱۰۰ سرب بین سویه‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری رؤیت نگردید ولی در تیمار ppm ۲۰۰ سرب، تلقیح با سویه *Glomus mosseae* وزن ریشه بیشتری نسبت به سویه *Glomus intraradices* دیده شد(جدول ٤).

وزن خشک اندام هوایی: نتایج تجزیه واریانس مبین آن بود که اثر سرب و میکوریزا در سطح احتمال یک درصد و اثرمتقابل آنها در سطح احتمال پنج درصد بر روی وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار بودند(جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین بیانگر آن بود که با افزایش سرب در خاک، وزن خشک اندام هوایی تقلیل یافت بطوری‌که بیشترین کاهش به میزان ٥٥/٤٣ درصد مربوط به تیمار ppm ۲۰۰ سرب بود. همچنین تلقیح میکوریزا سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی نسبت به شرایط هدم تلقیح شد و بیشترین افزایش در تلقیح با سویه *Glomus mosseae* به میزان ٧١/٨١ درصد حاصل گردید (جدول ۳). نتایج نشان داد که در عدم حضور سرب سویه *Glomus mosseae* موجب افزایش ٩/٨٦ درصدی وزن خشک اندام هوایی شد ولی سویه *Glomus intraradices* تأثیر معنی‌داری نداشت. همچنین در حضور ppm ۱۰۰ و ۲۰۰ سرب، تلقیح میکوریزایی موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی شد و سویه *Glomus mosseae* بیشترین تأثیر را در افزایش وزن خشک اندام هوایی نشان داد(جدول ٤).

غلظت سرب ریشه و اندام هوایی: نتایج به دست آمده مشخص کرد که اثر سرب، میکوریزا و اثر متقابل‌شان در سطح احتمال یک درصد بر غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی معنی‌دار بودند(جدول ۲). بیشترین غلظت سرب ریشه در تیمار ppm ۲۰۰ سرب و بیشترین غلظت سرب در اندام هوایی در تیمار ppm ۱۰۰ سرب به دست آمد. همینطور در تلقیح میکوریزایی بیشترین غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی مربوط به سویه*Glomus mosseae* بود (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر سرب و میکوریزا مشاهده شد در تیمارهای ppm ۱۰۰ و ۲۰۰ سرب، تلقیح میکوریزایی منجر به افزایش جذب سرب شد، به طوری که بیشترین غلظت سرب در تلقیح با سویه *Glomus mosseae* دیده شد، همچنین بیشترین غلظت سرب ریشه مربوط به تلقیح سویه *Glomus mosseae* در حضور ppm ۱۰۰ سرب و بیشترین غلظت سرب اندام هوایی مربوط به تلقیح سویه *Glomus mosseae* در حضور ppm ۱۰۰ و ۲۰۰ سرب بود (جدول ٤).

محتوای سرب ریشه و اندام هوایی: نتایج تجزیه واریانس بیانگر آن بود که اثر سرب، میکوریزا و اثر متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد بر محتوای سرب ریشه و اندام هوایی معنی‌دار شدند(جدول ۲). با افزایش سرب و کاربرد میکوریزا محتوای سرب

اندام‌های گیاهی نیز افزایش یافت به گونه‌ای که محتوای سرب ریشه در سطوح ppm ۱۰۰ و ۲۰۰ سرب در یک گروه آماری قرار داشتند و محتوای سرب اندام هوایی در تیمار ppm ۱۰۰ سرب بیشترین محتوای را نشان داد، همچنین تلقیح با سویه *Glomus mosseae* بیشترین افزایش محتوای سرب در ریشه و اندام هوایی را موجب گردید(جدول ۳). بیشترین محتوای سرب ریشه به میزان ۱ و ۱/۱٦ میلی‌گرم مربوط به سویه *Glomus mosseae* در حضور ppm ۱۰۰ و ۲۰۰ سرب و بیشترین محتوای سرب اندام هوایی مربوط به سویه *Glomus mosseae* در حضور ppm ۱۰۰ سرب بود (جدول ٤).

فاکتور انتقال: اثر سرب در سطح احتمال یک درصد بر فاکتور انتقال معنی‌دار بود(جدول ۲) و بیشترین فاکتور انتقال در تیمار ppm ۱۰۰ حاصل شد (جدول ۳). اثر میکوریزا در سطح احتمال پنج درصد بر فاکتور انتقال معنی‌دار بود(جدول ۲) و بیشترین فاکتور انتقال در سویه *Glomus intraradices* به دست آمد (جدول ۳). اثر متقابل سرب با میکوریزا بر فاکتور انتقال تأثیر معنی‌داری نداشت ولی بیشترین فاکتور انتقال مربوط به تیمار سویه*Glomus mosseae* در حضور ppm ۱۰۰ سرب بود (جدول ٤). با افزایش سرب خاک از ۱۰۰ به ۲۰۰ ppm فاکتور انتقال کاهش یافت که نشان از ناتوانی گیاه در افزایش جذب، با وجود افزایش سرب خاک بود. همچنین کوچک‌تر از واحد بودن فاکتور انتقال، و غلظت بیشتر سرب در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی نشان داد این گیاه توانایی مناسبی در انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی نداشت. همچنین کمتر بودن غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی نسبت به خاک، نشان داد بادرنجبویه در انتقال سرب به ریشه و اندام هوایی ضعیف می‌باشد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر همزیستی بادرنجبویه و میکوریزا در گیاه‌پالایی سرب

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	غلظت سرب ریشه	غلظت سرب اندام هوایی	محتوای سرب ریشه	محتوای سرب اندام هوایی	فاکتور انتقال
بلوک	۲	*۲۹/۹۸	**۰/۵۹	^{ns}۰/۰۹	^{ns}۰/۰۰۱	^{ns}۰/۰۰۰۰٤	^{ns}۰/۰۳	^{ns}۰/۰۰۲	^{ns}۰/۹۹
سرب	۲	**۲٦۷/۹	**٦/۹۳	**۸/۵۳	**۰/۲۱	**۰/۰۳	**۱/۰٦	**۰/۱٦	**٤۸۵٦/٤۵
میکوریزا	۲	**۲۲۲/۹۸	**۳/۹۳	**٤/۲۸	**۰/۰٦	**۰/۰۱	**۰/۸۲	**۰/۱	*۲٦۸/٦۵
سرب*میکوریزا	٤	^{ns}٤/۲٤	^{ns}۰/۰٦	*۰/۲٤	**۰/۰۲	**۰/۰۰۳	**۰/۲۱	**۰/۰٤	^{ns}۸٤/۳۷
خطا	۱٦	۵/۹۸	۰/۰۵	۰/۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۹	۰/۰۱	۰/۰۰۱	٦۷/٦٦
%CV		۱۳/۰٦	۸/٤٦	۱۰/۲۹	۱۸/۷	۱۵/٤٤	۲٦/٦۳	۲۳/۵۷	۳۳/۱٤

* و** به ترتیب تأثیر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد ns: عدم تأثیر معنی‌داری

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی همزیستی بادرنجبویه و میکوریزا در گیاه‌پالایی سرب

تیمار	ارتفاع بوته (cm)	وزن خشک ریشه (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)	غلظت سرب ریشه (ppm)	غلظت سرب اندام هوایی (ppm)	محتوای سرب ریشه (mg)	محتوای سرب اندام هوایی (mg)	فاکتور انتقال (٪)
سرب (ppm)								
(P0) ۰	۲٤/٤٦ a	۳/٦ a	۳/٥ a	۰ c	۰ c	۰ b	۰ c	۰ c
(P1) ۱۰۰	۱۸/۱۳ b	۲/٤۷ b	۲/۳۷ b	۰/۲۱ b	۰/۱ a	۰/٥٦ a	۰/۲٦ a	٤٦/۰٤ a
(P2) ۲۰۰	۱۳/٦ c	۱/۸۷ c	۱/٥٦ c	۰/۳ a	۰/۰۸ b	۰/٦۲ a	۰/۱٤ b	۲۸/٤۳ b
میکوریزا								
عدم مصرف (M_0)	۱۳/۳۸ c	۱/۹۳ c	۱/۸۸ c	۰/۱ c	۰/۰۳ c	۰/۱۳ c	۰/۰٤ c	۱۹/٤٦ b
(M_1) *Glomus mosseae*	۲۳/۲۳ a	۳/۲۳ a	۳/۲۳ a	۰/۲٦ a	۰/۰۹ a	۰/۷۲ a	۰/۲٥ a	۲٤/٦۳ ab
(M_2) *Glomus intraradices*	۱۹/٥۷ b	۲/۷۸ b	۲/۳۲ b	۰/۱٥ b	۰/۰٦ b	۰/۳۳ b	۰/۱۲ b	۳۰/۳۸ a

حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد

جدول ٤- مقایسه میانگین‌های اثرات تؤام همزیستی بادرنجبویه و میکوریزا در گیاه‌پالایی سرب

تیمار	ارتفاع بوته (cm)	وزن خشک ریشه (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)	غلظت سرب ریشه (ppm)	غلظت سرب اندام هوایی (ppm)	محتوای سرب ریشه (mg)	محتوای سرب اندام هوایی (mg)	فاکتور انتقال(٪)
P_0M_0	۱۸/۱۹ c	۲/۹۲ b	۲/۸٤ b	۰ f	۰ e	۰ c	۰ d	۰ d
P_0M_1	۲۹/۱۱ a	٤/۱۳ a	٤/٥٤ a	۰ f	۰ e	۰ c	۰ d	۰ d
P_0M_2	۲٦/۰۸ ab	۳/۷٤ a	۳/۱۲ b	۰ f	۰ e	۰ c	۰ d	۰ d
P_1M_0	۱۲/۸٥ cd	۱/۸۷ c	۱/٦۹ d	۰/۱۱ e	۰/۰٤ d	۰/۲ c	۰/۰٦ d	۳٥/۳۸ bc
P_1M_1	۲۳/٦۲ b	۲/۹٥ b	۳/۱۸ b	۰/۳٤ b	۰/۱٦ a	۱ a	۰/٥۲ a	٤۷/۸٤ ab
P_1M_2	۱۷/۹۲ c	۲/٥۹ b	۲/۲۳ c	۰/۱۸ d	۰/۰۹ c	۰/٤۷ b	۰/۲۱ bc	٥٤/۸۹ a
P_2M_0	۹/۱۲ d	۰/۹۹ d	۱/۱ e	۰/۱۹ d	۰/۰٤ d	۰/۱۹ c	۰/۰٥ d	۲۲/۹۹ c
P_2M_1	۱٦/۹۷ c	۲/٦۱ b	۱/۹۸ cd	۰/٤۲ a	۰/۱۱ b	۱/۱٦ a	۰/۲۲ b	۲٦/۰٤ c
P_2M_2	۱٤/۷۱ c	۲ c	۱/٦۱ d	۰/۲٦ c	۰/۰۹ c	۰/٥۲ b	۰/۱٥ c	۳٦/۲٥ bc

حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد

بحث

نتایج نشان داد که سرب موجب کاهش ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و اندام هوایی شد. سرب عنصری بسیار سمی برای گیاهان می‌باشد و با تخریب سلول‌ها، ایجاد اختلال در سیستم فیزیولوژیکی گیاهان و نیز کاهش جذب آب و برخی عناصر غذایی، رشد و وزن خشک گیاهان را کاهش می‌دهد (۲۳). سرب در گیاهان با کاهش فعالیت آنزیم‌های چرخه کلوین و چرخه کربس به ترتیب سبب کاهش فتوسنتز و تنفس سلولی می‌شود (۲۳). به این دلایل با افزایش غلظت سرب در خاک و به دنبال آن افزایش غلظت سرب در گیاه، رشد و عملکرد ماده خشک گیاه کاهش یافت. سرب از تقسیم سلول‌های مریستمی و رشد سلول‌های ریشه

جلوگیری کرده و وزن خشک ریشه گیاهان را کاهش می‌دهد. همچنین سرب قابلیت ارتجاع دیواره سلولی ریشه را کاهش داده و موجب کاهش رشد ریشه گیاهان می‌گردد (٦). گیاهان در واکنش به تنش فلزات سنگین در خاک هورمون اتیلن را تولید می‌کنند که رشد ریشه گیاهان را می‌کاهد (٢٤).

بر اساس نتایج به دست آمده تلقیح میکوریزی سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن خشک ریشه و اندام هوایی شد. میکوریزا می‌تواند رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به سرب از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، تولید هورمون‌های افزاینده رشد گیاه و تأثیر بر ترشحات ریشه بیافزاید (٢٥). ریسه‌های میکوریزا نسبت به گیاهان، در برابر تنش فلزات سنگین، حساسیت کم‌تری دارند، بنابراین گسترش ریسه‌ها و جذب آب و عناصر غذایی، رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین افزایش می‌دهد (٢٦). میکوریزا می‌تواند با داشتن شبکه ریسه‌ای گسترده و افزایش رشد و عملکرد ریشه، وزن خشک گیاه را افزایش دهد (٢٧). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که کاربرد میکوریزا در خاک‌های آلوده به سرب با افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده ROSو همچنین تحریک سیستم فنولیک گیاه، سمیت سرب در ریشه گیاهان را کاهش داده و در نتیجه سبب افزایش طول و وزن خشک اندام‌های گیاهی می‌شود (٢٨).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد در حضور سرب و میکوریزا غلظت سرب در اندام‌های گیاهی و همچنین محتوی آن در گیاه و فاکتور انتقال سرب افزایش پیدا کرد. با افزایش غلظت سرب در محیط ریشه، غلظت و تجمع سرب در ریشه نیز افزایش یافت(٢٩). نکته مهم در اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، تحرک و حلالیت کم این ترکیبات و همچنین تمایل اندک گیاهان بر جذب سرب و انتقال آن از ریشه به اندام هوایی است. در تائید نتایج حاصله می‌توان به گزارش محققان اشاره کرد که با مصرف سرب و ایجاد آلودگی در خاک مشاهده کردند میزان جذب و انتقال سرب در ارقام مختلف برنج بسیار اندک می‌باشد و عمدتاً در ریشه تجمع پیدا می‌کند (٣٠). براساس نتایج به دست آمده مقدار جذب سرب در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود، که نشان دهنده عدم انتقال این فلز از ریشه به اندام هوایی است. تثبیت فلز در ریشه و ممانعت از انتقال آن به اندام هوایی، یا تبدیل به ترکیبات کم‌خطر و گاز ی، از جمله سازوکارهای گیاه در مواجهه با آلودگی فلزات سنگین است (٣١). همچنین بیان شده است تجمع فلز در ریشه‌ها به طور معمول بسیار بیشتر از اندام‌های هوایی است که ممکن است به دلیل توانایی تجمیع و ایجاد کمپلکس فلز با ماده آلی در واکوئل‌ها و سلول‌های ریشه باشد و به عنوان سازوکار سمیت‌زدایی در نظر گرفته می‌شود (٣٢). مقدار فاکتور انتقال بالاتر بیان می‌کند که گیاه می‌تواند سرب را از خاک بگیرد و با بازده بالایی در اندام هوایی ذخیره کند (٣٣). میکوریزا در گیاهان احتمالاً سبب کلاته شدن فلزات سنگین توسط لیگاند و به دنبال آن محبوس کردن کمپلکس فلز- لیگاند در واکوئل می‌باشد. حبس فلز سنگین در واکوئل از گردش آزاد یون‌های فلزات سنگین در سیتوزول جلوگیری می‌کنند. به همین دلیل بردباری گیاهان به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد (٣٤).

نتیجه‌گیری کلی

به طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد که در شرایط آلودگی خاک به سرب، تلقیح میکوریزایی سبب افزایش بردباری بادرنجبویه به آلودگی سرب شده و سبب افزایش رشد آن گردید. کاربرد میکوریزا توانست میزان جذب سرب توسط گیاه را افزایش دهد، لذا تلقیح میکوریزایی با هر دو سویه مورد تحقیق، برای افزایش گیاه‌پالایی سرب توسط بادرنجبویه مفید بود هر چند سویه *Glomus mosseae* بهتر از سویه *Glomus intraradices* عمل نمود. گیاهی که بتواند ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عنصر سرب را در وزن خشک اندام هوایی خود جای دهد به‌عنوان بیش اندوز معرفی می‌گردد(۳۵). لذا با وجود غلظتهای مشخص شده سرب در اندام‌های مختلف بادرنجبویه، این گیاه برای سرب بیش‌اندوز معرفی نمی‌شود و بدلیل فاکتور انتقال کوچک‌تر از واحد، توانایی مناسبی برای انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی ندارد اما می تواند با بیوماس بالا، جهت استخراج سرب از خاک مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

1- Guginski, G., A.P. Luiz., M.D. Silva., M. Massaro., D.F. Martins., J. Chaves., R.W. Mattos., D. Silveira., V.M.M. Ferreira., J.B. Calixto and A.R.S. Santos. (2009). Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice. Pharmaco. Biochem& Behavior. 93: 10-16.

2- Adinee, J., Piri, Kh. and Karami, O. (2008). Essential oil component in flower of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 4: 277-278.

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

4- Pal M., Horvath E., Janda T., Paldi E., and Szalai G. (2006). Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. J. Plant Nutr. Soil Sci. 169: 239-246.

5- Kabata-pendias, A. and H. Pendias. 2000. Trace Element in Soils and Plants. 2nd ed., CRC Press. Boca Raton, FL.

6- Cenkci, S., Cioerci, I.H., Yildiz, M., Oezay, C., Bozdao, A., and Terzi, H. (2010). Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. Environ. Exp. Bot. 67: 467-473.

7- Islam, E., Liu, D., Li, T.Q., Yang, X.E., Jin, X.F., Mahmooda, Q., Tian, S., Li, J. (2008). Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of Elsholtzia argyi. J. Hazard. Mater. 154: 914–920.

8- Kopittke, P.M., Asher, C.J., Kopittke, R.A., Menzies, N.W. (2007). Toxic effects of Pb2+ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). Environ. Pollut. 150: 280–287.

9- Kabata-Pendias, A., Mukherjee, A.B. (2007). Trace Elements from Soil to Human. Speringer. 561 p.

۱۰- متشرع‌زاده، ب.، ثواقبی، غ. ر. ۱۳۹۰. بررسی پاسخ‌های آفتابگردان به سمیت کادمیوم و سرب با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در یک خاک آهکی. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۵ (۵): ۱۰۷۹-۱۰۶۹.

11- Biro, I.,Takacs, T. (2007). Effects of Glomus mossea strains of different origin on plant macro and micronutrient uptake in Cd polluted and unpolluted soils. Acta Agronomica Hungarica. 55(2):1-10.

12- Khan, A.G. (2006). Mycorrhizae remediation - an enhanced form of phytoremediation. Journal of Zhejiang University. 7: 503-514.

13- Karimi, A., Khodaverdiloo, H., Sepehri, M., and Rasouli Sadaghiani. M.H. (201). Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils. Afr. J. Microbiol. Res. 5: 1571-1576.
14- Andrade, S.A.L., Abreu, C.A., Abreu, M.F., Silveria, A.P.D. (2004). Influence of lead addition on arbuscular mycorrhiza and rhizobium symbiosis under soybean plants. Applied Soil Ecology. 26: 123-131.
15- Joner, E.J. Leyval, C. (2001). Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. Biology and Fertility of Soils. 33: 351-357.
16- Chen, X., Wu, C., Tang, J. Hu, S. (2005). Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under sand culture experiment. Chemosphere. 60: 665-671.
۱۷- امانی‌فر، س.، علی‌اصغرزاد، ن.، نجفی، ن.، اوستان، ش.، بلندنظر، ص. ۱۳۹۱. اثر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر گیاه‌پالایی سرب توسط سورگوم. نشریه دانش آب و خاک. ۲۲ (۱): ۱۷۰-۱۵۵.
18- Zhang, H.H., Tang, M., and Zheng, C. (2010). Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. Eur. J. Soil Biol. 46: 306-311.
۱۹- خداوردی‌لو، ح.، رسولی صدقیانی، م. ح.، کریمی، ا. ۱۳۹۲. تأثیر مایه‌زنی میکروبی یک خاک آلوده به سرب بر رشد، برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و جذب و انتقال سرب، آهن و روی توسط گل گندم. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار. ۳ (۲): ۹۳-۷۵.
20- Munson, R.D., Nelson, W.L. (1990). Principle and practice in plant analysis. Pp: 359-387. In: R.L Westerman (ed.). Soil testing and plant analysis. 3rd ed. SSSA. Madison, WI.
21- Cui, S., Q. Zhou., L. Chao. (2007). Potential hyper-accumulation of Pb, Zn, Cu and Cd in endurant plants distributed in an old smeltery, northeast China. Environmental Geology. 51: 1043-1048.
22- Malik R.N., Husain S.Z., and Nazir I. (2010) "Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan", Pakistan Journal of Botany. 42 (1): 291-301.
23- Sharma, P., Dubey, R.S. (2005). Lead toxicity in plants. Plant Physiol. 17: 35-52.
24- Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkumar, M., and Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnol. Adv. 29: 248-258.
25- Vivas, A., Azcon, R., Biro, B., Barea, J.M., and Ruiz-Lozano, J.M. (2003). Influence of bacterial strains isolated from lead-polluted oil and their interactions with arbuscular mycorrhizae on the growth of Trifolium pratense L. under lead toxicity. Microbiol. 49: 577-88.
26- Punamiya, P., Datta, R., Sarkar, D., Barber, S., Patel, M., and Da, P. (2010). Symbiotic role of Glomus mosseae in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. J. Hazard. Mater. 177: 465-474.
27- Gisbert, C., Ros, R., Haro, A., Walker, D.J., Bernal, M.P., Serrano, R., and Navarro-Avino, J. (2003). A plant genetically modifiedthat accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. Biochem. Biophys. Res. Commun. 303: 440-445.
28- Marquez, A.P.G.C., Oliveira, R.S., Samardjieva, K.A., Pissarra, J., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L. (2008). EDDS and EDTA-enhanced zinc accumulation by Solanum nigrum inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi grown in contaminated soil. Chemosphere. 70: 1002-1014.
29- Rahimi Alashty, L., Bahmanyar, S.M.A., and Ghajar Sepanlou, M. (2011). The effects of sewage sludge application on pH, EC, O.C, Pb and Cd in soil and lettuce and radish plants J. of Water and Soil Conservation. 18(3). (In Persian).

30- Liu J., Li K., Xu J., Zhang Z., Mac T., Lu Z., Yang J., Zhu Q. (2003). Lead toxicity, uptake, and translocation in different rice cultivars. Plant Science. 165: 793-/802.
31- Prasad, M.N.V. (2004). Heavy metal stress in plant, Second Ed, Norosa publishing house, USA, 463 pp.
32- Shankar Ganesh, K., Sundaramoorthy, P., Chidambaram, A.L.A. (2006). Chromium toxicity effect on blackgram, soybean and paddy, Pollution Research. 25(4): 257-261.
33- Zhou, Q.X., Song, Y.F. (2004). Principles and Method of Treating Contaminated Soil Remediation, Science Press, Beijing. 489 pp.
34- Miransari, M. (2011). Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. Biotechnol. Adv. 6: 645-653.
35- Baker, A.J.M., Brooks R.R. (1989). Terrestrial higher plants which accumulate metallic elements: a review of their distribution. Ecology and phytochemistry. Biorecovery journal. 1: 81-126.