

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی

رساله دکتری مهندسی زراعت - اکولوژی گیاهان زراعی

شناسایی و ارزیابی کارایی برخی قارچ‌های اندوفیت و محلول‌پاشی برگی
نانوذرات آهن بر گیاه پالایی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در مقادیر مختلف
کادمیوم

نگارنده: زهرا نوری آکندی

اساتید راهنما:

دکتر حسن مکاریان

دکتر همت‌اله پیردشتی

اساتید مشاور:

دکتر محمدرضا عامریان

دکتر مهدی برادران فیروزآبادی

دکتر محمدعلی تاجیک قنبری

شهریور ۱۳۹۹

شماره: ۱۴۲
تاریخ: ۱۳۹۹/۸/۱۸
ویرایش:

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره ۱۱: صورت جلسه نهایی دفاع از رساله دکتری (Ph.D)

بدینوسیله گواهی می شود آقای/خانم زهرا نوری آکندی دانشجوی دکتری رشته زراعت- اکولوژی گیاهان زراعی به شماره دانشجویی ۹۴۰۱۲۲۵ ورودی ۹۴ در تاریخ ۱۳۹۹/۰۶/۲۹ از رساله نظری □ / عملی ■ خود با عنوان: شناسایی و ارزیابی کارایی برخی قارچ- های اندوفیت و محلول پاشی برگی نانوذرات آهن بر گیاه پالایی خرفه (*Portulaca oleracea L.*) در مقادیر مختلف کادمیوم دفاع و با اخذ نمره ۱۹.۷۷ به درجه : نائل گردید.

الف) درجه عالی: نمره ۱۹-۲۰ E (ب) درجه خیلی خوب: نمره ۱۸/۹۹ - ۱۷ E
ج) درجه خوب: نمره ۱۶/۹۹ - ۱۵ E (د) مردود: کمتر از ۱۵ E

ردیف	هیئت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
	دکتر	اساتید راهنما حسن مکاریان همتاله پیردشتی	دانشیار استاد	
	دکتر	مشاورین محمدرضا عامریان مهدی برادران فیروزآبادی محمدعلی تاجیک قنبری	دانشیار دانشیار دانشیار	
	دکتر	استاد مدعو داخلی حمیدرضا اصغری	دانشیار	
	دکتر	استاد مدعو داخلی منوچهر قلی پور	دانشیار	
	دکتر	استاد مدعو خارجی عباس بیابانی	دانشیار	
	دکتر	سرپرست (نماینده) تحصیلات تکمیلی دانشکده احمد غلامی	دانشیار	

مدیر محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه:

ضمن تأیید مراتب فوق مقرر فرمائید اقدامات لازم در خصوص انجام مراحل دانش آموختگی آقای/خانم زهرا نوری آکندی بعمل آید.

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده:

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:



تقدیم به

پدر بزرگوار و مادر مهربانم

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی
به پاس عاطفه سرشار و کرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است
به پاس قلب های بزرگشان که فریادرس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید
و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند....

خواهر نازنینم که همواره در طول تحصیل متحمل زحمت بود و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات و وجودش شادی
بخش و صغایش بایه آرامش و دلگرمی من است...

و یگانه برادرم همراه همیشگی و پشتوانه زندگیم...

و به همه آن هایی که چگونه اندیشیدن راه من آموختند...

تقدیر و تشکر

پاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش را بنمونان شد و به بهمنشینی ر هر دوان علم و دانش مفتخران نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیان ساخت.

تشکر و قدردانی میکنم و حاصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به پدر و مادر عزیز و مهربانم که در سختی ها و دشواری های زندگی، همواره یاری و دلوز و فداکار و پشتیبانی محکم و مطمئن برایم بوده اند.

از خواهر و برادر عزیزم که همواره در طول تحصیل متحمل زحمت ها بوده، تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات بودند و به پاس عاطفه سرشار و کرمای امید بخش وجودشان بسیار سپاسگزارم.

از آقای دکتر حسن بکاریان و آقای دکتر بهمن اله پیردشتی اساتید راهنمای کرات قدردانم که از راهنمایی های بی دریغ و راهنمایی های ارزنده شان بهره مند گردیدم، تشکر و قدردانی می نمایم.

از آقای دکتر محمد رضا عامریان، آقای دکتر مهدی برادران فیروز آبادی و آقای دکتر محمد علی تاجیک قهری اساتید مشاور محترم پایان نامه به خاطر مساعدت ها و زحماتشان، بحال تشکر را دارم.

از اساتید محترم آقای دکتر حمید رضا صغری، آقای دکتر منوچهر قلی پور و آقای دکتر عباس بیابانی که داوری این پایان نامه را پذیرفته و قبول زحمت نمودند، همچنین از آقای دکتر احمد غلامی که زحمت هدایت جلسه دفاع از رساله را بر عهده گرفتند، سپاسگزارم.

از مسئولین بزرگوار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشگاه ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان و دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود به خاطر بکارهای ها و زحماتشان صمیمانه سپاسگزار می نمایم.

از بکارهای ها و تمامی دوستانم در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و دانشگاه صنعتی شاهرود به پاس تمام الطاف و محبت هایشان سپاسگزاری نموده و همیشه قدردان زحمات و خوبیهایشان خواهم بود.

زهرانوری آکندی

شهریور ۱۳۹۹

تعمدنامه

اینجانب **زهرا نوری آکندی** دانشجوی دوره دکتری رشته زراعت گرایش اکولوژی گیاهان زراعی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه با موضوع **شناسایی و ارزیابی کارآیی برخی قارچ‌های اندوفیت و محلول‌پاشی برگ‌ی نانوذرات آهن بر گیاه پالایی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در مقادیر مختلف کادمیوم** تحت راهنمایی دکتر حسن مکاریان و دکتر همت‌اله پیردشتی متعهد می‌شوم:

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه صنعتی شاهرود» و یا «Shahrood University of Technology» به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان‌نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ: شهریور ماه ۱۳۹۹

امضا دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود. استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

چکیده

به منظور بررسی اثر کارایی برخی قارچ‌های اندوفیت و محلول‌پاشی برگی نانوذرات آهن بر گیاه‌پالایی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در مقادیر مختلف کادمیوم، پژوهشی طی سال‌های ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۸ در پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری اجرا شد. آزمایش مرحله اول مقدماتی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار به منظور انتخاب بهترین سطوح تیمار نانوذرات آهن و کادمیوم انجام شد. نانوذرات آهن شامل پنج سطح (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) و کادمیوم در شش سطح (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک) از منبع کادمیوم کلرید بود. در این مرحله نتایج بیانگر کاهش تمامی صفات مورفولوژیک، رویشی و فیزیولوژیک گیاه خرفه با افزایش سمیت کادمیوم خاک بود. بیشترین کاهش در بین صفات مورفولوژیک و رویشی مربوط به ارتفاع بوته و سطح برگ (حدود ۵۰ و ۴۵ درصد) و وزن تر ساقه (با بیش از سه برابر کاهش) بود. در بین صفات مورفولوژیک، بیشترین تأثیر مثبت محلول‌پاشی نانوذرات آهن در غلظت ۰/۲۵ گرم در لیتر بر ارتفاع بوته و سطح برگ گیاه خرفه مشاهده شد، همچنین در همین غلظت نانوذرات محتوای نسبی آب برگ ۱۴ درصد افزایش یافت. فعالیت آنزیم کاتالاز تا غلظت ۰/۳ گرم در لیتر محلول‌پاشی نانوذرات افزایش یافت. بیشترین تغییرات در پارامترهای اندازه‌گیری شده برای کادمیوم خاک به طور میانگین در سطوح ۰ تا ۷۵ اتفاق افتاد. بنابراین با توجه به نتیجه این مرحله، سطوح ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک برای مرحله دوم مقدماتی و آزمایش تکمیلی انتخاب گردید. همچنین برای بررسی دقیق‌تر و بهتر اثرگذاری نانوذرات غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر برای مرحله آزمایش تکمیلی انتخاب گردید. مرحله دوم مقدماتی با هدف بررسی تأثیر ۱۳ جدایه قارچی همزیست ریشه استخراج شده از ریشه گیاهان در مناطق ساری استان مازندران و شاهرود در استان سمنان و قارچ‌های شاهد *Piriiformospora indica* و *Trichoderma longibrachiatum* (UTFC 10060) بر میزان تحمل گیاه خرفه به عنصر کادمیوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این مرحله بررسی نتایج تجزیه کلاستر و گروه‌بندی جدایه‌های قارچی بر اساس تأثیر آن بر خرفه در هر چهار سطح عنصر سنگین کادمیوم نشان داد، جدایه‌های قارچی *Chaetomium subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) به دلیل قرار داشتن در بهترین گروه از نظر تأثیر بر صفات مورد مطالعه و تأیید همزیستی آن از طریق رنگ‌آمیزی ریشه و قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) به دلیل عملکرد بهتر نسبت به *P. indica* برای مرحله آزمایش تکمیلی انتخاب شدند. در مرحله آزمایش تکمیلی اثر محلول‌پاشی نانوذرات آهن (صفر، ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر) و قارچ‌های اندوفیت انتخاب شده *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) و قارچ

شاهد (UTFC 10060) *T. longibrachiatum* بر میزان تحمل و گیاه پالایی گیاه خرفه نسبت به عنصر کادمیوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش تکمیلی نشان داد، افزایش سمیت کادمیوم خاک موجب کاهش تمامی صفات رشدی و مورفولوژیک گیاه خرفه گردید. همچنین کادمیوم سبب افزایش میزان پراکسید هیدروژن، نشت الکترولیت، پراکسیداسیون لیپیدی غشاء، کاهش محتوای نسبی آب برگ و همچنین محتوای کلروفیل و در نتیجه کاهش فتوسنتز و رشد گردید. همزیستی با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) میزان صفات رویشی، مورفولوژیک و فیزیولوژیک را بهبود بخشید، به طوریکه در گیاهان تلقیح شده ارتفاع بوته، تعداد و سطح برگ، قطر ساقه و همچنین مجموع وزن تر و خشک برگ نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. همچنین این قارچ‌ها از طریق کاهش میزان نشت الکترولیت، پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید و افزایش محتوای نسبی آب برگ و پرولین موجب کاهش اثرات منفی سمیت کادمیوم در گیاه شدند. به تبع آن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نیز در این گیاهان کاهش یافت. کاربرد غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن نیز با کاهش تنش اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، میزان پرولین و محتوای نسبی آب برگ و بهبود شرایط فتوسنتزی تأثیر مثبتی بر رشد گیاه خرفه داشت. با افزایش غلظت کادمیوم خاک میزان آن در ریشه و شاخساره خرفه افزایش یافت، همچنین موجب افزایش شاخص‌های زیستی در این گیاه گردید، از طرفی تلقیح قارچی نیز موجب افزایش توانایی گیاه پالایی گیاه خرفه نسبت به عدم تلقیح شد، به طوری که در گیاهان تلقیح شده میزان جذب کادمیوم قابل جذب از خاک افزایش یافت در نتیجه مقدار باقی مانده آن در خاک کمتر شد، همچنین میزان کادمیوم هم در ریشه و هم انتقال آن به اندام هوایی افزایش یافت که در نهایت باعث افزایش فاکتورهای زیستی گردید. کاربرد نانوذرات آهن نیز با بهبود شرایط تغذیه‌ای و رشدی گیاه تحت تنش کادمیوم سبب افزایش جذب کادمیوم و در نتیجه افزایش شاخص‌های زیستی شدند. در مجموع در این آزمایش، جدایه‌های قارچی *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) که برای اولین بار در ایران از گیاهان اناریجه (*Froriepia subpinnata*) و علف چشمه (*Nasturtium officinale*) جداسازی شده‌اند را می‌توان به عنوان قارچ‌های اندوفیت و همزیست ریشه معرفی کرد که در گیاه خرفه موجب بهبود رشد و فرآیند گیاه پالایی و کاهش تنش اکسیداتیو تحت تنش کادمیوم شدند. همچنین نانوذرات آهن به عنوان تیمار بهبود دهنده در شرایط سمیت کادمیوم تأثیر مثبتی بر رشد گیاه خرفه داشت.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، خرفه، قارچ‌های همزیست، کادمیوم، گیاه پالایی، نانوذرات آهن.

لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

نوری آکندی ز. مکاریان ح. پیردشتی ه.ا. عامریان م.ر. برادران فیروزآبادی م. و تاجیک قنبری م.ع، (۱۳۹۹) "تأثیر محلول پاشی نانوذرات آهن بر بهبود برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک خرفه (*Portulaca oleracea* L.) تحت تنش کادمیوم" **مجله فرآیند و کارکردهای گیاهی**، جلد ۹، شماره ۳۵: ص ۱۴۳-۱۲۷.

نوری آکندی ز. مکاریان ح. پیردشتی ه.ا. عامریان م.ر. برادران فیروزآبادی م. و تاجیک قنبری م.ع، (۱۳۹۹) "تأثیر برخی قارچ های همزیست و نانوذرات آهن بر پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) تحت تنش کادمیوم" **مجله تغذیه گیاهان باغی**، جلد ۳، شماره ۱: ص ۱-۲۲.

نوری آکندی ز. مکاریان ح. پیردشتی ه.ا. عامریان م.ر. برادران فیروزآبادی م. و تاجیک قنبری م.ع، (۱۳۹۶) "تأثیر محلول پاشی نانوذرات آهن بر برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک خرفه (*Portulaca oleracea*) تحت تنش کادمیوم" نخستین همایش ملی تولیدات گیاهان زراعی و باغی، دانشگاه گنبد کاووس.

نوری آکندی ز. مکاریان ح. پیردشتی ه.ا. عامریان م.ر. برادران فیروزآبادی م. و تاجیک قنبری م.ع، (۱۳۹۶) "تأثیر محلول پاشی نانوذرات آهن بر گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea*) تحت تنش کادمیوم" نخستین همایش ملی تولیدات گیاهان زراعی و باغی، دانشگاه گنبد کاووس.

نوری آکندی ز. مکاریان ح. پیردشتی ه.ا. عامریان م.ر. برادران فیروزآبادی م. و تاجیک قنبری م.ع، (۱۳۹۷) "تأثیر محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) تحت تنش کادمیوم" پانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج.

نوری آکندی ز. مکاریان ح. پیردشتی ه.ا. عامریان م.ر. برادران فیروزآبادی م. و تاجیک قنبری م.ع، (۱۳۹۷) "ارزیابی اثر قارچ های *Piriformospora indica* و *Trichoderma longibrachiatum* بر برخی صفات رویشی گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در غلظت های مختلف کادمیوم" پانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج.

نوری آکندی ز. مکاریان ح. پیردشتی ه.ا. عامریان م.ر. برادران فیروزآبادی م. و تاجیک قنبری م.ع، (۱۳۹۸) "شناسایی برخی قارچ های اندوفیت در ریشه گیاهان علف چشمه (*Nasturtium officinale*) و اناریجه (*Froriepiea subpinnata*)" چهارمین کنگره قارچ شناسی ایران، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

فهرست مطالب

عنوان.....شماره صفحه

فصل اول - مقدمه و کلیات

۱- مقدمه و کلیات.....	۲
۱-۱- مقدمه.....	۲
۱-۱-۱- اهمیت مسئله.....	۲
۱-۱-۲- فرضیه‌ها.....	۷
۱-۱-۳- اهداف اصلی.....	۷
۲-۱- کلیات.....	۸
۱-۲-۱- آلودگی محیط زیست به فلزات سنگین.....	۸
۱-۱-۲-۱- فلزات سنگین.....	۸
۲-۱-۲-۱- کادمیوم.....	۱۰
۱-۲-۲-۱- اثرات عنصر کادمیوم بر گیاهان و انسان.....	۱۱
۲-۲-۱- پالایش خاک.....	۱۲
۱-۲-۲-۱- زیست‌پالایی.....	۱۳
۱-۱-۲-۲-۱- قارچ‌های همزیست.....	۱۴
۱-۱-۱-۲-۲-۱- قارچ <i>Piriformospora indica</i>	۱۵
۲-۱-۱-۲-۲-۱- قارچ <i>Trichoderma</i>	۱۷
۲-۲-۲-۱- گیاه‌پالایی.....	۱۷
۱-۲-۲-۲-۱- گیاه دارویی خرفه.....	۲۰
۳-۲-۱- فناوری نانو.....	۲۱
۱-۳-۲-۱- کاربرد نانوذرات در کشاورزی.....	۲۱
۲-۳-۲-۱- نانوذرات آهن.....	۲۲

فصل دوم- بررسی منابع

- ۲- بررسی منابع..... ۲۶
- ۱-۲- فلزات سنگین..... ۲۶
- ۱-۱-۲- اثر کادمیوم بر رشد رویشی و عملکرد گیاهان..... ۲۶
- ۲-۱-۲- اثر کادمیوم بر صفات فیزیولوژیک گیاهان..... ۲۸
- ۳-۱-۲- اثر کادمیوم بر صفات بیوشیمیایی گیاهان..... ۳۱
- ۱-۳-۱-۲- مراحل تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)..... ۳۱
- ۲-۳-۱-۲- مالون دی آلدئید (MDA)..... ۳۲
- ۳-۳-۱-۲- مکانیسم‌های دفاعی سلول در برابر تنش اکسیداتیو..... ۳۳
- ۱-۳-۳-۱-۲- آنتی اکسیدان‌ها..... ۳۴
- ۱-۱-۳-۳-۱-۲- پرولین..... ۳۴
- ۲-۳-۳-۱-۲- آنزیم‌های آنتی اکسیدانی..... ۳۵
- ۱-۲-۳-۳-۱-۲- سوپراکسید دیسموتاز..... ۳۵
- ۲-۲-۳-۳-۱-۲- کاتالاز..... ۳۶
- ۳-۲-۳-۳-۱-۲- گایاکول پراکسیداز..... ۳۷
- ۴-۲-۳-۳-۱-۲- آسکوربات پراکسیداز..... ۳۷
- ۴-۱-۲- گیاه‌پالایی و فلزات سنگین در گیاهان مختلف..... ۳۹
- ۵-۱-۲- سازوکار مقاومت گیاهان در برابر فلزات سنگین..... ۴۰
- ۶-۱-۲- تأثیر قارچ‌های اندوفیت و همزیست ریشه بر رشد و تحمل به عناصر سنگین در گیاهان..... ۴۱
- ۱-۶-۱-۲- تأثیر قارچ اندوفیت *P. indica* بر رشد گیاهان..... ۴۱
- ۲-۶-۱-۲- تأثیر قارچ اندوفیت *P. indica* بر مقاومت به تنش‌های محیطی به ویژه عناصر سنگین در گیاهان..... ۴۳
- ۳-۶-۱-۲- تأثیر قارچ تریکودرما بر رشد گیاهان..... ۴۵
- ۴-۶-۱-۲- تأثیر قارچ تریکودرما بر مقاومت به تنش‌های محیطی به ویژه عناصر سنگین در گیاهان..... ۴۸

۲-۱-۶- اثر نانوذرات به ویژه نانوذرات آهن بر رشد گیاهان و تحمل به تنش‌های محیطی با تأکید بر تنش عناصر سنگین در گیاهان..... ۵۰

فصل سوم- مواد و روش‌ها

۳- مواد و روش‌ها..... ۵۶

۳-۱- زمان و موقعیت جغرافیایی محل اجرای آزمایش..... ۵۶

۳-۲- تهیه و مشخصات خاک مورد استفاده در پژوهش..... ۵۶

۳-۳- سنتز نانوذرات آهن..... ۵۷

۳-۳-۱- اندازه نانوذرات آهن..... ۵۸

۳-۴- مراحل آزمایشی..... ۵۸

۳-۴-۱- آزمایش مقدماتی (مرحله اول)..... ۵۸

۳-۴-۱-۱- قالب آماری طرح و تیمارهای آزمایشی..... ۵۸

۳-۴-۱-۲- روش اجرای آزمایش مقدماتی (مرحله اول)..... ۵۹

۳-۴-۲- آزمایش مقدماتی (مرحله دوم)..... ۶۰

۳-۴-۲-۱- قالب آماری طرح و تیمارهای آزمایشی..... ۶۰

۳-۴-۲-۲- جمع آوری نمونه‌های گیاهی..... ۶۰

۳-۴-۲-۳- جداسازی قارچ‌ها از ریشه گیاهان..... ۶۲

۳-۴-۲-۴- خالص سازی جدایه‌های قارچی..... ۶۳

۳-۴-۲-۴-۱- روش تک اسپور..... ۶۳

۳-۴-۲-۴-۲- روش نوک ریشه..... ۶۳

۳-۴-۲-۴-۵- روش اجرای آزمایش مقدماتی (مرحله دوم)..... ۶۳

۳-۴-۲-۶- رنگ آمیزی ریشه..... ۶۴

۳-۴-۲-۷- شناسایی مورفولوژیک قارچ‌ها..... ۶۵

۳-۴-۲-۸- شناسایی مولکولی..... ۶۵

۳-۴-۲-۸-۱- کشت قارچ در محیط PDB..... ۶۵

۳-۴-۲-۸-۲- استخراج DNA..... ۶۵

- ۳-۴-۲-۸-۳- بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده الکتروفورز ژل آگارز..... ۶۶
- ۳-۴-۲-۸-۴- واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR)..... ۶۷
- ۳-۴-۲-۸-۱- آماده‌سازی آغازگرها..... ۶۷
- ۳-۴-۲-۸-۲- مخلوط PCR و سیکل حرارتی..... ۶۷
- ۳-۴-۲-۸-۳- بارگذاری محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز..... ۶۸
- ۳-۴-۲-۸-۵- خالص سازی قطعه ژنی از روی ژل با استفاده از کیت استخراج از ژل DNA..... ۶۹
- ۳-۴-۲-۸-۶- شناسایی مولکولی جدایه‌ها در پایگاه اطلاعات NCBI..... ۷۰
- ۳-۴-۳- آزمایش تکمیلی..... ۷۰
- ۳-۴-۱- قالب آماری طرح و تیمارهای آزمایشی..... ۷۰
- ۳-۴-۲- روش اجرای آزمایش (مرحله تکمیلی)..... ۷۱
- ۳-۵-۵- صفات مورد مطالعه در این آزمایش..... ۷۲
- ۳-۵-۱- صفات رویشی..... ۷۲
- ۳-۵-۲- صفات فیزیولوژیک..... ۷۲
- ۳-۵-۲-۱- محتوای نسبی آب برگ (RWC)..... ۷۲
- ۳-۵-۲-۲- نشت الکترولیت..... ۷۳
- ۳-۵-۲-۳- عدد اسپد..... ۷۳
- ۳-۵-۲-۴- محتوای کلروفیل برگ و کاروتنوئید..... ۷۳
- ۳-۵-۲-۵- هدایت روزنه‌ای..... ۷۴
- ۳-۵-۳- صفات بیوشیمیایی..... ۷۴
- ۳-۵-۱- اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی..... ۷۴
- ۳-۵-۲-۳- استخراج محلول آنزیمی..... ۷۴
- ۳-۵-۳-۳- ثبت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان..... ۷۵
- ۳-۵-۳-۱- سوپراکسید دیسموتاز..... ۷۵
- ۳-۵-۳-۲- کاتالاز..... ۷۶
- ۳-۵-۳-۳- گایاکول پراکسیداز..... ۷۶

۷۶.....	۳-۵-۳-۴-آسکوربات پراکسیداز.....
۷۷.....	۳-۵-۴-سنجش میزان پرولین.....
۷۷.....	۳-۵-۵-اندازه گیری میزان پراکسید هیدروژن.....
۷۸.....	۳-۵-۶-اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی یا مالون دی آلدئید.....
۷۸.....	۳-۵-۷-اندازه گیری میزان پروتئین محلول برگ.....
۷۹.....	۳-۵-۴-تعیین غلظت عنصر سنگین کادمیوم در گیاه.....
۷۹.....	۳-۵-۵-تعیین میزان غلظت عنصر سنگین کادمیوم قابل جذب در خاک.....
۷۹.....	۳-۵-۶-محاسبه شاخص های زیستی.....
۸۰.....	۳-۶-تجزیه و تحلیل آماری داده ها.....

فصل چهارم- نتایج و بحث

۸۲.....	۴-نتایج و بحث.....
۸۲.....	۴-۱-نتایج مرحله اول مقدماتی.....
۸۲.....	۴-۱-۱-اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات مورفولوژیک خرفه.....
۸۲.....	۴-۱-۲-روند پاسخ صفات مورفولوژیک خرفه به غلظت کادمیوم خاک.....
۸۴.....	۴-۱-۳-روند پاسخ صفات مورفولوژیک خرفه به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن.....
۸۶.....	۴-۱-۴-اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات رویشی خرفه.....
۸۶.....	۴-۱-۵-روند پاسخ صفات رویشی خرفه به غلظت کادمیوم خاک.....
۸۹.....	۴-۱-۶-روند پاسخ صفات رویشی خرفه به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن.....
۹۰.....	۴-۱-۷-روند پاسخ صفات رویشی خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن.....
۹۲.....	۴-۱-۸-اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات فیزیولوژیک خرفه.....
۹۳.....	۴-۱-۹-روند پاسخ صفات فیزیولوژیک خرفه به غلظت کادمیوم خاک.....
۹۵.....	۴-۱-۱۰-روند پاسخ صفات فیزیولوژیک خرفه به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن.....
۹۷.....	۴-۱-۱۱-روند پاسخ صفات فیزیولوژیک خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن.....

- ۱۰۳..... اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات بیوشیمیایی خرفه..... ۱۲-۱-۴
- ۱۰۴..... روند پاسخ صفات بیوشیمیایی خرفه به غلظت کادمیوم خاک..... ۱۳-۱-۴
- ۱۰۶..... روند پاسخ صفات بیوشیمیایی خرفه به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن..... ۱۴-۱-۴
- ۱۰۷..... روند پاسخ صفات بیوشیمیایی خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن..... ۱۵-۱-۴
- ۱۱۳..... نتایج مرحله دوم مقدماتی..... ۲-۴
- ۱۱۳..... شناسایی مورفولوژیکی قارچ‌های اندوفیت جداسازی شده..... ۱-۲-۴
- ۱۱۳..... *Trichoderma* -۱-۱-۲-۴
- ۱۱۳..... *Trichoderma longibrachiatum* -۱-۱-۱-۲-۴
- ۱۱۴..... *Trichoderma atroviride* -۲-۱-۱-۲-۴
- ۱۱۵..... *Alternaria* -۲-۱-۲-۴
- ۱۱۶..... *Alternaria alternata* -۱-۲-۱-۲-۴
- ۱۱۶..... *Alternaria burnsii* -۲-۲-۱-۲-۴
- ۱۱۷..... *Chaetomium* -۳-۱-۲-۴
- ۱۱۸..... *Chaetomium subaffine* -۱-۳-۱-۲-۴
- ۱۱۸..... *Chaetomium globosum* -۲-۳-۱-۲-۴
- ۱۱۹..... *Stemphylium amaranthi* -۴-۱-۲-۴
- ۱۲۰..... *Plectosphaerella pauciseptata* -۵-۱-۲-۴
- ۱۲۱..... *Bjerkandera adusta* -۶-۱-۲-۴
- ۱۲۲..... *Cladorrhinum flexuosum* -۷-۱-۲-۴
- ۱۲۳..... شناسایی مولکولی..... ۲-۲-۴
- ۱۲۳..... غربالگری و گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس اثر آن بر تحمل گیاه خرفه به سطوح مختلف عنصر سنگین کادمیوم..... ۳-۲-۴
- ۱۲۴..... گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس تأثیر آن بر خرفه در سطح صفر کادمیوم..... ۱-۳-۲-۴

۴-۲-۳-۱-۱- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه در سطح صفر	۱۲۵
۴-۲-۳-۱-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خرفه در سطح صفر عنصر	۱۲۶
۴-۲-۳-۲- گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس تأثیر آن بر خرفه در سطح ۲۵ میلی‌گرم	۱۲۸
۴-۲-۳-۱-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه در سطح ۲۵ میلی‌گرم	۱۲۹
۴-۲-۳-۲-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خرفه در سطح ۲۵ میلی‌گرم	۱۳۰
۴-۲-۳-۳-۲- گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس تأثیر آن بر خرفه در سطح ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم	۱۳۱
۴-۲-۳-۱-۳- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه در سطح ۵۰ میلی‌گرم	۱۳۳
۴-۲-۳-۳-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خرفه در سطح ۵۰ میلی‌گرم	۱۳۴
۴-۲-۳-۴- گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس تأثیر آن بر خرفه در سطح ۷۵ میلی‌گرم	۱۳۵
۴-۲-۳-۱-۴- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه در سطح ۷۵ میلی‌گرم	۱۳۷
۴-۲-۳-۴-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خرفه در سطح ۷۵ میلی‌گرم	۱۳۷
۴-۳-۲-۴- نتایج آزمایش تکمیلی	۱۴۲
۴-۳-۱-۳- اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر تحمل گیاه خرفه نسبت به سمیت کادمیوم	۱۴۲
۴-۳-۱-۳-۱- اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر صفات مورفولوژیک گیاه خرفه تحت تنش	۱۴۲

- ۴-۳-۱-۱- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر تعداد برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۴۳
- ۴-۳-۱-۲- روند پاسخ صفات تعداد گره، ارتفاع بوته و قطر ساقه خرفه به غلظت کادمیوم خاک..... ۱۴۴
- ۴-۳-۱-۳- اثر همزیستی قارچی بر ارتفاع بوته و قطر ساقه خرفه..... ۱۴۶
- ۴-۳-۱-۴- اثر محلول پاشی نانوذرات آهن بر ارتفاع بوته خرفه..... ۱۴۷
- ۴-۳-۱-۵- اثر همزیستی قارچی بر سطح برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۴۷
- ۴-۳-۲- اثر قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن بر صفات رویشی گیاه خرفه تحت تنش کادمیوم..... ۱۴۹
- ۴-۳-۱-۲- اثر همزیستی قارچی بر وزن تر برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۴۹
- ۴-۳-۲-۲- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن تر ساقه خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۰
- ۴-۳-۲-۳- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن تر ریشه خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۱
- ۴-۳-۲-۴- اثر همزیستی قارچی بر وزن تر کل خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۲
- ۴-۳-۲-۵- اثر همزیستی قارچی بر وزن خشک برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۳
- ۴-۳-۲-۶- اثر همزیستی قارچی بر وزن خشک ساقه خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۴
- ۴-۳-۲-۷- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن خشک ریشه خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۵
- ۴-۳-۲-۸- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن خشک کل خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۶
- ۴-۳-۱-۳- اثر قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن بر صفات فیزیولوژیک گیاه خرفه تحت تنش کادمیوم..... ۱۶۰
- ۴-۳-۱-۱- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل a خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۶۱
- ۴-۳-۲-۲- اثر همزیستی قارچی بر محتوای کلروفیل b خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۶۲
- ۴-۳-۳-۱- اثر همزیستی قارچی و محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل کل خرفه..... ۱۶۳

- ۴-۳-۱-۳-۴ اثر محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل کل خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۶۴
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر نسبت کلروفیل a/b خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۶۵
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای کاروتنوئید خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۶۶
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان شاخص سبزینگی برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۶۷
- ۴-۳-۱-۳-۴ روند پاسخ نشت الکترولیت به سطوح مختلف کادمیوم خاک و محلول پاشی نانوذرات آهن در خرفه.....۱۷۰
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای نسبی آب برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۷۱
- ۴-۱-۳-۴ اثر قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن بر صفات بیوشیمیایی گیاه خرفه تحت تنش کادمیوم.....۱۷۴
- ۴-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۷۵
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۷۶
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۷۷
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۷۹
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پروتئین محلول خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۸۳
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پرولین خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۸۴
- ۴-۳-۱-۳-۴ تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان مالون دی آلدئید خرفه تحت سمیت کادمیوم.....۱۸۶

۴-۳-۱-۸- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پراکسید هیدروژن خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۸۹
۴-۳-۲- اثر قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن بر گیاه‌پالایی خرفه نسبت به سمیت کادمیوم.....	۱۹۰
۴-۳-۱- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان کادمیوم قابل جذب خاک بعد از کشت گیاه خرفه.....	۱۹۱
۴-۳-۲- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر غلظت کادمیوم در ریشه خرفه.....	۱۹۲
۴-۳-۳- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر غلظت کادمیوم در اندام هوایی خرفه.....	۱۹۳
۴-۳-۴- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فاکتور جذب زیستی کادمیوم در ریشه خرفه.....	۱۹۴
۴-۳-۵- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فاکتور انتقال کادمیوم در خرفه.....	۱۹۵
۴-۳-۶- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر ضریب انتقال کادمیوم در خرفه.....	۱۹۶
۴-۴- نتیجه گیری نهایی.....	۲۰۰
۴-۴-۱- آزمایش مقدماتی (مرحله اول).....	۲۰۰
۴-۴-۲- آزمایش مقدماتی (مرحله دوم).....	۲۰۱
۴-۴-۳- آزمایش تکمیلی.....	۲۰۲
۴-۳- پیشنهادها.....	۲۰۳
مراجع.....	۲۰۵

فهرست جداول

عنوان.....	شماره صفحه
جدول ۱-۳- برخی مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش (عمق ۰-۳۰ سانتی متری).....	۵۶
جدول ۲-۳- توالی و اطلاعات آغازگرهای مورد استفاده در بررسی مولکولی.....	۶۷
جدول ۳-۳- ترکیبات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز.....	۶۸
جدول ۴-۳- برنامه حرارتی و زمان‌بندی جفت آغازگر ITS4 و ITS5.....	۶۸
جدول ۱-۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات مورفولوژیک خرفه.....	۸۲
جدول ۲-۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات رویشی خرفه.....	۸۶
جدول ۳-۴- معادله مناسب توصیف کننده رابطه تیمارهای نانوذرات آهن بر پارامترهای رویشی گیاه خرفه در سطوح مختلف کادمیوم.....	۹۲
جدول ۴-۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات فیزیولوژیک خرفه.....	۹۳
جدول ۵-۴- معادله مناسب توصیف کننده رابطه تیمارهای نانوذرات آهن بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه خرفه در سطوح مختلف کادمیوم.....	۱۰۲
جدول ۶-۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات بیوشیمیایی خرفه.....	۱۰۳
جدول ۷-۴- معادله مناسب توصیف کننده رابطه تیمارهای نانوذرات آهن بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطوح مختلف کادمیوم.....	۱۱۲
جدول ۸-۴- نتایج شناسایی مولکولی جدایه‌ها با استفاده از نشانگر ریبوزومی (5.8S rRNA).....	۱۲۳
جدول ۹-۴- آزمون تابع تشخیص برای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح صفر کادمیوم با استفاده از لامبدای ویلکس.....	۱۲۵
جدول ۱۰-۴- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی گیاه خرفه در سطح صفر کادمیوم.....	۱۲۶

جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطح صفر کادمیوم.....	۱۲۷
جدول ۴-۱۲- آزمون تابع تشخیص برای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۲۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک با استفاده از لامبدای ویلکس.....	۱۲۹
جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی گیاه خرفه در سطح ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک.....	۱۳۰
جدول ۴-۱۴- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطح ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک.....	۱۳۱
جدول ۴-۱۵- آزمون تابع تشخیص برای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۵۰ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک با استفاده از لامبدای ویلکس.....	۱۳۳
جدول ۴-۱۶- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی گیاه خرفه در سطح ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک.....	۱۳۳
جدول ۴-۱۷- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطح ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک.....	۱۳۵
جدول ۴-۱۸- آزمون تابع تشخیص برای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۷۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک با استفاده از لامبدای ویلکس.....	۱۳۶
جدول ۴-۱۹- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی گیاه خرفه در سطح ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک.....	۱۳۷
جدول ۴-۲۰- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطح ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک.....	۱۳۸
جدول ۴-۲۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مورفولوژیک خرفه.....	۱۴۲
جدول ۴-۲۲- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر تعداد برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۴۴
جدول ۴-۲۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات رویشی خرفه.....	۱۴۹
جدول ۴-۲۴- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن تر ساقه خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۵۱

جدول ۴-۲۵- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن تر ریشه خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۵۲
جدول ۴-۲۶- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن خشک ریشه خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۵۶
جدول ۴-۲۷- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن خشک کل خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۵۷
جدول ۴-۲۸- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات فیزیولوژیک خرفه.....	۱۶۱
جدول ۴-۲۹- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل a خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۶۲
جدول ۴-۳۰- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر نسبت کلروفیل a/b خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۶۶
جدول ۴-۳۱- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای کاروتنوئید خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۶۷
جدول ۴-۳۲- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان شاخص سبزینگی برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۶۸
جدول ۴-۳۳- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای نسبی آب برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۷۳
جدول ۴-۳۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات بیوشیمیایی خرفه.....	۱۷۴
جدول ۴-۳۵- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۷۶
جدول ۴-۳۶- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۷۷
جدول ۴-۳۷- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۷۹
جدول ۴-۳۸- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۸۰

جدول ۴-۳۹- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پروتئین محلول خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۸۴
جدول ۴-۴۰- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پرولین خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۸۶
جدول ۴-۴۱- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان مالون دی آلدئید خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۸۸
جدول ۴-۴۲- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پراکسید هیدروژن خرفه تحت سمیت کادمیوم.....	۱۹۰
جدول ۴-۴۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت عنصر سنگین کادمیوم در گیاه خرفه.....	۱۹۱
جدول ۴-۴۴- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان کادمیوم قابل جذب خاک بعد از کشت گیاه خرفه.....	۱۹۲
جدول ۴-۴۵- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر غلظت کادمیوم در ریشه خرفه.....	۱۹۳
جدول ۴-۴۶- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر غلظت کادمیوم در اندام هوایی خرفه.....	۱۹۴
جدول ۴-۴۷- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فاکتور جذب زیستی کادمیوم در ریشه خرفه.....	۱۹۵
جدول ۴-۴۸- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فاکتور انتقال کادمیوم در خرفه.....	۱۹۶
جدول ۴-۴۹- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر ضریب انتقال کادمیوم در خرفه.....	۱۹۷

فهرست شکل‌ها

عنوان.....	شماره صفحه.....
شکل ۱-۲- تولید رادیکال‌های اکسیژن واکنش گر تحت استرس فلزات سنگین.....	۳۲
شکل ۲-۲- همکاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در جمع‌آوری گونه‌های اکسیژن فعال.....	۳۸
شکل ۱-۳- سنتز نانوذرات آهن در شرایط آزمایشگاهی.....	۵۷
شکل ۲-۳- اندازه نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM).....	۵۸
شکل ۳-۳- نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده علف چشمه، لوئی، اناریجه و زولنگ از منطقه ساری استان مازندران و درمنه دشتی از منطقه شاهرود استان سمنان.....	۶۱
شکل ۴-۳- ضد عفونی نمونه‌های گیاهی در زیر هود.....	۶۲
شکل ۵-۳- نمایی از ارزیابی محصول واکنش PCR بر روی ژل آگار.....	۶۹
شکل ۶-۳- مراحل خالص سازی قطعه ژنی از روی ژل با استفاده از کیت استخراج از ژل DNA.....	۷۰
شکل ۱-۴- روند پاسخ صفات تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه و سطح برگ به غلظت کادمیوم خاک.....	۸۳
شکل ۲-۴- روند تغییرات رشد رویشی گیاه خرفه در پاسخ به افزایش غلظت کادمیوم در خاک.....	۸۴
شکل ۳-۴- روند پاسخ صفات ارتفاع بوته، قطر ساقه و سطح برگ به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن.....	۸۵
شکل ۴-۴- روند پاسخ صفات وزن تر برگ، ساقه، ریشه، کل، وزن خشک ساقه و کل به غلظت کادمیوم خاک.....	۸۸
شکل ۵-۴- روند پاسخ وزن تر و وزن خشک ساقه به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن.....	۸۹
شکل ۶-۴- روند پاسخ وزن خشک برگ و ریشه گیاه خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن.....	۹۱
شکل ۷-۴- روند پاسخ صفات کلروفیل a/b نشت الکترولیت، محتوای رطوبت نسبی برگ و هدایت روزنه‌ایی به غلظت کادمیوم خاک.....	۹۵
شکل ۸-۴- روند پاسخ صفات کلروفیل a/b و محتوای رطوبت نسبی برگ به سطوح مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن.....	۹۶

- شکل ۴-۹- روند پاسخ کلروفیل a ، b ، $a+b$ و کاروتنوئید گیاه خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی نانوذرات آهن..... ۱۰۱
- شکل ۴-۱۰- روند پاسخ عدد اسپد گیاه خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول-پاشی نانوذرات آهن..... ۱۰۲
- شکل ۴-۱۱- روند پاسخ فعالیت کاتالاز، محتوای پروتئین، مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن به غلظت کادمیوم خاک..... ۱۰۶
- شکل ۴-۱۲- روند پاسخ آنزیم کاتالاز و محتوای مالون دی آلدئید به سطوح مختلف محلول‌پاشی نانوذرات آهن..... ۱۰۷
- شکل ۴-۱۳- روند پاسخ آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پرکسیداز، آسکوربات پرکسیداز و پرولین گیاه خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی نانوذرات آهن..... ۱۱۱
- شکل ۴-۱۴- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *T. longibrachiatum*..... ۱۱۴
- شکل ۴-۱۵- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *T. atroviride*..... ۱۱۵
- شکل ۴-۱۶- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *Alternaria alternata*..... ۱۱۶
- شکل ۴-۱۷- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *Alternaria burnsii*..... ۱۱۷
- شکل ۴-۱۸- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *Chaetomium subaffine*..... ۱۱۸
- شکل ۴-۱۹- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *Chaetomium globosum*..... ۱۱۹
- شکل ۴-۲۰- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *Stemphylium amaranthi*..... ۱۲۰
- شکل ۴-۲۱- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *Plectosphaerella pauciseptata*..... ۱۲۱
- شکل ۴-۲۲- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *Bjerkandera adusta*..... ۱۲۱
- شکل ۴-۲۳- نمای ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *Cladorrhinum flexuosum*..... ۱۲۲
- شکل ۴-۲۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح صفر کادمیوم به روش گروه‌بندی واریانس مینیم وارد..... ۱۲۵
- شکل ۴-۲۵- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به روش گروه‌بندی واریانس مینیم وارد..... ۱۲۹

- شکل ۴-۲۶- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به روش گروه‌بندی واریانس مینیم وارد..... ۱۳۲
- شکل ۴-۲۷- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به روش گروه‌بندی واریانس مینیم وارد..... ۱۳۶
- شکل ۴-۲۸- همزیستی جدایه‌های قارچی (*Trichoderma* و *Chaetomium subaffine* (SF3) و *atroviride* (SN1) با ریشه گیاه خرفه..... ۱۴۱
- شکل ۴-۲۹- روند پاسخ صفات تعدادگره، ارتفاع بوته و قطر ساقه خرفه به غلظت کادمیوم خاک..... ۱۴۵
- شکل ۴-۳۰- اثر همزیستی قارچی بر ارتفاع بوته و قطر ساقه در گیاه خرفه..... ۱۴۶
- شکل ۴-۳۱- اثر محلول پاشی نانوذرات آهن بر ارتفاع بوته خرفه..... ۱۴۷
- شکل ۴-۳۲- اثر همزیستی قارچی بر سطح برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۴۸
- شکل ۴-۳۳- اثر همزیستی قارچی بر وزن تر برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۰
- شکل ۴-۳۴- اثر همزیستی قارچی بر وزن تر کل خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۳
- شکل ۴-۳۵- اثر همزیستی قارچی بر وزن خشک برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۴
- شکل ۴-۳۶- اثر همزیستی قارچی بر وزن خشک ساقه خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۵۵
- شکل ۴-۳۷- تأثیر قارچ‌های همزیست ریشه بر رشد گیاه خرفه..... ۱۵۹
- شکل ۴-۳۸- اثر همزیستی قارچی بر محتوای کلروفیل *b* خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۶۳
- شکل ۴-۳۹- اثر همزیستی قارچی و محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل *a+b* خرفه..... ۱۶۴
- شکل ۴-۴۰- اثر محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل *a+b* خرفه تحت سمیت کادمیوم..... ۱۶۵
- شکل ۴-۴۱- روند پاسخ نشت الکترولیت به سطوح مختلف کادمیوم خاک و نانوذرات آهن در خرفه..... ۱۷۱

فهرست رابطہ

عنوان.....شماره صفحہ

..... (رابطہ ۱-۲) ۳۲

..... (رابطہ ۲-۲) ۳۶

..... (رابطہ ۳-۲) ۳۶

..... (رابطہ ۱-۳) ۵۷

..... (رابطہ ۲-۳) ۷۳

..... (رابطہ ۳-۳) ۷۳

..... (رابطہ ۴-۳) ۷۴

..... (رابطہ ۵-۳) ۷۴

..... (رابطہ ۶-۳) ۷۴

..... (رابطہ ۷-۳) ۷۴

..... (رابطہ ۸-۳) ۷۴

..... (رابطہ ۹-۳) ۸۰

..... (رابطہ ۱۰-۳) ۸۰

..... (رابطہ ۱۱-۳) ۸۰

..... (رابطہ ۱۲-۳) ۸۰

..... (رابطہ ۱۳-۳) ۸۰

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱- مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

۱-۱-۱- اهمیت مسئله

تکامل تدریجی انسان، موجب پیشرفت بسیار شگرف علم و فناوری شده است. همزمان با رشد صنعتی، زراعی و اقتصادی جهان، آلودگی محیط زیست نیز رو به افزایش است. فعالیت‌های انسان، منجر به تجمع قابل توجه فلزات سنگین در خاک در مقیاس محلی شده است. فعالیت‌های صنعتی مثل معدن-کاری، فرآیندهای ذوب و تصفیه‌ی فلزات، فاضلاب‌های صنعتی، عملیات نظامی، کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و فاضلاب کارخانجات باتری‌سازی از منابع بسیار مهم تولید آلاینده‌ها می‌باشند. یکی دیگر از منابع بسیار مهم در افزایش آلودگی خاک، تخلیه فاضلاب‌های شهری است، این فاضلاب‌ها که برای آبیاری مزارع نیز استفاده می‌شوند، اگرچه سرشار از مواد مغذی هستند، اما همزمان منبعی غنی از فلزات سمی و سرطان‌زا نیز هستند (ایکم و ایبور، ۲۰۰۵؛ مکفارلان و همکاران، ۲۰۰۷). فلزات سنگین از جمله سرب، آلومینیوم، جیوه، مس، کادمیوم، نیکل و آرسنیک در غلظت‌های بالا وارد ریشه‌ی گیاهان شده و باعث تخریب غشاء پلاسمایی سلول‌های گیاهی، اختلال در فعالیت آنزیم‌های سازنده‌ی پروتئین-های ساختمانی و یا جایگزین شدن در ساختمان مواد حیاتی و در نتیجه مختل شدن فعالیت آن‌ها می‌شوند. همچنین، این فلزات باعث تولید انواع اکسیژن‌های فعال می‌شوند که خطر اکسیدشدن بافت-های گیاهی را در پی دارد و در نتیجه سبب عدم رشد، زردی، پوسیدگی ریشه‌ها، کاهش فتوسنتز و توقف چرخه‌ی تنفس سلولی در گیاه می‌شود. وجود این فلزات در آب و خاک سبب کاهش فعالیت ریزجانداران مفید و حاصلخیزی خاک و همچنین کاهش چشمگیر محصول می‌شود (صدوری و قرچه، ۱۳۹۲). فلزات سنگین ابتدا توسط فیتوپلانکتون‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و ریزجانداران دیگر جذب شده و سپس به‌ترتیب توسط موجودات بزرگتر خورده و در نهایت به‌راحتی از طریق مصرف محصولات کشت

شده در خاک‌های آلوده، به زنجیره غذایی مصرف‌کنندگان وارد شده و سلامت انسان ها و حیوانات را به خطر می‌اندازند (سادات تقوی راد و همکاران، ۲۰۱۴؛ یانگ و همکاران، ۲۰۰۴).

در بین فلزات سنگین، کادمیوم (Cd) یکی از سمی‌ترین عناصر است که هیچ‌گونه نقش زیستی ندارد و عمدتاً از طریق فرآورده‌های صنعتی، کودهای فسفره و آفت‌کش‌ها وارد خاک‌های کشاورزی شده (دونگ و همکاران، ۲۰۰۵؛ جین و همکاران، ۲۰۰۷) و علاوه بر ایجاد مشکلات بسیاری در بهداشت و سلامت انسان ها می‌تواند تأثیر مخربی روی محیط زیست و موجودات گیاهی و جانوری داشته باشد (پارسادوست و همکاران، ۱۳۸۶؛ ظفر و همکاران، ۲۰۰۷). سمیت این عنصر برای گیاه ۲۰-۲ برابر سایر فلزات سنگین گزارش شده است (صابری و همکاران، ۱۳۸۹). غلظت بالای کادمیوم در خاک منجر به کاهش فرآیند متابولیکی، فتوسنتز و در نهایت کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد (خان و همکاران، ۲۰۰۶). از علائم عمومی سمیت کادمیوم در گیاه می‌توان به کلروزه شدن برگ‌ها، اختلال در تنفس و متابولیسم نیتروژن، کاهش جذب آب و عناصر معدنی اشاره نمود (نیکولیک و همکاران، ۲۰۰۸).

امروزه روش‌های بسیاری جهت پاکسازی خاک‌های آلوده معرفی شده است. گیاه‌پالایی یک فناوری نوین است که از گیاهان و ریزجانداران مرتبط با گیاه برای تصفیه آب‌های زیرزمینی و خاک‌های آلوده با آلاینده‌های سمی استفاده می‌نماید. این فناوری که راهبردی جدید برای مدیریت اراضی می‌باشد، بسیار اقتصادی، دوستدار محیط زیست و در حال گسترش است (چنری و همکاران، ۱۹۹۷؛ لومبی و همکاران، ۲۰۰۱). در این فناوری از گیاهان ویژه‌ای مانند درختان، درختچه‌ها و گونه‌های علفی برای پاکسازی (حذف، تجزیه یا تثبیت) مواد شیمیایی مضر و خطرناک در خاک استفاده می‌شود. بعضی از گونه‌های اختصاصی گیاهان می‌توانند فلزات سنگین را به اندام هوایی انتقال دهند (بلایکوت و همکاران، ۱۹۹۷). به‌طور کلی، برای انتخاب یک گیاه برای هدف گیاه‌پالایی خاک باید قدرت جذب بالای گیاه، تولید زیست‌توده بالا و انتقال زیاد عنصر از ریشه به ساقه مد نظر قرار بگیرد (ژانگ و همکاران، ۱۹۹۷؛ راسکین و انسلی، ۲۰۰۰). از طرفی، فن‌آوری گیاه‌پالایی از دو جزء تشکیل شده است: یا از طریق

ریزجانداران ریشه یا از راه کاهش متابولیت‌های سمی به متابولیت‌های غیرسمی توسط خود گیاهان (ساکسنا و همکاران، ۲۰۰۵)، بنابراین به غیر از گیاهان، ریزجاندارانی که در ریزوسفر زندگی می‌کنند، نیز نقش مهمی در تجزیه مواد آلاینده‌های آلی دارند و غالباً از این مواد به‌عنوان یک منبع کربن استفاده می‌کنند (جرالد و اسپنور، ۱۹۹۷). این ریزجانداران شامل جلبک‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها هستند که می‌توانند به‌عنوان جاذب‌های بالقوه فلزات سنگین به‌کار روند. رفتار جذبی قوی بعضی از ریزجانداران برای فلزات در واقع یک کارآیی پاک‌سازی شیمیایی سلول‌های میکروبی است (سادهاسیوم و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که کاربرد ریزجانداران می‌تواند به‌طور معنی‌داری سمیت فلزات سنگین را از طریق ایجاد پیوند فلزات با دیواره سلولی‌شان و در نتیجه غیرمتحرک شدن آن‌ها کاهش دهد (اختر و همکاران، ۲۰۰۷). از آنجایی که اندوفیت‌ها (از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها) می‌توانند در درون بافت گیاه گسترش پیدا کنند، احتمال دارد که با میزبان خود ارتباط برقرار کنند و رقابت کمتری نسبت به مواد مغذی صورت می‌گیرد و از تغییرات نامطلوب در محیط‌های ریزوسفر و فیلوسفر (اندام هوایی) محافظت می‌شوند (کریستین و میراندا، ۲۰۱۳؛ گایرو و همکاران، ۲۰۱۳). اندوفیت‌ها ممکن است پتانسیل بیشتری نسبت به میکروب‌های ریزوسفر در گیاه‌پالایی داشته باشند (خان و دوتی، ۲۰۱۱). رابطه‌ی بین ریزجانداران و ریشه‌های گیاهان به شدت بر رشد و بقای گیاه تأثیر می‌گذارد. ویژگی‌های ریزجانداران ریزوسفر مقاوم در برابر فلزات سنگین و یا افزایش رشد گیاهان می‌تواند سبب ایجاد راه‌کارهای سازگار با محیط زیست و مقرون به صرفه برای احیاء خاک‌های آلوده به فلزات سنگین شود. بهره‌برداری از اندوفیت‌های مقاوم در برابر فلز نیز برای گیاهان میزبان مهم است؛ زیرا می‌توانند مواد مغذی را برای گیاهان فراهم کنند و متابولیت‌های تولید شده توسط ریزجانداران می‌توانند، قابلیت زیستی فلز در ریزوسفر گیاهان را افزایش دهند (دنگ و کائو، ۲۰۱۷).

یکی از اصلی‌ترین ریزجانداران موجود در ریشه، قارچ‌های میکوریزا هستند که ممکن است نقش حفاظت از ریشه‌ی گیاهان را در برابر سمیت ناشی از فلزات سنگین بر عهده داشته باشند (لیوال و همکاران، ۱۹۹۷). سرعت فرآیند گیاه‌پالایی به‌دلیل رشد آهسته‌ی گیاهان انباشت‌کننده‌ی مضاعف فلزات

سنگین کند می‌باشد (لینگر و همکاران، ۲۰۰۲؛ خان، ۲۰۰۳). بیشتر گیاهان انباشت‌کننده‌ی مضاعف فلزات سنگین دارای ریشه‌ی کم عمق، زیست‌توده کم و رشد آهسته هستند، بنابراین نیاز به زمان زیادی برای اصلاح نقاط آلوده برای دستیابی به نتیجه‌ی مطلوب دارند. روابط میکوریزی سطح جذبی گیاه را به دلیل تولید هیف‌های قارچی افزایش می‌دهد که در نتیجه سبب افزایش جذب آب و مواد معدنی می‌شود. افزایش توانایی جذب مواد معدنی سبب افزایش بیشتر تولید زیست‌توده می‌شود که پیش‌نیازی جهت پاکسازی محیط می‌باشد. قارچ‌های میکوریزی مواد تحریک‌کننده‌ی رشد گیاه را نیز تولید می‌کنند و افزایش تغذیه‌ی معدنی، باعث افزایش رشد و زیست‌توده ضروری برای انباشت می‌شود که می‌تواند راهبرد کارآمدی برای پاکسازی خاک‌های آلوده باشد (خان و همکاران، ۲۰۰۰).

قارچ‌های خانواده Sebacinaceae نیز می‌توانند نقش میکوریز/ را برای گیاه بازی کرده و باعث افزایش رشد رویشی گیاه شوند (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۱). *Piriformospora indica* جزء این خانواده از قارچ‌ها می‌باشد (ورما و همکاران، ۱۹۹۸) و از آنجایی که مانند قارچ آربوسکولار میکوریز/ همزیست داخلی ریشه بوده و ویژگی‌های آن‌ها را تقلید می‌کند، به عنوان قارچ‌های شبه میکوریز/ شناخته می‌شود (خارکوال و همکاران، ۲۰۰۷؛ لاگتنبورگ و همکاران، ۲۰۰۹). قارچ‌های شبه میکوریز/ مانند قارچ‌های تریکودرما توانایی زیست‌پالایی و همچنین افزایش مقاومت گیاه به عناصر سنگین را دارا می‌باشند (کریمی و همکاران، ۲۰۱۱).

از طرفی، فناوری نانو به عنوان یک فناوری بالقوه است که می‌تواند برای پاکسازی محیط زیست و کاهش مسمومیت گیاهان با فلزات سنگین مؤثر باشد (شن و همکاران، ۲۰۰۹؛ دیکسون و همکاران، ۲۰۱۰). یکی از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو استفاده از نانوکودها^۱ برای تغذیه گیاهان می‌باشد (رضایی و همکاران، ۱۳۸۸). نانو کودها به صورت کامل جذب گیاه شده و به خوبی نیازها و کمبودهای غذایی را رفع می‌کنند. از مزایای استفاده از نانوکودها می‌توان به مواردی چون قیمت کم، تأثیر بالا،

^۱ Nano fertilizers

قابلیت حل‌پذیری زیاد در آب و کنترل‌پذیری بیشتر اشاره نمود (کوچکی و خواجه حسینی، ۱۳۸۷). آهن یک جزء تشکیل دهنده آنزیم‌های انتقال‌دهنده الکترون است که در فتوسنتز و تنفس میتوکندری‌ها فعال بوده و بر مقادیر کلروفیل اثر می‌گذارد (گاردنر و همکاران، ۲۰۱۱). نانو ذرات آهن با توجه به سطح ویژه بالا که منجر به تراکم بیشتر مکان‌های جذبی و ظرفیت بالای حذف فلزات سنگین می‌شوند، برای اهداف احیایی، جاذب قابل‌توجهی هستند. علاوه بر این، خواص مغناطیسی نانو ذرات آهن باعث تسهیل و جداسازی سریع نانو ذرات آهن از آب و خاک می‌شود (غفاری و همکاران، ۱۳۹۱). از طرفی، تغذیه برگ‌ها از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم مصرف است (سوئیدر، ۲۰۰۰). مصرف عناصر کم‌نیاز از طریق کاهش اثرات منفی یون‌های سمی می‌تواند، مقاومت گیاهان را در برابر تنش افزایش دهد (الفولی و همکاران، ۲۰۱۱).

گیاه دارویی خرفه با اسم علمی *Portulaca oleracea* و با نام انگلیسی Purslane از تیره خرفه (Portulacaceae)، گیاهی گرمادوست است که مسیر فتوسنتزی آن از نوع C₄ بوده و قابل تبدیل به CAM می‌باشد. خرفه حاوی مقادیر زیادی مواد با خواص درمانی فوق‌العاده و ترکیبات بی‌نظیر چربی مانند امگا ۳ (اسید لینولنیک) و اسیدهای چرب غیراشباع دیگر و همچنین دارای مقدار قابل‌ملاحظه‌ای ویتامین‌های A، C، E و بتا کاروتن می‌باشد و توانایی خنثی کردن رادیکال‌های آزاد را دارا بوده و پتانسیل جلوگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان و بیماری‌های عفونی را دارا می‌باشد (صفدری و کاظمی تبار، ۲۰۰۹؛ شیدفر، ۲۰۰۹). این گیاه از نقطه نظر فیزیولوژیکی دارای قابلیت تحمل بسیار بالا در محیط‌های آلوده به فلزات سنگین بوده و گیاه مناسبی برای کاشت و پالایش محیط و خاک از فلزات سنگین به‌شمار می‌رود (تایواری و همکاران، ۲۰۰۸).

با توجه به مطالب بیان شده به‌نظر می‌رسد که استفاده از پتانسیل‌های زیستی همچون قارچ‌های اندوفیت و کاربرد نانوذرات بتواند تا حدودی در پالایش خاک‌های آلوده مؤثر باشد.

۱-۱-۲- فرضیه‌ها

- ۱) تلقیح با قارچ‌های اندوفیت افزایش تحمل به کادمیوم در گیاه خرفه را در پی خواهد داشت.
- ۲) کاربرد نانوذرات آهن با کاهش مسمومیت گیاه به کادمیوم، در افزایش پتانسیل گیاه‌پالایی خرفه مؤثر خواهد بود.
- ۳) تلقیح با قارچ‌های اندوفیت موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه خرفه می‌شود.
- ۴) برهمکنش مثبت و معنی‌داری بین قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن از نظر بهبود گیاه‌پالایی تحمل به کادمیوم در خرفه وجود دارد.

۱-۱-۳- اهداف اصلی

- ۱) تعیین اثر قارچ‌های اندوفیت در بهبود تحمل به کادمیوم در گیاه خرفه.
- ۲) بررسی کاربرد نانوذرات آهن در تحمل به تنش عنصر سنگین کادمیوم در گیاه خرفه.
- ۳) بررسی برهمکنش قارچ‌های اندوفیت و محلول‌پاشی نانوذرات آهن در پتانسیل گیاه‌پالایی خرفه
- ۴) ارزیابی برهمکنش قارچ‌های اندوفیت و محلول‌پاشی نانوذرات آهن بر سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی مؤثر در پتانسیل گیاه‌پالایی خرفه.

۱-۲- کلیات

۱-۲-۱- آلودگی محیط زیست به فلزات سنگین

آلودگی محیط زیست یکی از مهم‌ترین دغدغه‌های بشر است که سلامت انسان‌ها و سایر موجودات زنده را به خطر انداخته است. یکی از انواع آلاینده‌های سمی مهم در محیط‌زیست، به ویژه خاک، آلودگی فلزات سنگین است. آلودگی خاک به فلزات سنگین به سرعت طی دهه‌های اخیر روبه افزایش بوده و در حال حاضر تقریباً ده درصد از خاک‌های کره زمین آلوده به فلزات سنگین هستند (ایجساکرز، ۲۰۱۰). آلودگی خاک به وسیله‌ی فلزهای سنگین با آلودگی آب یا هوا متفاوت است، چراکه فلزهای سنگین درون خاک به مدت طولانی‌تری نسبت به دیگر بخش‌های بیوسفر باقی می‌مانند و در خاک دوام و بقای بیشتری دارند (لاسات، ۲۰۰۲). معضل اصلی مربوط به فلزهای سنگین آن است که این آلاینده‌های غیرآلی برخلاف آلاینده‌های آلی تجزیه پذیر نیستند. این واقعیت، فلزهای سنگین را به یکی از خطرناک‌ترین گروه آلاینده‌های زیست‌محیطی تبدیل کرده است (کاباتا-پندیاس، ۲۰۰۱). مهم‌ترین راه ورود فلزات سنگین به محیط فعالیت‌هایی چون معدن‌کاری، صنایع ریخته‌گری، لجن و رسوبات باطری اتومبیل، استفاده از کودهای شیمیایی بویژه فسفات، آفت‌کش‌ها، خروجی‌های صنایع، افزایش مصرف سوخت‌های فسیلی و سوزاندن زباله‌ها و استفاده از فاضلاب آلوده جهت آبیاری مناطق کشاورزی می‌باشد (سلیک و همکاران، ۲۰۰۴).

۱-۱-۲-۱- فلزات سنگین

فلزات سنگین عناصری هستند که وزن اتمی آن‌ها بین ۶۳/۵۴۶ تا ۲۰۰/۵۹۰ و جرم مخصوص آن‌ها بزرگتر از ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب است (پایس و بنتون، ۱۹۹۷). به این ترتیب ۵۳ عنصر از عناصر طبیعی جزء فلزات سنگین محسوب می‌شوند، اما تمامی آن‌ها اهمیت بیولوژیکی ندارند، بر اساس حلالیت این فلزات در محیط فیزیکی، ۱۷ عنصر سنگین ممکن است در دسترس سلول‌های زنده بوده و برای موجودات زنده و اکوسیستم‌ها اهمیت داشته باشند (ویست، ۱۹۸۴). از این میان فلزات سنگین آهن

(Fe)، مولیبدن (Mo) و منگنز (Mn) ریزمغذی‌های مهمی هستند. روی (Zn)، نیکل (Ni)، مس (Cu)، واتادیوم (V)، کبالت (Co)، تنگستن (W) و کروم (Cr) فلزات سمی هستند که کم و بیش به عنوان ریزمغذی نیز اهمیت دارند. آرسنیک (As)، جیوه (Hg)، نقره (Ag)، آنتیموان (Sb)، کادمیوم (Cd)، سرب (Pb) و اورانیوم (U) هیچ گونه نقشی از نظر غذایی ندارند (اسچوتزندابل و پول، ۲۰۰۲). اگر میزان این فلزها در خاک به حدی برسد که باعث کاهش فعالیت و تنوع میکروبی، کاهش حاصلخیزی خاک، صدمه به گیاه و حتی سلامتی انسان با ورود به زنجیره‌ی غذایی شود، باعث آسیب‌های ناشی از تنش فلزهای سنگین می‌شود (ازودو و همکاران، ۲۰۰۵). عناصر سنگین اغلب به فرم اکسید، هیدرواکسید، سیلیکات و سولفات و یا به صورت جذب شده بر روی رس، سیلیکات و ماده‌ی آلی یافت می‌شوند (مظفری و همکاران، ۱۳۹۱). این فلزات طیف وسیعی از فعالیت‌های سلولی گیاه شامل فتوسنتز، تنفس، تغذیه معدنی، ساختمان غشاء سلولی و بیان ژن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (ماکسیمیک، ۱۹۹۷). فلزات سنگین با تجمع در دیواره سلول، ورود به سیتوپلاسم و ایجاد اختلال در متابولیسم طبیعی سلول منجر به کاهش رشد می‌شوند (یادوا، ۲۰۱۰). انباشته شدن فلزات سنگین در محیط ریشه سبب کاهش جذب آب و عناصر غذایی، مهار فعالیت آنزیم‌ها، کاهش متابولیسم سلولی، کاهش فتوسنتز، کاهش جذب و در نتیجه مهار رشد، تسریع پیری و حتی مرگ گیاه می‌شود (کانتری، ۲۰۰۶). میزان سمیت هر عنصر در گیاهان مختلف متفاوت و بسیار پیچیده می‌باشد که بستگی به گونه گیاهی، نوع عنصر، غلظت آن، اسیدیته خاک و نوع ترکیبات خاک دارد. بسیاری از عناصر برای رشد گیاه ضروری هستند. با این وجود، مقدار بیش از حد یک عنصر ضروری یا غیر ضروری می‌تواند اثر مخربی بر رشد و نمو گیاه داشته باشد. بنابراین گیاهان باید عناصر ضروری را تا حد پایین‌تر از آستانه سمیت جذب و از جذب عناصر غیرضروری اجتناب ورزند (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

۱-۲-۲- کادمیوم

کادمیوم از خطرناک‌ترین عناصر فلز سنگین با عدد اتمی ۴۸ است، که در طبیعت به صورت اکسید کادمیوم، سولفات و سولفید کادمیوم وجود دارد. علاوه بر این همراه عناصری مانند قلع، روی و سرب در طبیعت مشاهده شده است. فراوانی فرم‌های کادمیوم در محلول خاک شامل Cd^{2+} ، CdSO_4 و CdCl^+ می‌باشد (شفیعی و میرغفاری، ۱۳۹۱). این فلز بیشتر در سنگ‌های معدنی یافت می‌شود، اما استفاده عمده‌ی آن در صنایع باتری‌سازی، رنگ‌سازی، پلاستیک‌سازی و عملیات آبکاری می‌باشد (سانیتا و گابریلی، ۱۹۹۹). کادمیوم به علت سهولت جذب و تجمع در گیاه، نیمه‌ی عمر بیولوژیکی در حدود ۲۰ سال و تحرک و پویایی زیاد در خاک دارای اهمیت ویژه‌ای است (ماسکار، ۲۰۰۷). اثر سمیت کادمیوم برای گیاهان تا ۲۰ برابر سایر فلزات سنگین می‌باشد، از این رو به علت سمیت بالا و حلالیت زیاد عنصر کادمیوم در آب، به عنوان یک آلاینده‌ی قوی محسوب می‌شود (آدریانو، ۲۰۰۱). غلظت معمول این عنصر در خاک ۰/۶ تا ۱/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، غلظت آن در خاک‌های غیرآلوده ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و در خاک‌های آلوده لجن در فاضلاب‌های بریتانیا بیش از ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک گزارش شده است (سماوات و همکاران، ۱۳۸۴). سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۴ در مورد افزایش غلظت کادمیوم در محیط زیست ابراز نگرانی کرده و غلظت مجاز کادمیوم در خاک را بین ۱ تا ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بیان نمود (بورد و همکاران، ۲۰۰۴). تحمل گیاهان نسبت به کادمیوم از ۰/۲ تا ۹ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک متغیر است اما وجود کادمیوم به مقدار ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، رشد گیاهان زیادی را متوقف می‌نماید (کاباتا-پندیاس، ۲۰۰۱). کادمیوم به صورت طبیعی توسط آتشفشان و پس از آن از طریق فعالیت‌های شهری، فعالیت‌های صنعتی همانند معدن‌ها و پالایش فلزات وارد محیط زیست شده است (جوهرن و همکاران، ۲۰۰۷). استفاده از کمپوست‌ها، کودهای فسفاتی غنی از کادمیوم و آبیاری توسط فاضلاب، میزان آن در محیط زیست افزایش پیدا کرده است (چاندرا و همکاران، ۲۰۰۹). گیاهان نقش مهمی در ورود کادمیوم به چرخه غذایی انسان دارند. توانایی گیاهان

مختلف در جذب کادمیوم متفاوت است. به طوری که منشاء ۷۵ درصد از کادمیوم موجود در زنجیره‌ی غذایی غلات و سبزی‌ها می‌باشد (وانگستراند و همکاران، ۲۰۰۷).

۱-۲-۳- اثرات عنصر کادمیوم بر گیاهان و انسان

تأثیر کادمیوم بر حسب نوع گیاه متغیر است (داس و همکاران، ۱۹۹۷)، ولی در حالت کلی سبب کاهش رشد و نمو، تنش اکسایشی (اکسیداتیو)، اختلال در غشای پلاسمایی، اختلال در جذب مواد غذایی در گیاه می‌شود (بالستریس و همکاران، ۲۰۰۱) کادمیوم اگرچه برای رشد گیاه ضروری نیست، اما این فلز به آسانی از راه پوست ریشه جذب می‌شود و پس از آن از راه سیمپلاستی یا آپوپلاستی وارد بافت چوب می‌شود (سانیتا و گابریلی، ۱۹۹۹) و با تولید مواد اکسیدکننده مانند سوپراکسید هیدروژن، جلوگیری از فعالیت سامانه‌ی آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث تنش‌های اکسایشی می‌شود (هسو و کائو، ۲۰۰۷) چنین تغییرپذیری‌هایی ممکن است عملکرد غشای پلاسمولم و تعادل یونی (به ویژه K^+ و بیشتر یون‌های متحرک عرض غشای یاخته‌ای) در سیتوپلاسم را به هم زده و باعث اختلال در عملکرد غشای یاخته‌ای شوند (پندی و شارما، ۲۰۰۲). این عنصر با ایجاد اختلال در سوخت و ساز (متابولیسم) نیتروژن از راه مهار فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند گلوتامین سینتتاز، گلوتامات سینتتاز و نیترات ردوکتاز و همچنین فرایند احیای نیترات سبب کاهش تولید پروتئین‌ها شده و رشد را متوقف کند (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین با مهار فعالیت آنزیم‌های چرخه‌ی کالوین از جمله روبیسکو و زنجیره‌ی انتقال الکترون و آسیب به یاخته‌های روزنه‌ای، باعث کاهش نور ساخت (فتوسنتز) و رشد می‌شود (وانگ و همکاران، ۲۰۰۸) از دلایل دیگر سمیت ناشی از کادمیوم در گیاهان، تأثیر کادمیوم بر جذب و توزیع عنصرهای غذایی در گیاه است که می‌تواند دلیل برخی کمبودهای عنصرها در گیاهان باشد که باعث برهم خوردن تعادل عنصرهای غذایی و کاهش باروری گیاه می‌شود (دودکا و همکاران، ۱۹۹۶). از اثرات این عنصر در انسان می‌توان به بیماری‌های

استخوانی، آماس شش‌ها، نارسایی کلیه‌ها و کبد، بیماری‌های قلبی عروقی و بالا رفتن فشارخون اشاره کرد (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۱).

۱-۲-۲- پالایش خاک

آلوده شدن خاک‌های کشاورزی به فلزهای سنگین یک تهدید جدی است، زیرا رشد و کیفیت محصولات کشاورزی را کاهش داده و سلامتی مصرف‌کننده‌ها را به خطر می‌اندازد. بنابراین کاهش آلودگی فلزهای سنگین در خاک، نقش مهمی در توسعه‌ی کشاورزی ایفا می‌کند (چنگ و هانگ، ۲۰۰۶). پالایش خاک-های آلوده به فلزات سنگین، با توجه به رشد روزافزون جمعیت و نیاز به مواد غذایی بیشتر و محدود بودن زمین‌های زراعی از مسائل مهم دنیای امروزی هست. به طور کلی، امکان تجزیه‌ی زیستی فلزات سنگین به فرآورده‌های با سمیت کمتر یا بیشتر وجود ندارد، لذا این فلزات بدون تغییر در محیط زیست باقی می‌مانند. از این رو، اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین تنها با استفاده از تکنیک‌هایی که این آلاینده‌ها را از خاک خارج نموده و یا آن‌ها را در مکان خود تثبیت نمایند، امکان‌پذیر است (بروس و همکاران، ۲۰۰۵). اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین با استفاده از تکنیک‌های شیمیایی، فیزیکی و یا زیستی صورت می‌پذیرد (بروس و همکاران، ۲۰۰۵). تیمارهای فیزیکی و شیمیایی به صورت برگشت‌ناپذیر خصوصیات خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند، تنوع زیستی را از بین می‌برند و ممکن است که خاک را به یک محیط کشت بی‌فایده و غیرحاصلخیز برای رشد گیاهان مبدل سازند. روش‌های فیزیکی و شیمیایی اصلاح و ترمیم خاک‌های آلوده عمدتاً پرهزینه نیز هستند. اصلاح شیمیایی مستلزم استفاده از مواد شیمیایی برای پاکسازی محیط‌زیست طبیعی است، اما این روش یک روش عمومی نیست، بدین معنا که یک ماده‌ی شیمیایی نمی‌تواند برای زدودن تمام یون‌های فلزی مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این، وجود گروه‌ها و انواع زیادی از مواد شیمیایی، پاکسازی فلزات سمی از محیط زیست را به فرآیندی بسیار پیچیده تبدیل کرده است (بیکر و همکاران، ۲۰۰۰). امروزه نیاز به توسعه‌ی روش-های زیستی اصلاح خاک، که از لحاظ هزینه مقرون به صرفه باشند و آلودگی‌ها را بدون تأثیر گذاشتن

بر حاصلخیزی خاک از بین ببرند، است. استفاده از روش‌های زیستی برای پاکسازی محیط زیست شامل فن‌آوری‌های زیست‌پالایی می‌باشد. زیست‌پالایی بر مبنای استفاده از ریزجانداران طبیعی موجود و یا ریزجانداران ایجاد شده توسط مهندسی ژنتیک به منظور احیای مجدد مکان‌های آلوده و حفاظت از محیط زیست استوار است (بیکر و همکاران، ۲۰۰۰). علاوه بر این گیاه‌پالایی (Phytoremediation) نیز روشی مناسب جهت پاکسازی محیط از آلاینده است. این روش یک روش نویدبخش در حذف آلاینده‌ها از خاک است که به دلیل ارزانی و ایمنی بیشتر محیط، نسبت به سایر روش‌های متداول فیزیکی و شیمیایی تصفیه خاک ارجحیت دارد (علی و همکاران، ۲۰۱۳). گیاه‌پالایی که دربرگیرنده‌ی استفاده از گیاهان برای زدودن، انتقال، تثبیت و یا تقلیل آلودگی‌ها در خاک، رسوبات و آب است، به مجموعه‌ی متنوعی از فن‌آوری‌های گیاه بنیان اطلاق می‌شود که از گیاهان طبیعی موجود و یا گیاهان ایجاد شده از طریق مهندسی ژنتیک جهت پاکسازی محیط‌های آلوده استفاده می‌کنند (تانگول و سابهورام، ۲۰۰۴). خوشبختانه استفاده از فناوری زیستی و توانایی‌های موجود در طبیعت میزان صدمه به محیط زیست را می‌توان به حداقل رساند.

۱-۲-۲-۱- زیست‌پالایی

زیست‌پالایی از جمله تکنیک‌هایی است که از اوایل دهه ۸۰ میلادی مورد مطالعه قرار گرفته (اختر و همکاران، ۲۰۰۷) و در آن از پتانسیل ریزموجوداتی همچون جلبک‌ها، قارچ‌ها، مخمرها و باکتری‌ها به‌عنوان جاذب‌های زیستی برای حذف و جذب فلزات سنگین استفاده می‌شود (تقوی و همکاران، ۱۳۹۳) در طول این فرآیند، میکروارگانیسم‌ها از طریق ایجاد پیوند فلزات با دیواره سلولی‌شان آن‌ها را غیرمتحرک می‌کنند (تقوی و همکاران، ۱۳۹۳). میکروارگانیسم‌ها جذب فلزات سنگین را به طور فعال (تجمع) و یا شکل غیرفعال (جذب) انجام می‌دهند. دیواره‌های سلول‌های میکروبی که عمدتاً از پلی-ساکاریدها، لیپیدها و پروتئین تشکیل شده است که می‌توانند به بسیاری از یون‌های فلزات سنگین متصل شوند و این‌ها شامل کربوکسیلات، هیدروکسیل، آمینه و گروه‌های فسفات می‌شوند (تن‌زاده و

همکاران، ۱۳۹۵). در میان روش‌های پالایش میکروبی به نظر می‌رسد فرآیند جذب عملی‌تر از روند تجمع برای استفاده در مقیاس بزرگتر است. برخی از میکروارگانیسم‌ها که در خاک و آب‌های زیرزمینی زندگی می‌کنند، به طور طبیعی از مواد شیمیایی مشخصی که برای انسان و محیط‌زیست مضر هستند، استفاده می‌کنند. میکروارگانیسم‌ها قادرند که مواد شیمیایی را به آب و گازهای بی‌ضرر از قبیل دی-اکسیدکربن تبدیل کنند. بسیاری از جلبک‌ها و باکتری‌ها ترشحاتی را تولید می‌کنند که فلزاتی که بسیار سمی هستند را جذب می‌کنند. فلزات در اثر احاطه توسط ترشحات از زنجیره غذایی حذف می‌شوند. تخریب (دگرگونی) رنگ‌ها نیز همچنین توسط برخی از باکتری‌های بی‌هوازی و قارچ‌ها اتفاق می‌افتد (تن‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵). در میان این ریزجانداران انتخاب زیست توده قارچی از جهت فراوانی در محیط و کم هزینه بودن از اهمیت بالایی برخوردار است. به طوری که می‌تواند به طور گسترده در این گونه مطالعات مورد استفاده قرار گیرد (تقوی و همکاران، ۱۳۹۳).

۱-۲-۲-۱- قارچ‌های همزیست

مطالعات زیادی نشان داده‌اند که کاربرد ریزجانداران مفید از جمله قارچ‌ها می‌تواند به‌طور معنی‌داری سمیت فلزات سنگین را از طریق ایجاد پیوند فلزات با دیواره سلولی‌شان و در نتیجه غیرمتحرک شدن آن‌ها کاهش دهد، بنابراین جهت پاکسازی زیستی خاک از کارآیی مطلوبی برخوردارند (اختر و همکاران، ۲۰۰۷). بسیاری از قارچ‌ها توانایی رشد در خاک‌های آلوده را به صورت همزیست با ریشه گیاه دارند. قارچ‌های همزیست سطح ریشه گیاهان، ضمن استقرار در بافت اپیدرمی پوست ریشه، تولید شبکه‌ی در هم تنیده‌ی ریشه‌ای در بافت اپیدرمی ریشه گیاهان همزیست می‌نمایند که محل اصلی تبادل مواد بین قارچ و گیاه همزیست است. در مورد نقش این قارچ‌ها در تحمل گیاهان به فلزات سنگین، مهم‌ترین سازوکار بازدارنده از ورود فلزات سنگین به داخل گیاه میزبان جذب آن‌ها توسط پوشش ریشه‌ای قارچ و کاهش دستیابی آپوپلاست، به دلیل آب گریز بودن پوشش قارچی، کلاته شدن توسط ترشحات قارچ و جذب آن‌ها توسط میسیلوم داخلی قارچ است. همچنین ثابت شده است که در هنگام مواجهه قارچ‌های

همزیست با عناصر فلزی فعالیت برخی آنتی اکسیدان ها افزایش یافته و از این طریق به حفاظت ریشه گیاهان کمک می کند (صدری و قرچه، ۱۳۹۲). از جمله این قارچ ها می توان به گونه ی *Trichoderma*، *Rhizopus*، *Aspergillus* و قارچ های میکوریزا/ آربوسکولار اشاره کرد. قارچ های میکوریزا/ آربوسکولار گروه مهمی از قارچ های میکوریزی هستند که توان برقراری رابطه همزیستی با ۸۰ درصد گیاهان را دارند (اسمیت و رید، ۲۰۰۸). گیاهان منابع کربن مورد نیاز قارچ را در اختیار آن قرار می دهند و قارچ با داشتن توانایی در جذب آب و عناصر غذایی از خاک، گیاه را حمایت می کند. هیف های قارچی باعث سرعت بخشیدن به بهبود وضعیت تغذیه ای گیاه می شوند که همین باعث می شود گیاه در برابر تنش های زنده و غیرزنده مقاومت داشته باشد قارچ های میکوریزا/ می توانند عناصر سنگین را در میسلیم های خود جمع کنند و از انتقال آن ها به سلول های گیاهان جلوگیری کنند (خائوساد و همکاران، ۲۰۰۷). گونه های قارچ تریکودرما نیز (*Trichoderma spp.*) به طور معمول در همه ی خاک ها و در اطراف و درون ریشه گیاهان حضور دارند و جزء متداول ترین قارچ های قابل کشت هستند و از اهمیت خاصی برخوردارند، به طوری که امروزه به عنوان اصلاح کننده های خاک در سطح تجاری تولید می شوند (تقوی قاسمخیلی و همکاران، ۱۳۹۳). در همین راستا پژوهشگران گزارش کردند برخی قارچ های اندوفیت شامل *Peyronellaea*، *Alternaria*، *Phoma*، *Mucor*، *Microspora*، *Piriformospora indica*، *Steganosporium* و *Aspergillus* مقاوم به فلزات می باشند، و به وسیله ی سازوکارهای متعددی مانند تغییر ظرفیت، ته نشینی اضافی دورن سلولی و جذب فعال، فلزات سنگین را تحمل کرده و آن ها را از بین می برند (آیشواریا و همکاران، ۲۰۱۴). در ادامه به معرفی بیشتر در مورد قارچ های *Piriformospora indica* و *Trichoderma* خواهیم پرداخت.

۱-۲-۲-۱-۱-۱-۱ قارچ *Piriformospora indica*

قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران از خاک ریزوسفری گیاهان خشکی پسند کنار (*Prosopis juliflora*) و گز (*Zizyphus nummularia*) از صحرای Thar

ایالت Rajasthan کشور هندوستان جداسازی و پس از بررسی‌هایی که بر روی توالی DNA ریبوزومی آن صورت گرفت نشان داد که این قارچ از شاخه Basidiomycota، رده Hymenomycetes متعلق به خانواده‌ی *Sebacinaceae* از راسته‌ی *Sebacinales* است (والر و همکاران، ۲۰۰۵). *P. indica* همزیست داخل گیاهی بوده و زندگی اندوفیتی دارند (والر و همکاران، ۲۰۰۵) از آنجایی که مانند قارچ‌های میکوریزی/آربوسکولار همزیست داخلی ریشه‌ی گیاهان بوده و ویژگی آن‌ها را تقلید می‌کند به عنوان قارچ های شبه‌میکوریز/ (MLF) شناخته می‌شوند و در حقیقت می‌توانند نقش میکوریز/ را برای گیاه بازی کرده و باعث افزایش رشد و تولید گیاه شوند (بلدی و همکاران، ۲۰۰۸). مزیت اصلی MLF نسبت به AM، همزیست اختیاری بودن این قارچ‌هاست و می‌توانند به راحتی در محیط‌های مصنوعی مختلف و بدون نیاز به همزیستی کشت شوند (وارما و همکاران، ۲۰۰۱). *P. indica* قدرت بالایی را در القای افزایش رشدی طی همزیستی با طیف وسیعی از گیاهان را نشان داده است (اولمئولر و همکاران، ۲۰۰۹). قارچ *P. indica* قادر به بهبود رشد و تولید زیست توده در گیاهان مختلف علفی و درختی است. این قارچ همچنین باعث افزایش مقاومت در برابر فلزات سنگین، تنش‌های دما و شوری، قارچ‌های بیماری‌زا و علفکش‌های زیستی شده و تعدیل کننده سیستم ایمنی گیاه می‌باشد (نورا و همکاران، ۱۳۹۶). احتمال می‌رود یکی از سازوکارهایی که باعث می‌شود قارچ بتواند چنین مقاومتی را به گیاه القاء کند، ایجاد یک محیط سلولی با ظرفیت های بالای آنتی‌اکسیدانی باشد (اولمئولر و همکاران، ۲۰۰۹) همچنین، قارچ *P. indica* به طور مستقیم باعث خنثی کردن فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه می‌شود (سان و همکاران، ۲۰۱۰). امروزه قارچ مذکور به عنوان کود زیستی و نیز به عنوان ابزاری برای تحقیقات پایه‌ای به کار می‌رود. *P. indica* تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان با ارزش اقتصادی را افزایش داده و همچنین سبب افزایش رشد و تولید بذر بسیاری از گیاهان می‌شود. این اندوفیت قارچی، مقدار قابل توجهی اسید فسفاتاز برای تحرک طیف گسترده‌ای از اشکال غیرقابل حل یا پیچیده فسفات تولید می‌کند و گیاه میزبان را قادر می‌سازد تا دسترسی کافی به ذخایر فسفر کم تحرک در خاک را داشته باشد (نورا و همکاران، ۱۳۹۶).

۱-۲-۱-۱-۲- قارچ *Trichoderma*

تریکودرما قارچی خاکزی، فرصت طلب، غیربیماریزا، همزیست با ریشه‌ی گیاهان است و به دلیل تنوع متابولیسمی و قدرت رقابتی بالا در بیشتر مناطق از موجودات غالب مایکوفلور خاک است و جزو متداول-ترین قارچ‌های قابل کشت است و به آسانی تکثیر می‌شود (مظلومی لیلی و همکاران، ۱۳۹۴). جنس تریکودرما متعلق به شاخه Ascomycota، رده Pyrenomycetes، راسته Hypocereals و خانواده Hypocereaceae می‌باشد (ساموئل، ۱۹۹۶). طبق بررسی‌های انجام شده بیش از ۳۰ گونه از این جنس شناسایی شده است که برخی از گونه‌های شناسایی شده در ایران شامل *T. koningi*، *T. hamatum*، *T.*، *T. pseudokoningi*، *T. saturnisporum*، *T. virens*، *T. harzianum*، *T. aureoviride*، *T. Citrinoviride*، *T. longibrachiatum*، *polysporum*، *T. inhamatum*، *T. brevicompactum* و *T. asperellum*، *tomentosum* می‌باشند (مؤیدی و مستوفی‌زاده قلم‌فرسا، ۱۳۹۱). توان ترشح آنزیم‌های مختلف خارج سلولی در خاک، توان بالای کلونیزاسیون فراریشه، قدرت همزیستی در ریشه، توان اسپورزایی زیاد، تحمل به شوری و سایر ترکیبات موجود در محیط خاک و ریشه از خصوصیات مهم گونه‌های مختلف جنس تریکودرما به حساب می‌آید (مظلومی لیلی و همکاران، ۱۳۹۴). بعضی از گونه‌های این قارچ توانایی پاکسازی محیط آلوده را داشته و می‌توانند به عنوان یکی از منابع میکروارگانیسمی مهم برای تجزیه زیستی آلاینده‌های موجود در محیط به کار روند و نسبت به روش‌های قدیمی (روش‌های فیزیکی و شیمیایی) ارزانتر و کارآمدتر هستند. مطالعه‌ای در این زمینه نشان داد که تریکودرما از مقاوم‌ترین قارچ‌ها در برابر عناصر سنگین به ویژه کادمیوم بوده و دارای ظرفیت بالایی در جذب این عنصر می‌باشد (تقوی و همکاران، ۱۳۹۴).

۱-۲-۲- گیاه‌پالایی

تکنولوژی زیست‌پالایی متکی بر گیاهان، از نظر لغوی گیاه‌پالایی نامیده می‌شود که به استفاده از گیاهان سبز جهت برداشت آلاینده‌ها از خاک‌های آلوده، آب‌های جاری و در شرایطی که سطح آب‌های زیرزمینی

بالا باشد برای پالایش مخازن آب‌های زیرزمینی آلوده به کار می‌رود. اولین نظر و ایده برای بهره‌گیری از گیاهان در جهت پالایش محیط زیست در سال ۱۹۸۳ ارائه شد، ولی رسیدن به مفهوم کاربردی آن ۳۰ سال به طول انجامید (فرزانی سپهر و هانی، ۱۳۹۵). واژه‌ی گیاه‌پالایی از یک پیشوند لاتین (phyto) به معنای گیاه به اضافه‌ی ریشه‌ی لغوی (remedium) به معنی حذف بدی و تباهی گرفته شده است. از مهم‌ترین مزایای این روش ارزان بودن، ایجاد شرایط مناسب برای رشد و استقرار گیاه، افزایش فعالیت‌های طبیعی پاک‌سازی، تغییر نکردن حاصل‌خیزی خاک بعد از برداشت فلزهای سنگین و دست‌خوردگی کم خاک، قابل استفاده برای ترکیبات آلی و معدنی متنوع، عدم نیاز به تجهیزات گران قیمت و افراد متخصص، ایجاد انرژی حرارتی در حجم وسیع با استفاده از انرژی پتانسیل ذخیره شده، همچنین حضور پوشش گیاهی در سطح خاک مانع از فرسایش و هدر رفت خاک و ایجاد گرد و غبار می‌شود (وینیتا، ۲۰۰۷).

روش‌های مختلف گیاه‌پالایی به شرح زیر است:

۱- کنترل هیدرولیک (Hydraulic control): کنترل هیدرولیک گیاهان به منظور جذب سریع همراه با مصرف زیادی آب است که باعث مهاجرت یون‌های فلزی با آب می‌گردد و به آن فیتوهیدرولیک نیز می‌گویند.

۲- تخریب توسط گیاه (Phyto-degradation): تجزیه مواد آلاینده توسط فرایندهای متابولیکی گیاه و یا تجزیه مواد در اثر ترشح ترکیبات گیاه مانند آنزیم‌ها است که مترادف با تغییر شکل توسط گیاه است.

۳- استخراج توسط گیاه (Phyto-extraction): جذب مواد آلاینده توسط ریشه گیاه و انتقال آن به اندام‌های فوقانی و سپس خارج کردن عنصر مضر توسط برداشت و خروج آن از منطقه آلوده. این روش بیشتر برای رفع آلودگی آب و خاک از فلزات کمیاب اعمال می‌شود.

۴- تثبیت توسط گیاه (Phyto-stabilization): غیر متحرک نمودن آلاینده‌ها در خاک و یا در سطح ریشه و یا رسوبات منطقه ریشه گیاه.

۵- تصعید توسط گیاه (Phytovolatilization): جذب و انتقال عناصر آلاینده و یا تغییر ترکیبات و سپس رها کردن آن‌ها در اتمسفر.

۶- تخریب توسط ریزوسفر (Rhizo-degradation): تجزیه آلاینده‌ها توسط جمعیت‌های میکروبی که در نزدیکی ریشه فعالیت دارند و مترادف آن تجزیه به کمک گیاه است.

۷- تصفیه توسط ریزوسفر: جذب آلاینده‌ها از محلول خاک اطراف ریشه به درون ریشه و یا رسوب آن‌ها روی سطح ریشه (کمری و فرشادفر، ۱۳۹۱).

تا کنون بیش از ۴۰۰ گونه‌ی گیاهی متعلق به ۴۵ خانواده مانند کاسنی (Asteraceae)، شب بو (Brassicaceae)، میخک (Caryophyllaceae)، بقولات (Fabaceae)، نعناء (Lamiaceae)، که از پتانسیل ژنتیکی جذب و تحمل مقادیر بالای عناصر سنگین برخوردار هستند شناسایی شده است (شاه و نانگکینریج، ۲۰۰۷). تعدادی از گونه‌های مرتعی نیز که خاصیت گیاه‌پالایی آن‌ها مطالعه شده است، شامل گون (*Astragalus* spp)، کلاه میرحسن (*Acantholimon oliganthum*)، فستوکا (*Festuca glauca*)، یونجه (*Medicago sativa*)، شبدر سفید (*Trifolium repens*)، قدومه (*Alyssum* spp)، گاو پونه (*Flomideschema parviflorum*)، درمنه دشتی (*Artemisia sieberi*)، شاه تره (*Fumaria officinalis*) و جوسیخ (*Ebenus stellata*) می‌باشد. گیاهانی که جهت گیاه‌پالایی در خاک‌های آلوده به کار می‌روند، باید دارای خصوصیات نظیر سازگاری اکولوژیک با محیط خاک و اقلیم مورد نظر، رشد سریع، مورفولوژی مناسب ریشه، توانایی تحمل فلزات سنگین و رادیونوکلوئیدها باشند. بسیاری از گیاهان دارای چنین توانایی‌هایی هستند، ولی تاکنون تعداد معدودی از آن‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند، بنابراین مطالعات جهت شناسایی و انتخاب گیاهان مناسب دارای اهمیت خاصی می‌باشد (کمری و فرشادفر، ۱۳۹۱).

۱-۲-۲-۲-۱- گیاه دارویی خرفه

خرفه با نام انگلیسی Hogweed Little, Purslane Common و نام علمی *Portulaca oleracea* یکی از گیاهان با ارزش از خانواده Portulacaceae، گیاهی یکساله و گرمادوست است که مسیر فتوسنتزی آن از نوع C₄ بوده و قابل تغییر به CAM می‌باشد (جین و همکاران، ۲۰۱۵). ساقه‌ها و برگ‌های این گیاه بدون کرک، گوشتی، برگ قاشقی شکل با حواشی صاف و بدون دمبرگ، گل‌ها با دو کاسبرگ گوشتی ارغوانی مایل به سبز و گلبرگ زرد رنگ و میوه از نوع کپسول است که دارای تعداد زیادی بذر سیاه رنگ مایل به قهوه‌ای می‌باشد. ارتفاع گیاه تا حدود ۴۰ سانتی‌متر در مراحل بذردهی می‌رسد (طالعی و همکاران، ۱۳۹۷). سازمان بهداشت جهانی به دلیل خواص دارویی متعدد نام اکسیر جهانی یا نوش‌داروی جهانی (Global Panacea) را به آن اطلاق کرده است (جین و همکاران، ۲۰۱۵). خرفه منبع غنی از اسیدهای چرب امگا ۳ (اسید-لینولنیک) و امگا ۶ (اسید لینولئیک) بوده و مصرف این گیاه به دلیل فراوانی اسیدهای چرب غیراشباع به ویژه امگا ۳ و همچنین وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در آن، باعث خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و تقویت سیستم ایمنی بدن می‌گردد و این گیاه را به یک سبزی بسیار عالی در رژیم غذایی انسان تبدیل می‌کند (مونایا-گراسیا و همکاران، ۲۰۱۸). در مصارف دارویی خرفه می‌توان به اجمال اثر ضد اضطرابی و خواب‌آوری، اثر شل‌کنندگی عضلانی، افزایش کلسترول HDL و کاهش کلسترول تام و کلسترول LDL و در نتیجه کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی اشاره کرد (قمری و همکاران، ۱۳۹۴). خرفه از لحاظ گستردگی در سرتاسر جهان یافت می‌شود و به خوبی در شرایط آب و هوایی مختلف رشد می‌کند که گستردگی کشت آن در جهان این گیاه را با تنش غیرزنده مواجه می‌کند (جین و همکاران، ۲۰۱۵). محققین گزارش کردند که خرفه به دلیل تحمل درجه حرارت و تنش‌های رطوبتی بالا مناسب کشت در مناطق خشک و نیمه‌خشک بوده که این ویژگی توسط سازوکارهای چندگانه مثل تولید آنتی‌اکسیدان‌ها، متابولیت‌های ثانویه و تغییر وضعیت تثبیت کربن از سیستم C₄ به سیستم کراسولایی CAM کنترل می‌شود و گیاه را قادر می‌سازد پس از آبیاری و برطرف شدن شرایط نامساعد دوباره به سیستم فتوسنتزی برگشته و علاوه بر رشد و نمو مجدد، به جبران عقب

ماندگی رشد بپردازد (جین و همکاران، ۲۰۱۵؛ مونايا-گراسيا و همکاران، ۲۰۱۸). علاوه بر این، خرفه خاصیت گیاه‌پالایی و توانایی جذب عناصر سنگین را دارد. بنابراین گیاه مناسبی برای کاشت و پالایش محیط و خاک از فلزات سنگین به‌شمار می‌رود (تایواری و همکاران، ۲۰۰۸). ولی از طرف دیگر به نظر می‌رسد در مناطقی که این گیاه به عنوان سبزی کشت شده، در صورت وجود غلظت‌های پایین عناصر سنگین نیز تجمع این عناصر در گیاه می‌تواند سلامتی انسان را به خطر بیاندازد.

۱-۲-۳- فناوری نانو

اصطلاح نانو تکنولوژی برای اولین بار توسط ناریو تانیگوچی مطرح شد. این علم درسال‌های اخیر رشد چشمگیری داشته و نظر دانشمندان سراسر دنیا را به خود جلب کرده است. علم نانو، به تولید ذرات در ابعاد نانومتری می‌پردازد. این ذرات ابعادی در حدود ۱۰۰-۱ نانو متر دارند. درواقع نانوذره‌ها پلی ما بین مواد و اتم تشکیل می‌دهند. تبدیل مواد از ابعاد بزرگ به ابعاد نانو موجب ایجاد خواص جدید در این ذرات می‌شود (وهاتمور، ۲۰۰۵). از این ویژگی‌ها می‌توان به افزایش نسبت سطح به حجم و افزایش نفوذپذیری مواد با کاهش اندازه آن اشاره کرد. نانوذره‌ها خواص ویژه‌ای دارند و این امکان را به آن‌ها می‌دهد تا در زمینه‌های مختلف مورد استفاده قرار بگیرند. از کاربردهای مهم نانو ذرات می‌توان در پزشکی، تولید دارو، تغذیه، مواد آرایشی و بهداشتی، صنایع الکترونیک و بیوتکنولوژی و کشاورزی اشاره کرد (بالا و همکاران، ۲۰۱۴).

۱-۲-۳-۱- کاربرد نانوذرات در کشاورزی

فناوری نانو یک رویکرد جدید در تمامی رشته‌هاست و توانایی تولید مواد، ابزار و سیستم‌های نوین را با دستکاری در سطح اتمی و مولکولی دارد. امروزه حوزه‌ی کاربردی این فناوری به تمامی علوم کشیده شده است که از آن به عنوان یک انقلاب بزرگ علمی دنیا نام برده می‌شود (سیم‌چی و همکاران، ۱۳۸۷). کاربرد فناوری نانو در کشاورزی و صنایع غذایی، اولین بار در نقشه راه وزارت کشاورزی آمریکا در سپتامبر ۲۰۰۳ مورد بحث قرار گرفت (لی و همکاران، ۲۰۱۲). هر چند که تا به امروز استفاده از علم

نوظهور فناوری نانو در بخش کشاورزی عمدتاً مربوط به تحقیقات تئوری بوده است، با این حال نانوفناوری به تدریج در حال گذار از مرحله‌ی آزمایشگاهی به مرحله‌ی عملیاتی و کاربردی است و این امر منجر به حضور محسوس‌تر این فناوری در بخش کشاورزی می‌شود. (باروخ و دوتا، ۲۰۰۹). در عرصه‌ی کشاورزی، فناوری نانو منجر به تغییرات شگرفی در استفاده از منابع طبیعی، انرژی و آب، امکان بازیافت مواد و استفاده‌ی مجدد از آن‌ها می‌شود و پساب‌ها و آلودگی‌ها را کاهش خواهد داد (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰). تولید مواد جدید و کارا، پیشرفت در زمینه‌ی تولید و نگهداری غذای سالم و حفاظت زیست محیطی، از دیگر تغییرات ایجاد شده به وسیله‌ی فناوری نانو در کشاورزی می‌باشد (جوهانسون و همکاران، ۲۰۰۶). یکی از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو در جنبه‌های مختلف کشاورزی در بخش آب و خاک، استفاده از نانوکودها برای تغذیه گیاهان است (رضایی و همکاران، ۱۳۸۸). ذرات کودی می‌توانند با غشاهایی در مقیاس نانو پوشیده شوند که رهاسازی آهسته و مداوم عناصر غذایی را تسهیل می‌کنند. پوشاندن و سیمانی کردن با ذرات نانو و کوچکتر از نانو، باعث ایجاد قابلیت تنظیم رهاسازی عناصر غذایی از کپسول کودی می‌شود (پنام و همکاران، ۱۳۹۵). از این‌رو به کارگیری نانوکودها به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی (به منظور به حداقل رسیدن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد آن‌ها و کاهش تعداد دفعات کاربردشان) می‌تواند یکی از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم مصرف و افزایش جذب این عناصر باشد (دیتا و همکاران، ۲۰۱۵). از بین نانوذرات عناصر کم مصرف، نانوذرات آهن به علت حضور فعال در فرآیندهای اکسیداسیون و حضور در ترکیبات بسیاری از آنزیم‌ها و پروتئین‌ها بیشترین کاربرد را در بخش کشاورزی دارد (بو و همکاران، ۲۰۱۴).

۱-۲-۳-۲- نانوذرات آهن

عناصر ریزمغذی اگرچه به مقدار کم مورد نیاز رشد و تولید گیاهان می‌باشند، اما کمبود آن‌ها اثرات نامطلوبی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان خواهد داشت. در بین عناصر ریزمغذی، آهن نقش کلیدی در تشکیل کلروفیل و فتوسنتز داشته و از اهمیت زیادی در سیستم آنزیمی و تنفس گیاهان

برخوردار می‌باشد. بنابراین کاربرد آن اثر مثبت بر تولید ماده خشک گیاه خواهد داشت. در مقابل از مهم ترین اثرات کمبود آهن، کاهش محتوای رنگدانه های فتوسنتزی است که نتیجه‌ی آن افزایش نسبی کاروتنوئیدها در مقایسه با کلروفیل بوده که در نهایت سبزینگی برگ‌ها و توان فتوسنتزی آن‌ها را کاهش می‌دهد (بیانی و همکاران، ۱۳۹۳). از سوی دیگر کاربرد این عناصر به صورت محلول‌پاشی برگ‌ی به دلیل جذب سریع تر عناصر در اثر تماس مستقیم با سطح برگ و عدم واکنش و تثبیت عناصر در خاک نسبت به روش خاک کاربرد از تأثیرگذاری بیشتری بر عملکرد گیاهان زراعی برخوردار است. بنابراین محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی در شرایط خاک‌های ایران در مقایسه با کاربرد آن‌ها در خاک به دلیل تأمین سریع نیاز گیاه، آسان تر بودن اجرای آن، کاهش سمیت ناشی از تجمع این عناصر در خاک و جلوگیری از تثبیت، مناسب تر خواهد بود (بیانی و همکاران، ۱۳۹۳). فلزات سنگین قابلیت دسترسی و جذب آهن را نیز در آپوپلاست ریشه، جذب به درون سلول‌های ریشه و انتقال به بخش‌های هوایی را کاهش می‌دهند و سبب می‌شوند آهن کمتری در اختیار برگ‌ها قرار گیرد. در وضعیت کمبود آهن، جذب و تجمع فلزات سنگین در گیاه افزایش می‌یابد (تفویضی و همکاران، ۱۳۹۳). بنابراین وضعیت تغذیه‌ای آهن می‌تواند بر جذب اختصاصی و غیراختصاصی فلزات سنگین اثرگذار باشد. از طرفی نانو ذرات آهن با توجه به سطح ویژه بالا که منجر به تراکم بیشتر مکان‌های جذبی و ظرفیت بالای حذف فلزات سنگین می‌شوند، برای اهداف احیایی، جاذب قابل توجهی هستند (غفاری و همکاران، ۱۳۹۱). همچنین ترکیبات نانو با توجه به خصوصیات مطلوب مانند غلظت مؤثر، قابلیت حل‌پذیری مناسب، ثبات و تأثیر گذاری بالا و رهایش کنترل شده، سبب افزایش کارایی عناصر غذایی می‌شوند (نادری و همکاران، ۲۰۱۳a). فرم نانوذرات عناصر ریزمغذی از کارایی بالاتری نسبت به ترکیبات مرسوم برخوردار می‌باشند، بدین ترتیب می‌توان کمبود آهن و افزایش جذب آهن را با مصرف مستقیم نانوذرات آهن در ناحیه ریشه با محلول‌پاشی آن به شاخ و برگ گیاه جبران کرد (سان و همکاران، ۲۰۰۶). بر این اساس استفاده از نانوذرات آهن می‌تواند به عنوان منبعی غنی و قابل اعتماد از آهن برای گیاهان محسوب شود (یوزوم و همکاران، ۲۰۰۹).

فصل دوم

بررسی منابع

۲- بررسی منابع

۲-۱- فلزات سنگین

۲-۱-۱- اثر کادمیوم بر رشد رویشی و عملکرد گیاهان

حضور فلزات سنگین و از جمله کادمیوم در زیست‌بوم‌های کشاورزی از نظر تأثیر بر رشد و عملکرد گیاهان و سلامتی انسان بسیار حائز اهمیت است (مورنو-کاسلس و همکاران، ۲۰۰۰). فلزات سنگین با تجمع در دیواره سلول، ورود به سیتوپلاسم و ایجاد اختلال در متابولیسم طبیعی سلول منجر به کاهش رشد می‌شوند (یادوا، ۲۰۱۰). انباشته شدن فلزات سنگین در محیط ریشه سبب کاهش جذب آب و عناصر غذایی، مهار فعالیت آنزیم‌ها، کاهش متابولیسم سلولی، کاهش فتوسنتز، کاهش جذب و در نتیجه مهار رشد، تسریع پیری و حتی مرگ گیاه می‌شود (کانتری، ۲۰۰۶). عنصر سمی کادمیوم اگرچه برای گیاه ضروری نیست، اما به آسانی از طریق سیستم ریشه‌ای جذب و از راه سیمپلاستی و آپوپلاستی وارد بافت گیاهی می‌شود و اغلب در واکوئل سلول تجمع می‌یابد (سانیتا و گابریلی، ۱۹۹۹). حضور کادمیوم در محیط رشد گیاه باعث کاهش سرعت تبخیر و تعرق و جذب یون به وسیله گیاه شده و با اختلال در جذب آب و کاهش غلظت دیگر یون‌ها، بازدارنده‌ی انجام فعالیت‌های طبیعی ریشه می‌شود این کاهش جذب عنصرهای غذایی و آب، باعث کاهش در رشد گیاه و وزن اندام‌های هوایی می‌شود (وسلو و همکاران، ۲۰۰۳). تفاوت در عکس‌العمل گیاه و میزان سمیت به علت تفاوت در میزان کادمیوم محیط ریشه، تداوم تیمار و به ویژه نوع گیاه و رقم آن است (حسن و همکاران، ۲۰۰۶). در گیاه گوجه فرنگی، اضافه کردن ۱۰ میکرومولار کادمیوم باعث کاهش وزن خشک برگ، ساقه و ریشه به ترتیب به میزان ۶۹/۸، ۶۷/۲ و ۸۶/۳ درصد شد (دونگ و همکاران، ۲۰۰۵). ابوکاظم و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که تیمار ۱۰ میکرومولار کادمیوم در گیاهان گندم در طی ۱۵ روز باعث کاهش ۲۰ درصدی میزان رشد نسبی در این گیاهان گردید. کاهش میزان رشد نسبی (RGR) در چغندر قند نیز توسط گریگر و همکاران (۱۹۹۱) گزارش شده است. همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شد که در گیاهان جوان جو، تحت

تیمار کادمیوم با غلظت ۵۴ میکرومولار، میزان رشد نسبی ۸۵ درصد کاهش یافت (واسیلو و همکاران، ۱۹۹۷).

کاهش رشد رویشی گیاه در اثر کاربرد فلزات سنگین همانند کادمیوم و مس در لوبیا (هولادار، ۲۰۱۴)، نخود (فیاضان و همکاران، ۲۰۱۱)، ذرت (پوراکبر و ابراهیمی‌زاده، ۱۳۹۲) و کاهش عملکرد در یونجه (ایرفان و همکاران، ۲۰۱۳) نیز گزارش شده است. مشایخی و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند کاربرد کادمیوم باعث کاهش طول ساقه گیاه همیشه بهار شد. شکاری و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند مصرف کادمیوم اثر منفی بر عملکرد و برخی شاخص‌های مورفولوژیکی گیاه فلفل داشت، به طوری که افزودن ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار در حجم ریشه، طول ریشه، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه، تعداد میوه و وزن خشک میوه نسبت به تیمار شاهد گردید. کاهش در تعداد برگ متناسب با افزایش میزان کادمیوم نیز توسط بسیاری از محققان گزارش شده است (علی‌خان، ۲۰۱۲؛ سیدهو و همکاران، ۲۰۰۸). انباشته شدن کادمیوم در بسیاری از گیاهان باعث کمبود آهن، منیزیم و کلسیم شده و سبب توقف ساخت سبزینه‌ها، کاهش نورساخت و رشد شده و در نتیجه باعث کاهش شمار برگ، وزن خشک ریشه و سطح برگ، ارتفاع بوته و میزان زیست توده‌ی گیاهی می‌شود (چفیی و همکاران، ۲۰۰۳). از طرفی کاهش طول ریشه یک تغییر سازشی، به هدف کاهش سطح جذب یون‌های سمی می‌باشد. چون ریشه گیاهان اولین محل برخورد فلزات سنگین خاک با گیاه است، کاهش طول ریشه در مقایسه با بخش‌های هوایی گیاه قابل توجه است (کبیر و همکاران، ۲۰۰۸). کاهش طول ریشه گندم تحت تنش کادمیوم در مطالعات گاجسکا و اسکلودسکا در سال ۲۰۱۰ دیده شد. ماکسیموویک و همکاران (۲۰۰۷) نیز با بررسی اثر کادمیوم و نیکل بر ویژگی‌های تشریحی ریشه ذرت مشخص کردند که اثرات کادمیوم بر ساختار تشریحی ریشه به مراتب نسبت به نیکل بیشتر است. بطوریکه در گیاهانی که در معرض کادمیوم قرار گرفته‌اند، ضخامت کورتکس و اندازه سلول‌های پارانشیم نسبت به گیاهان تحت تیمار نیکل بیشتر بوده است.

۲-۱-۲- اثر کادمیوم بر صفات فیزیولوژیک گیاهان

حضور فلزات سنگین در منطقه ریزوسفر و ورود آن‌ها به گیاه باعث کاهش رشد شده و متابولیسم سلولی را بر هم می‌زند. بنابراین بر فرایندهای مهمی مانند انتقال آب، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، فتوسنتز و بر مقدار کلروفیل اثر منفی می‌گذارد (ویتوریا و همکاران، ۲۰۰۵). اثرات مستقیم فلزات سنگین بر واکنش‌های نوری فتوسنتز شامل تأثیر بر احیا NADP و فسفریلاسیون نوری و اثرات غیرمستقیم آن بر فرآیند سنتز و تجزیه کلروفیل، تغییر در نسبت کلروفیل a به b و رقابت با سایر فلزات ضروری می‌باشد (آگاروال و همکاران، ۲۰۱۱). یافته‌های برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فلزات سنگین می‌توانند در غلظت‌های پائین سبب افزایش میزان کلروفیل a و b (قربانعلی و کیاپور، ۱۳۹۱) و در غلظت‌های بالا موجب کاهش این رنگدانه‌ها شوند (جوهن و همکاران، ۲۰۰۹).

از بین فلزات سنگین کادمیوم با تشکیل کمپلکس‌های پیچیده با پروتئین‌ها در بسیاری از اعمال سلول‌ها دخالت کرده و تغییرات ژنتیکی و بیوشیمیایی را در گیاه ایجاد می‌نماید (سریده‌ها و همکاران، ۲۰۰۴). کاهش زیست توده گیاه، پیامد مستقیم مسمومیت ناشی از کادمیوم است که به واسطه جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل، کاهش فتوسنتز و ممانعت فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین فتوسنتزی رخ می‌دهد. کادمیوم مانع رشد ریشه و ساقه، تسریع، پیری برگ، مقاومت روزنه‌ای، عقیمی و گسیختگی غشای سلولی می‌گردد. کاهش میزان کلروفیل تحت تنش کادمیوم می‌تواند به علت مهار بیوسنتز کلروفیل، احتمالاً به واسطه مهار سنتز آمینولوونیک اسید و تشکیل پروتوکلروفیل رداکتاز باشد (پراساد، ۱۹۹۵). کادمیوم با اختلال در جذب عناصر غذایی مهم چون Fe و Mg سبب اختلال در سنتز کلروفیل می‌گردد. ممانعت از عمل احیای آهن III در ریشه منجر به کمبود آهن II و در نتیجه کاهش فتوسنتز می‌شود. همچنین کادمیوم با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین‌های کمپلکس LHCII در سطح رونویسی سبب فتواکسیداسیون کلروفیل تازه تشکیل شده، نیز می‌شوند (تزیولکا و همکاران، ۱۹۹۹). در مطالعات بسیاری گزارش شده است که با افزایش میزان کادمیوم مقدار کلروفیل کل در گیاه کاهش می‌یابد که

از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به گیاهان عدس (بارنده و کاوسی، ۱۳۹۵)، گلرنگ (نورانی آزاد و کفیل‌زاده، ۱۳۹۰)، کلزا (باریلا و همکاران، ۲۰۰۱)، زعفران (رستمی و همکاران، ۱۳۹۴) و خرفه (اله‌بخش و همکاران، ۱۳۹۷) اشاره کرد. سلطانی و همکاران (۱۳۸۵) نشان دادند که کادمیوم به طور معنی‌داری سبب کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a و b کلزا در غلظت‌های ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار می‌شود. در سویا نیز کاهش میزان کلروفیل و نیز فتوسنتز در اثر افزایش غلظت کادمیوم گزارش شده است (ایکسو و همکاران، ۲۰۱۳). کاظم علیلو و صدقیانی (۱۳۹۱) نیز عنوان کردند که با افزایش غلظت کادمیوم در خاک از غلظت کلروفیل a و b در برگ‌های گیاه بنگدانه (*Hyoscyamus niger*) به طور معنی‌داری کاسته می‌شود.

از طرفی کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در برابر تنش دارند به همین علت از بین می‌روند. این رنگیزه‌ها در سمیت زدایی کلروفیل نقش دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (سانیتا و گابریلی، ۱۹۹۹). کاروتنوئیدها شامل کاروتن و گزانتوفیل‌ها آنتی اکسیدان‌های چربی دوست با وزن مولکولی کم در کلروپلاست هستند که تحت تنش فلز سنگین غشاهای کلروپلاستی را در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند. کاروتنوئیدها علاوه بر نقش ساختمانی و جذب نور می‌توانند به صورت مستقیم اکسیژن یکتایی را غیرفعال کنند یا از طریق فرونشاندن کلروفیل برانگیخته شده به طور غیر مستقیم از تشکیل اکسیژن یکتایی جلوگیری کنند و بدین ترتیب دستگاه فتوسنتزی را از شروع پراکسیداسیون لیپیدی محافظت می‌کنند (بارنده و کاوسی، ۱۳۹۵). کاهش محتوای کاروتنوئید با افزایش غلظت کادمیوم در مطالعات شی و همکاران (۲۰۱۰) در گیاه گلرنگ، سلطانی و همکاران (۱۳۸۵) در گیاه کلزا و بارنده و همکاران (۱۳۹۵) در گیاه عدس نیز گزارش شده است.

پراکسیداسیون لیپیدی موجب افزایش نشت پذیری غشاهای زیستی در تنش‌های محیطی مختلف از جمله فلزات سنگین می‌گردد (وحید، ۲۰۰۷). فلزات سنگین با غیرفعال کردن آنزیم‌های غشایی (رولی و همکاران، ۲۰۰۶)، تخریب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تخریب غشای سلولی موجب افزایش آسیب

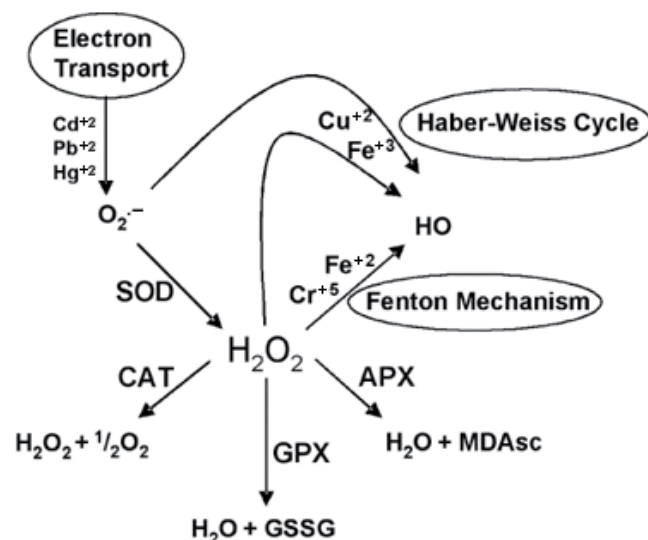
غشایی در سلول می‌گردد. چنین آسیبی به خاطر سازوکارهای متنوع شامل اکسیداسیون و مهار پروتئین‌های غشای اصلی مانند H^+ -ATPase یا تغییر در ترکیب و سیالیت لیپیدهای غشا می‌باشد (هال، ۲۰۰۲). افزایش نشت غشا پلاسمایی منجر به نشت یون K^+ و سایر محلول‌ها مانند قندهای محلول بوده و در نهایت موجب مرگ سلولی می‌شود (اریامرمو و لولودی، ۲۰۱۰). کادمیوم همانند فلزات سنگین دیگر با اثر بر پیوندهای محتوی نیتروژن و گوگرد پروتئین‌ها موجب تخریب کانال‌های غشایی و نشت یون‌ها می‌شود (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۷). نتایج پوراکبر و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که با افزایش میزان کلرید کادمیوم میزان نشت یونی در گیاه ذرت افزایش پیدا کرد ولی این افزایش تنها در سطح ۱۰۰ میکرومولار معنی دار بود. دالوند گماری و افتخاری (۱۳۹۷) نیز بیان کردند که در غلظت ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم نشت الکترولیت به میزان ۲۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت.

از طرف دیگر کادمیوم با کاهش طول ریشه، کاهش میزان انتقال مواد از ریشه به شاخساره، کاهش قابلیت تراوایی ریشه، کاهش اندازه و تعداد آوندهای چوبی، افزایش چوب پنبه‌ای شدن و لیگنینی شدن ریشه، جلوگیری از تولید ریشه‌های مویین و آسیب به نوک ریشه‌های اصلی موجب ایجاد اختلال در جذب آب و به هم ریختن تعادل آبی در گیاه می‌گردد. تجمع پرولین و آمینواسیدهای آزاد در پاسخ به تنش کادمیوم، دلیلی مناسب برای کاهش در میزان نسبی آب بافت و پدید آمدن خشکی فیزیولوژیکی در گیاه است (شکاری و همکاران، ۱۳۹۳). علاوه بر این فلزات سنگین با تأثیر بر عملکرد روزنه نیز حرکت آب از اپوپلاست و سیمپلاست و جذب آب را تحت تأثیر قرار می‌دهد (سانچز-ویوروس و همکاران، ۲۰۱۰). کاهش محتوای نسبی آب برگ با افزایش غلظت کادمیوم خاک در گیاه خرفه (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۷)، بنگدانه (کاظم علیلو و صدیقیانی، ۱۳۹۱)، گل گندم (برین و همکاران، ۱۳۹۴) و کاهو (فرخ و همکاران، ۲۰۱۱) توسط پژوهشگران گزارش شده است.

۲-۱-۳- اثر کادمیوم بر صفات بیوشیمیایی گیاهان

۲-۱-۳-۱- مراحل تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)

مسمومیت با فلزات آلوده کننده تنش اکسیداتیو را القا می‌کند زیرا افزایش غلظت فلزات سنگین به وسیله‌ی چندین مکانیسم مختلف در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) دخالت می‌کند (گیل، ۲۰۱۰) (شکل ۱-۲). صدمات تنش اکسیداتیو در اثر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، سوپر اکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل (OH^-) و سایر رادیکال‌های آزاد می‌باشد که به وسیله‌ی احیای متوالی اکسیژن تولید می‌شود. این رادیکال‌ها در سلول‌های گیاهی در طی فرآیندهای متابولیکی طبیعی، مثل تنفس و فتوسنتز، نیز تولید می‌شوند. اگرچه برخی از آن‌ها ممکن است بعنوان مولکول‌های سیگنالینگ مهمی که بیان ژن را تغییر می‌دهند و فعالیت پروتئین‌های دفاعی خاص را تعدیل می‌کند، عمل کنند، تمام ROS ها می‌توانند بشدت برای موجودات زنده در غلظت‌های بالا مضر باشند ROS می‌تواند پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک را اکسید کند که اغلب منجر به تغییرات در ساختار سلول و جهش می‌شود (گیل، ۲۰۱۰). انواع اکسیژن فعال، بر خلاف اکسیژن اتمسفری از میل ترکیبی بسیار بالایی در ترکیب با بیومولکول‌های حیاتی برخوردارند و موجب آسیب به اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، رنگدانه‌ها و همچنین لیپیدها می‌شود که در نهایت مرگ سلول را در پی دارد (وگا و همکاران، ۲۰۰۳). در تحقیقات بسیاری از جمله کرامت و همکاران (۱۳۹۳) در گیاه گندم و ولیزاده کامران و همکاران (۱۳۹۶) در گیاه اسفناج افزایش تولید پراکسید هیدروژن در طی تنش کادمیوم گزارش شده است.



شکل ۱-۲- تولید رادیکال‌های اکسیژن واکنش گر تحت استرس فلزات سنگین (پینتو و همکاران، ۲۰۰۳)

۲-۳-۱-۲- مالون دی آلدئید (MDA)

در اثر تخریب پراکسیدهای اسیدهای چرب اشباع نشده، MDA به وجود می‌آید (رابطه ۱-۲) که به عنوان یک نشانگر برای مشخص کردن مقدار صدمات اکسیداتیو به لیپیدها به کار می‌رود و مقدار آن بسته به میزان شدت تنش متفاوت می‌باشد (استوارت و بولی، ۱۹۸۰؛ داوی و همکاران، ۲۰۰۵).



افزایش مالون‌ها که شاخص مهمی از سنجش میزان خسارت به غشا سلولی است، می‌تواند حاصل افزایش گونه‌های واکنشگر اکسیژن و تنش اکسیداتیو باشد (دیکسیت و همکاران، ۲۰۰۸). رادیکال‌های آزاد پیوند دوگانه اسید چرب را در حضور آنزیم هیدروپراکسیداز هدف قرار داده و سبب تولید مالون‌ها می‌شود یا با گروه متیل اسید چرب جایگزین و پراکسیداسیون غشاء را افزایش می‌دهد (رادوتیک و همکاران، ۲۰۰۰). به طورعموم برای ارزیابی آسیب به غشاهای زیستی و پراکسیداسیون لیپیدی از نشانگر زیستی مالون دی آلدئید استفاده می‌شود. در پژوهش‌های بسیاری نشان داده شد که با افزایش کادمیوم میزان مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به گیاه پریوش (مرادی‌پور و همکاران، ۱۳۹۵) گیاه کلزا، یونجه و ماشک (مظفری و بابایی، ۱۳۹۱) اشاره کرد. ژائو و همکاران

(۲۰۱۱) نیز بیان کردند که میزان ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی گرم بر لیتر کادمیوم سبب افزایش چشمگیر در محتوی مالون دی آلدئید در گیاهان گندم و ذرت گردید. مالون دی آلدئید یک محصول سمی سلولی (Cytotoxic product) ناشی از پروکسیداسیون چربی‌ها (Lipid peroxidation) و نشان دهنده میزان تولید رادیکال‌های آزاد و بافت‌های تخریب شده است (مظفری و بابایی، ۱۳۹۱). میزان بیومارکر مالون دی آلدئید در بافت گیاهی معیاری برای تعیین وضعیت پروکسیداسیون چربی‌ها است. پرو اکسیداسیون چربی‌ها در ارتباط با تولید سوپر اکسید می‌باشد. وجود مقادیر بالای فلزات سنگین در گیاه باعث افزایش تولید سوپر اکسید می‌شود. بنابراین، افزایش میزان بیومارکر مالون دی آلدئید نشان دهنده آن است که یون‌های فلزی توانسته‌اند باعث تحریک ظرفیت تولید رادیکال‌های آزاد در گیاهان عالی بشوند (مظفری و بابایی، ۱۳۹۱).

۲-۱-۳-۳- مکانیسم‌های دفاعی سلول در برابر تنش اکسیداتیو

انواع اکسیژن فعال از ترکیبات بسیار سمی بوده و از میل شدیدی جهت واکنش با بیومولکول‌های حیاتی سلول برخوردار می‌باشند (میتلر، ۲۰۰۴). این مولکول‌های سمی از محصولات اجتناب ناپذیر متابولیسم سلولی به شمار آمده و حتی در شرایط مطلوب محیطی نیز به میزان کم تولید و به بیومولکول‌های حیاتی آسیب می‌رساند (میتلر، ۲۰۰۴)، اما گیاهان نیز مکانیسم‌های حفاظتی مختلفی را برای دفع یا کاهش ROS ها دارند که در سطوح مختلف تنش مؤثر است. سلول‌های گیاهی برای مقابله با آثار منفی اکسیژن فعال و بروز اختلالات متابولیسمی به سازوکارهای دفاعی متعددی مانند چرخه‌ی گلوکاتایون-آسکوربات، مهلر و گزانتوفیل مجهز شده‌اند این چرخه‌ها از همکاری آنزیم‌های آنتی اکسیدان (از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و آنتی اکسیدان‌ها مانند (گلوکاتایون، کاروتنوئید و پرولین) به وجود آمده‌اند (مارتینز و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر سازوکار دفاعی یاد شده آنزیم S-ترانسفراز قادر است ترکیبات سمی خارج سلولی نظیر کادمیوم و متابولیت‌های سمی حاصل از فعالیت

متابولیسمی مانند 4-hydroxynonenal را با کمک گلوکوتانیون به داخل واکوئل منتقل نموده و از تأثیر منفی آن بکاهد (اسچیندر و همکاران، ۲۰۰۸).

۲-۱-۳-۱-۲- آنتی اکسیدان‌ها

۲-۱-۳-۱-۲- پرولین

در تنش‌های گوناگون، تجمع پرولین در گیاه پاسخی در برابر القا تنش می‌باشد و تولید بالای این اسیدآمین می‌تواند سبب تحمل گیاه در مقابل تنش شود (تریپان و همکاران، ۲۰۱۱). این اسیدآمین به عنوان یک ماده اسمزی، برای خنثی کردن اثر تنش (از جمله تنش فلزات سنگین) در گیاه تجمع می‌یابد. به این صورت که گیاه آب درون بافتی خود را در سطح بالایی نگه می‌دارد و می‌تواند اعمال حیاتی خود را انجام دهد. بدین منظور و با سنتز و انباشت ترکیبات آلی مانند انواع کربوهیدرات‌های محلول (گلوکز، فروکتوز) برخی از اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه به ویژه پرولین آزاد و پتاسیم غلظت سیتوپلاسم را بالا می‌برد و از طرف دیگر، یون‌های مسموم کننده جذب شده از محیط را در واکوئل‌ها ذخیره کرده و محیط سیتوپلاسم را برای انجام فعالیت‌های زیستی از راه تنظیم اسمز درون سلولی آماده می‌سازد. علاوه، پرولین سه نقش مهم را به عنوان کلاته کننده فلز، مولکول دفاعی آنتی‌اکسیداتیو و مولکول پیام رسان در طول تنش ایفا می‌کند (حیات و همکاران، ۲۰۱۲). افزایش میزان پرولین در تنش فلزات مختلف و در گیاهان گوناگون گزارش شده است، اما نتایج برخی تحقیقات کاهش میزان آن را در مراحل مختلف رشد گیاه و غلظت‌های متفاوت از فلز موردنظر نشان داده‌اند (آزمت و خان، ۲۰۱۱). در گونه‌های گیاهی مختلف که تحت تنش فلزات سنگین قرار گرفته‌اند تجمع اسیدآمین پرولین مشاهده می‌شود. برای مثال کادمیوم سبب افزایش میزان پرولین در نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) (الحکیم، ۲۰۰۷)، جیوه، سرب و کادمیوم سبب افزایش محتوای پرولین در برگ لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) (زنکین و مونزوروگلو، ۲۰۰۵) و نیترات نقره در گیاه عدسک آبی (*Spirodela polyrhiza*) شد (جیانگ

و همکاران، ۲۰۱۲)؛ همچنین غلظت‌های ۵ و ۷ میکرومول بر لیتر نیترات سرب موجب افزایش میزان پرولین چغندر شد (نادری و همکاران، ۲۰۱۳b).

۲-۱-۳-۳-۲- آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

۲-۱-۳-۳-۱- سوپراکسید دیسموتاز

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از آنزیم‌های کلیدی در سیستم دفاعی آنتی اکسیدان در گیاه بوده و نخستین آنزیم در رفع مسمویت می‌باشد (بلوخینا و فاگرستد، ۲۰۱۰). سوپراکسید دیسموتاز تنها آنزیمی است که قادر به پاکسازی O_2^- می‌باشد (سید رحمانی و معالی‌امیری، ۱۳۹۳) به‌طوری‌که با فعالیت آن رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود (لومونته و همکاران، ۲۰۱۰). این واکنش در طبیعت به‌صورت خود به خودی نیز انجام می‌گیرد، ولی وجود این آنزیم سرعت واکنش را ۱۰ تا ۱۰۰۰۰ مرتبه نسبت به حالت معمول افزایش می‌دهد (نواک و هکاران، ۲۰۰۴). سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان به‌صورت آیزوزایم‌های مختلف وجود دارد (پان و همکاران، ۲۰۰۶). آیزوزایم‌های این آنزیم بر اساس عناصر فلزی که به‌عنوان کوفاکتور در آن‌ها به‌کار رفته‌اند در چهار گروه Fe-SOD، Mn-SOD، Cu/Zn-SOD و Ni-SOD رده‌بندی می‌شوند (میوگا و همکاران، ۲۰۰۸؛ بلوخینا و فاگرستد، ۲۰۱۰) Fe-SOD در استرومای کلروپلاست، Mn-SOD در میتوکندری و پراکسی‌زوم (بلوخینا و فاگرستد، ۲۰۱۰) و Cu/Zn-SOD در سیتوسول و تیلاکوئید غشاء وجود دارند (میوگا و همکاران، ۲۰۰۸؛ بلوخینا و فاگرستد، ۲۰۱۰).

افزایش فعالیت آنزیم SOD در حضور کادمیوم و سرب در گیاه اسفناج (ولیزاده کامران و همکاران، ۱۳۹۶) و عنصر سرب در گیاه بادام زمینی گزارش شده است (ناراشکومار و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین افزایش فعالیت، این آنزیم تحت تنش کادمیوم در گیاه گندم (جواد زرین و همکاران، ۱۳۹۵) و ذرت نیز (کوجی و همکاران، ۲۰۰۹) مشاهده شده است.

۲-۱-۳-۳-۲-۲-۲- کاتالاز

کاتالاز یا هیدروپراکسیداز یکی از بیشترین موارد مورد مطالعه و از شناخته شده‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است. نام این آنزیم در سال ۱۹۰۰ توسط لوو به کار گرفته شد، هر چند که به شکل استاندارد امروزی نبود (سکین و همکاران، ۲۰۱۰). این آنزیم نقش مهمی در جمع‌آوری پراکسید هیدروژن و کاهش اثرات تخریبی آن در پراکسی‌زوم و گلی‌اکسی‌زوم (سکین و همکاران، ۲۰۱۰) و میتوکندری (فویر و نوکتر، ۲۰۰۰) ایفا می‌کند، همچنین پراکسید هیدروژن تولید شده در اثر فعالیت SOD را تجزیه می‌کند. با فعالیت این آنزیم H_2O_2 به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود (بلوخینا و فاگرستد، ۲۰۱۰). پراکسیداسیون حاصل از اکسیداسیون اسیدهای چرب و تنفس نوری در پراکسی‌زوم توسط کاتالاز جمع‌آوری می‌شود (میتلر، ۲۰۰۲). این آنزیم از میل ترکیبی بسیار بالایی با پراکسید هیدروژن برخوردار است و در هیچ غلظتی از پراکسید هیدروژن به حد اشباع نمی‌رسد. علاوه بر این آنزیم کاتالاز از دیگر دهنده‌های الکترون نظیر متانول، اتانول و اسیدفرمیک، هیدروژن دریافت نموده و پراکسید هیدروژن را به آب تبدیل می‌کند (رابطه ۲-۲ و ۳-۲).



به طور کلی در پژوهش‌های مختلفی که به بررسی تأثیر تنش اکسیداتیو بر فعالیت آنزیم کاتالاز پرداخته‌اند، نتایج مختلفی از افزایش و کاهش فعالیت این آنزیم گزارش شده است؛ به عنوان مثال در بعضی از پژوهش‌ها مشخص شد که فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت تنش کادمیوم از جمله رازیانه، سویا و فلفل کاهش یافت (خان و همکاران، ۲۰۰۷؛ چائو و همکاران، ۲۰۰۵)، در حالیکه سایر پژوهشگران افزایش فعالیت این آنزیم را در حضور کادمیوم گزارش کرده‌اند (حسن و همکاران، ۲۰۰۸؛ گیل، ۲۰۱۰).

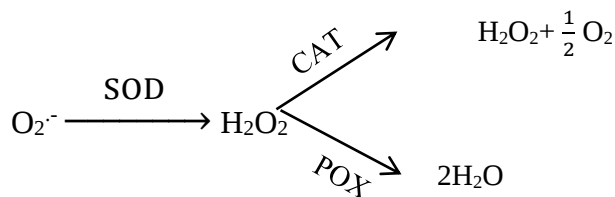
۲-۱-۳-۳-۲-۳- گایاکول پراکسیداز

آنزیم گایاکول پراکسیداز ایندول استیک اسید (IAA) را تجزیه کرده و نقش مهمی در تولید زیستی لیگنین و دفاع از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو با تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن دارد. این آنزیم از ترکیبات آروماتیک از قبیل گایاکول و پیراگالول به عنوان الکترون دهنده استفاده می‌کند (آسادا، ۱۹۹۹). در آزمایش جوادزرین و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که با افزایش سطح کادمیوم میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه گندم در هر دو رقم آزادی و الوند روند افزایشی نشان داد. افزایش فعالیت این آنزیم در حضور کادمیوم توسط سایر پژوهشگران در گیاه برنج، جاتروفا و سایر محصولات زراعی نیز گزارش شده است (دوی چینمائی و همکاران، ۲۰۱۴؛ چائو و همکاران، ۲۰۰۵؛ هسو و کائو، ۲۰۰۷b).

۲-۱-۳-۳-۴- آسکوربات پراکسیداز

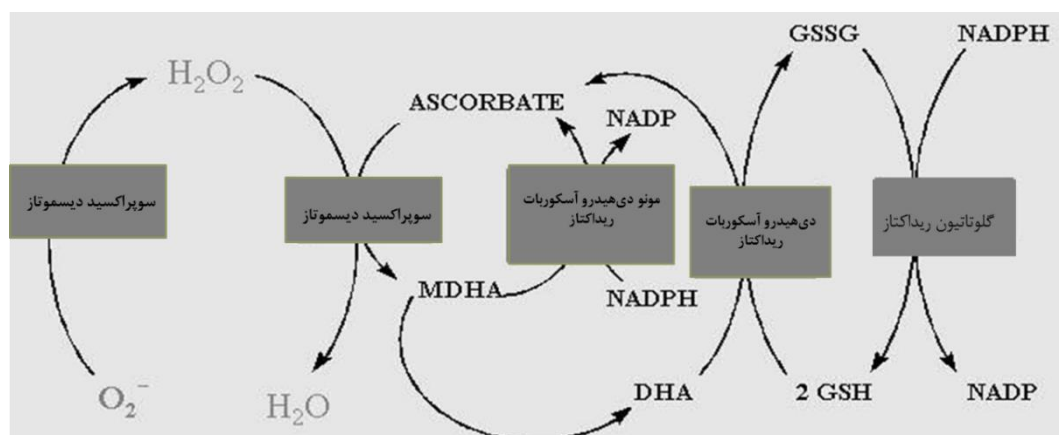
آسکوربات پراکسیداز دارای نقش حیاتی در مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو است. این آنزیم، پراکسید هیدروژن را در کلروپلاست، سیتوسول، میتوکندری و پراکسی‌زوم سلول‌های گیاهی از بین می‌برد (آسادا، ۲۰۰۶) و نقش کلیدی در چرخه گلووتاتیون-آسکوربات، چرخه مهلر و گزانتوفیل ایفا می‌کند (فویر و نوکتر، ۲۰۰۰). به‌طوری‌که چرخه گلووتاتیون-آسکوربات در اندامک‌های کلروپلاست، سیتوسول (میتلر، ۲۰۰۲)، پراکسی‌زوم (دل ریو، ۲۰۰۶) و میتوکندری فعال بوده در حالی که چرخه مهلر تنها در کلروپلاست (آسادا، ۲۰۰۰) حضور دارد. آسکوربات پراکسیداز همانند گلووتاتیون پراکسیداز پراکسید هیدروژن را به آب تبدیل می‌کند. با این تفاوت که پتانسیل هیدروژن لازم برای اجرای این عمل از آسکوربات احیاء تامین می‌شود (فویر و نوکتر، ۲۰۰۰).

مدل زیر به طور کلی نحوه عمل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را نشان می‌دهد.



براساس مدل، ابتدا رادیکال سوپراکسید توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به پراکسید هیدروژن تبدیل شده و سپس پراکسید هیدروژن بر اساس محل تولید خود به وسیله کاتالاز و پراکسیدازها به طور کامل احیاء شده و به آب تبدیل می‌گردد (آسادا، ۲۰۰۰).

افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تنش کادمیوم در بسیاری از گیاهان از جمله ذرت (پوراکبر و اشرفی، ۱۳۹۰)، گندم (جوادرزین و همکاران، ۱۳۹۵) و نخود (گلوواکا و همکاران، ۲۰۱۹) توسط محققین گزارش شده است. گارا و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که همکاری بین آنزیم‌ها در جمع‌آوری انواع اکسیژن فعال امر ضروری است. به عنوان مثال اگر آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیدازها کمتر از حد مطلوب باشند پراکسید هیدروژن تجمع یافته و این مولکول می‌تواند طی واکنش هابر-ویز به رادیکال هیدروکسیل تبدیل شود (بلوخینا و فاگرستد، ۲۰۱۰). از این رو در جمع‌آوری انواع اکسیژن فعال مشارکت و همکاری چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان نیاز است (شکل ۲-۲).



شکل ۲-۲- همکاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در جمع‌آوری گونه‌های اکسیژن فعال (خانا-چوپرا، ۲۰۱۲)

۲-۱-۴- گیاه‌پالایی و فلزات سنگین در گیاهان مختلف

گیاه‌پالایی یکی از روش‌های مورد استفاده در حذف آلاینده‌ها می‌باشد که ضمن سادگی، ارزان قیمت و مؤثر بودن باعث تخریب محیط زیست نمی‌شود. گیاه جذبی یکی از بخش‌های گیاه‌پالایی است که با انباشت فلزات سنگین در اندام‌های هوایی گیاهان بیش انباشتگر، حذف این عناصر از خاک‌های آلوده را امکان پذیر می‌کند (کمری و فرشادفر، ۱۳۹۱). اگرچه گیاهان بیش اندوز قادر به تجمع بیش از اندازه فلزات در اندام هوایی خود می‌باشند، اما بیشتر آن‌ها به دلیل رشد کند و تولیدزیست توده اندک برای کاربرد در گیاه‌پالایی مناسب نیستند. به طور کلی گیاهان به منظور گیاه‌پالایی باید دارای ویژگی‌های قدرت جذب زیاد، تولید زیست‌توده فراوان و انتقال زیاد عنصر از ریشه به ساقه باشند (فتاحی کیاسری و همکاران، ۱۳۸۹). در این زمینه پژوهش‌های بسیار زیادی صورت گرفته است. در یک مطالعه، قابلیت جذب و تجمع فلزهای سنگین کادمیوم و روی موجود در خاک توسط گیاهان علفی (یونجه، شبدر، جو و گونه‌های چاودار) و گیاه خردل هندی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه مبین آن است که اگرچه میزان جذب و تجمع فلزهای کادمیوم و روی در گیاهان خردل هندی بیشتر از گیاهان علفی بوده اما تحمل و مقاومت گیاهان علفی نسبت به آلاینده‌های مزبور از گیاهان خردل هندی بیشتر بوده است (لاسات، ۲۰۰۳). لاسات و همکارانش (۲۰۰۳) نشان دادند که گیاهان متعددی نظیر علف مرغ (*Agropyron repens*)، گیاه جگن (*Carex hirta*) و قدومه کوهی (*Arabis arenosa*) می‌توانند در خاک‌های آلوده به مقادیر زیاد سرب رشد و نمو نمایند. آن‌ها دریافتند که از بین گیاهان مختلف مورد مطالعه علف مرغ به دلیل میزان جذب سرب و بیوماس زیاد، یک گیاه بسیار مناسب جهت پاکسازی خاک‌های آلوده به فلز سنگین سرب خواهد بود. به طوری که با کاشت این گیاه در خاک‌های آلوده به سرب به ازای هر هکتار میزان ۲۵ کیلوگرم سرب توسط گیاه مزبور استخراج گردید. در پژوهش‌های دیگری، محققان نشان دادند گیاهانی از قبیل ذرت (*Zea mays*)، سورگوم یا سورگوم خوشه ای (*Sorghum bicolor*) یونجه (*Medicago sativa*) و درختان بید (از خانواده *salix*) و تبریزی (از تیره *poplar*) که دارای بیوماس زیاد بوده‌اند و جهت استفاده در پاکسازی خاک مناسب می‌باشند (ایسکندر

و کرخام، ۲۰۰۱؛ چن و همکاران، ۲۰۰۱؛ نجات‌زاده و غلامی بروجنی، ۱۳۹۶). خسروی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش دادند که گیاه آفتابگردان نیز می‌تواند به عنوان یک گیاه بیش اندوز در خاک‌های آلوده مورد استفاده قرار گیرد و تأثیر تیمارها بر افزایش مقدار فاکتور انتقال بیانگر تأثیر مثبت آن‌ها بر افزایش کارایی گیاه پالایی می‌باشد. بغدات و عید (۲۰۰۷) نشان دادند که گل راعی غلظت بالایی از کادمیوم را در اندام هوایی بدون اثر منفی بر رشد و تولید ماده خشک تجمع می‌دهد؛ به طوری که، غلظت کادمیوم در اندام هوایی گیاه بیش تر از غلظت این فلز سمی در خاک بود و می‌تواند به عنوان یک تجمع کننده کادمیوم مطرح گردد. تابواری و همکاران (۲۰۰۸) پتانسیل گیاه پالایی دو گونه خرفه *Portulaca oleracea* L. و *Portulaca tuberosa* rox آبیاری شده با پساب صنعتی را بررسی کردند. بیشترین غلظت فلزات در ریشه و کمترین آن در گل در هر دو گیاه حاصل شد. هر دو گونه خرفه بیش انباشتگر فلزات سنگین کادمیوم، کروم و آرسنیک معرفی شد. غلظت کل کادمیوم، کروم و آرسنیک در بخش هوایی *P. tuberosa* rox به ترتیب ۱۵۷۱، ۷۹۵۷ و ۳۱۱۸ میکروگرم بر گرم و در گونه *oleracea* P. L. به ترتیب ۱۱۲۸، ۷۵۵۲ و ۲۴۷۶ میکروگرم بر گرم بود. هر دو گونه خرفه با توجه به توانایی بالای تولید زیست‌توده و تجمع فلزات، برای پالایش مناطق آلوده با پساب‌های صنعتی توصیه شد. آنگلو و همکاران (۲۰۱۵) نیز پتانسیل گیاه پالایی اسطوخودوس کشت شده در فواصل ۰/۳ و ۱ کیلومتر کارخانه ذوب فلزات غیرآهنی را بررسی و گزارش کردند که بخش اندکی از فلزات سرب، روی و کادمیوم در ریشه تجمع پیدا کرده و قسمت عمده آن‌ها به اندام هوایی منتقل شده است، ولی هیچ نشانه ظاهری مسمومیت فلزات در اندام هوایی مشاهده نشد. اسطوخودوس مقاوم به فلزات سنگین بوده و می‌تواند به عنوان بیش انباشتگر سرب و انباشتگر کادمیوم و روی معرفی شود.

۲-۱-۵- سازوکار مقاومت گیاهان در برابر فلزات سنگین

گیاهان به منظور ادامه دادن به رشد خود بر سطح خاک‌های آلوده به فلز، از سه استراتژی اصلی بهره می‌گیرند:

۱- طردکنندگان فلز: این گیاهان طی زمانی که طیف وسیعی از غلظت‌های فلز در خاک موجود است، به طور مؤثری از ورود یون‌های فلزی به درون بخش‌های هوایی خود جلوگیری می‌کنند، با این وجود، غلظت فلزات سنگین در ریشه‌های این گیاهان همچنان بالا خواهد بود. در این گیاهان فاکتور جذب زیستی ریشه بزرگتر از یک و فاکتور انتقال کوچکتر از یک است.

۲- نشانگرهای فلز: این گیاهان فلزات را در بافت‌های هوایی خود انباشت می‌کنند، آثار سمیت فلزات در این زردشدن، چروکیدگی و پیری زود رس برگ‌ها می‌باشد که بسته به نوع و غلظت فلز سنگین در محیط رشد این گیاهان متفاوت است. گیاهان، و به طور کلی غلظت فلز در بافت‌های این گیاهان منعکس کننده‌ی غلظت آن فلز در خاک می‌باشد.

۳- ذخیره کنندگان فلز: این گونه‌های گیاهی که تحت عنوان بیش اندوز نامیده می‌شوند، قادرند فلزات را تا سطوح بسیار بالاتر از غلظت‌هایی که در خاک و یا بافت‌های گیاهان غیربیش اندوز مجاور آن‌ها وجود دارد، در اندام هوایی خود متمرکز و انباشت نمایند. به طور کلی، صرف نظر از غلظت فلز در خاک، گونه‌های گیاهی که بتوانند عناصر نیکل، کبالت، مس، کروم و سرب را به میزان بیش از ۰/۱ درصد وزن خشک و فلز روی را به میزان بیش از ۱ درصد وزن خشک اندام هوایی انباشت نمایند، بیش اندوز محسوب می‌شوند. در این گیاهان فاکتور تجمع زیستی و فاکتور انتقال بزرگتر از یک می‌باشد (نادری و همکاران، ۱۳۹۱).

۲-۱-۶- تأثیر قارچ‌های اندوفیت و همزیست ریشه بر رشد و تحمل به عناصر

سنگین در گیاهان

۲-۱-۶-۱- تأثیر قارچ اندوفیت *P. indica* بر رشد گیاهان

قارچ *P. indica* با تعداد زیادی از گیاهان عالی (تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای) رابطه‌ی همزیستی برقرار می‌نماید، این گیاهان شامل انواع خشکی پسند بوته‌های یکساله و چندساله و درختان چوبی می‌باشند، جالب است که *P. indica* در برقراری رابطه‌ی همزیستی با گیاهان میزبان دارای شباهت‌های زیادی با قارچ‌های

میکوریزی است (سینگ و همکاران، ۲۰۰۵). تحقیقات بسیاری نشان داده است، رابطه‌ی متقابل گیاه و قارچ *P. indica* به صورت همزیست می‌تواند بر رشد و عملکرد اثر مستقیم داشته باشد. قاسم نژاد و بابایی زاد (۱۳۹۰) نشان دادند، تلقیح قارچ پیریفورموسپورا در ریشه گیاه کنگر فرنگی باعث افزایش تعداد، طول و پهنای برگ، طول و وزن ریشه و درصد کافئیک اسید برگ‌های جوان کنگر فرنگی شد. باجاج و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی گیاه دارویی زردچوبه دریافتند که در گیاهان تیمار شده با قارچ خصوصیات مورفولوژیکی (تعداد برگ و عملکرد ریزوم) نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. پژوهش‌ها نشان داده است که همزیستی قارچ *P. indica* به جذب بهتر عناصر غذایی در گیاه کمک می‌کند (زارع و همکاران، ۲۰۱۳). پراساد و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر قارچ *P. indica* بر گیاه *Bacopa monniera* را در شرایط درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار داده و گزارش نمودند که رشد گیاهان تلقیح شده با قارچ به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. سپهری و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند که تلقیح ریشه گیاه جو با قارچ *P. indica* سبب افزایش مقدار وزن خشک اندام هوایی و ریشه به ترتیب به میزان ۳۷ و ۹۷ درصد نسبت به شرایط بدون تلقیح گردید. تأثیر تلقیح قارچ *Piriformospora indica* در افزایش توده زنده گیاهان ذرت (*Zea mays* L.)، جعفری (*Petroselinum crispum* L.)، تنباکو (*Nicotiana tabacum*)، آرتمسیا (*Artemisia annula* L.) و درخت سپیدار (*Bacopa monnieri* L.) توسط وارما و همکاران (۱۹۹۸) نیز گزارش شده است. پژوهش مشابهی مبنی بر تأثیر مثبت تلقیح قارچ *P. indica* در افزایش توده‌ی زنده گیاهان ذرت (کومار و همکاران، ۲۰۰۹)، جو (دشماخ و همکاران، ۲۰۰۶)، برنج (محمدی کشکا و همکاران، ۱۳۹۶)، استویا (سراج و همکاران، ۱۳۹۸) و گندم (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۱) نیز انجام شده است، همچنین محققین نشان دادند که تلقیح استویا با *P. indica* سبب افزایش عملکرد رویشی در این گیاه می‌شود (زارع و همکاران، ۲۰۱۳). این قارچ موجب افزایش طول ریشه و اندام هوایی گیاه از طریق تحریک گیاه در تولید هورمون‌های رشدی، افزایش جذب برخی از عناصر غذایی مانند فسفر و تحمل بیشتر گیاه به تنش‌های خشکی و شوری می‌شود (حاجی‌نیا و همکاران، ۱۳۹۰). علاوه بر این، قارچ این توانایی را دارد که در جذب بعضی عناصر غذایی از جمله فسفر و تحریک تولید هورمون‌های

رشدی به گیاه کمک کرده تا در نتیجه موجب افزایش ریشه‌زایی و رشد قسمت هوایی گیاه شود که این امر منجر به افزایش عملکرد می‌شود (یعقوبیان و همکاران، ۲۰۱۴؛ حاجی‌نیا و همکاران، ۱۳۹۰؛ اولمئولر و همکاران، ۲۰۰۹). همزیستی قارچ پیریفورموسپورا زیست‌توده علف‌های هرز دم روباهی (*Alopecurus myosuroides*)، یولاف (*Avena fatua*) و بی-تیراخ (*Galium aparine*) را به‌طور متوسط به میزان ۳۵ درصد افزایش داد (رابیثری و همکاران، ۲۰۱۷).

۲-۶-۱- تأثیر قارچ اندوفیت *P. indica* بر مقاومت به تنش‌های محیطی به ویژه

عناصر سنگین در گیاهان

قارچ‌های همزیست به صورت مستقیم همانند بهبود تغذیه گیاهان از طریق جذب عناصر غذایی و همچنین افزایش جذب آب توسط گیاه و غیرمستقیم همانند کاهش تنش‌های زیستی (بیماری‌های گیاهی) و غیر زیستی (شوری، خشکی، فلزات سنگین و غیره)، سبب افزایش رشد گیاه میزبان می‌شوند (فنگ و همکاران، ۲۰۰۲). قارچ اندوفیت *P. indica* نیز ضمن بهبود تحمل در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی (روئیز-لوزنو، ۲۰۰۳) سبب افزایش رشد رویشی و عملکرد آن‌ها می‌شود (اولمئولر و همکاران، ۲۰۰۹). این قارچ توانایی زیست‌پالایی و همچنین افزایش مقاومت گیاه به عناصر سنگین را نیز دارا می‌باشد (کریمی و همکاران، ۲۰۱۱). کریمی شروسانی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که هم زیستی قارچ *P. indica* با گیاه جو باعث افزایش زیست توده، ارتفاع و میزان کلروفیل گیاه جو نسبت به گیاه تلقیح نشده شده بود و هم چنین باعث افزایش تحمل گیاه نسبت به غلظت بالای سرب شده بود. همچنین فقیه عبداللهی و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند که همزیستی گیاه ریحان با قارچ‌های *P. indica* و تریکودرما تحت سطوح مختلف نیترات مس اثر مثبتی بر صفات مورفولوژیک و رویشی داشته و تحمل گیاه را نسبت به عنصر مس افزایش داد. کریمی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که در گیاه جو میزان وزن تر و خشک ساقه و ریشه، طول ساقه و تعداد پنجه در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* بیشتر از گیاهان شاهد بود، همچنین تجمع عناصر سنگین در ریشه گیاهان تلقیح شده به طور

ویژه بیشتر از گیاهان شاهد بود. شهابی‌وند و همکاران (۲۰۱۲) نیز بیان کردند که تلقیح قارچ‌های *P. indica* و *G. mosseae* سبب افزایش تحمل گیاه گندم به کادمیوم شده و جذب این عنصر را در ریشه گیاه افزایش می‌دهند. مهد و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که تحت سمیت آرسنیک تلقیح گیاه برنج با قارچ *P. indica* با بهبود صفات رشدی و رنگیزه‌های فتوسنتزی و همچنین سیستم آنتی اکسیدانی و پرولین موجب افزایش مقاومت گیاه برنج به تنش گردید. از طرفی سلیمی تملی و همکاران (۱۳۹۸) با پژوهشی بر روی گیاه استویا نشان دادند که گیاهان تلقیح شده با قارچ اندوفیت *P. indica* فعالیت بهتری را نسبت به گیاهان شاهد در شرایط تنش کادمیوم از خود نشان دادند. همچنین عنوان کردند که در گیاهان تلقیح شده پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نسبت به سطح عدم تلقیح کاهش یافت.

در زمینه‌ی تنش‌های دیگر نیز گزارش شده است که قارچ *P. indica* علاوه بر تحمل سطوح بالای شوری موجب بهبود مقاومت گیاه میزبان از راه‌های مختلف نظیر افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی، اسمولیت‌ها (به خصوص پرولین) و حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی موجب افزایش تحمل به شوری در گیاه میزبان نیز می‌شود (زارع و همکاران، ۲۰۱۲). حاجی نیا و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا تأثیر مثبت و معنی‌داری بر رشد، میزان زیست‌توده تر و خشک اندام‌های هوایی، کلروفیل و محلول‌های اسمولیت در گیاهان گندم تلقیح شده تحت شرایط شور و غیر شور داشت، به طوری که کاربرد قارچ منجر به کاهش اثرات سوء شوری و بهبود رشد گیاه گندم گردید.

در زمینه‌ی اثر قارچ *P. indica* در مقاومت به خشکی در گیاهان نیز تحقیقات متعددی صورت گرفته، در این زمینه نیز قبولی و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی اثر قارچ بر گیاه جو در شرایط تنش خشکی بیان کردند که *P. indica* سبب افزایش زیست‌توده اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد بود، بطوری‌که وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد به ترتیب ۳۹ و ۴۶ درصد افزایش نشان داد. سان و همکاران (۲۰۱۰) نیز در پژوهشی روی کلم

چینی (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis*) تحت تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول نشان دادند که همزیستی با قارچ *P. indica* باعث افزایش رشد رویشی و مقاومت گیاه به خشکی می‌شود. شرامتی و همکاران (۲۰۰۸) نیز در بررسی پروتئین‌هایی که در انتقال سیگنال‌ها یا بیان ژن‌هایی که در مقاومت به خشکی درگیر هستند دریافتند که پس از قرار گرفتن گیاه در معرض تنش خشکی، در برگ گیاهان همزیست شده با قارچ ارسال این سیگنال‌ها سریع‌تر و افزایش سطوح پروتئین‌های مقاومت به خشکی بیشتر بود.

۲-۱-۶-۳- تأثیر قارچ تریکودرما بر رشد گیاهان

برخی گونه‌های تریکودرما به عنوان محرک گیاهان شناخته شده‌اند. این گونه‌های تریکودرما با استقرار و هاگزایی فراوان در محیط خاک و به ویژه اطراف ریشه اغلب گیاهان زراعی، سبزی، صیفی، زینتی نه تنها باعث کاهش عوامل بیماری‌زا در خاک می‌شود، بلکه با سازوکارهای بیوشیمیایی باعث تحریک به رشد اندام‌های زیرزمینی یا هوایی این گیاهان می‌گردد (بوی و لئونگ، ۱۹۸۶). جدایه‌های قارچ تریکودرما به وسیله‌ی مکانیسم‌های مختلف مانند تبدیل بازمانده‌های آلی و تولید کمپوست، رقابت بر سر غذا و فضا، تحریک مکانیسم‌های مقاومت گیاه، تحریک رشد و توسعه گیاه، تغییر شرایط محیطی خصوصاً ریزوسفر و افزایش حلالیت عناصر معدنی جهت جذب آن‌ها توسط گیاه، فعالیت بیوکنترلی خود را اعمال می‌کنند (بنیتز و همکاران، ۲۰۰۴). این قارچ‌ها قادرند به راحتی و به طور سریع عمل تخمیر و تجزیه سلولز، همی سلولز و لیگنین را انجام داده و در تولید کمپوست مفید می‌باشند (هارمان و همکاران، ۲۰۰۴). همچنین بیان ژن‌های تنظیم کننده اکسین را افزایش داده و در گیاهان تلقیح شده تعداد ریشه‌های جانبی بیش از چهار برابر گیاهان تلقیح نشده می‌باشد. متابولیت‌های ثانویه *Trichoderma spp.* هم در تنظیم رشد گیاه و هم در فعال کردن پاسخ‌های دفاعی گیاه نقش دارند (بنیتز و همکاران، ۲۰۰۴). به علاوه جذب کلسیم نیز در حضور تریکودرما افزایش می‌یابد. چون جذب آن با حجم ریشه و جذب آب ارتباط مستقیم دارد و تریکودرما با استقرار ریشه و افزایش حجم ریشه سبب افزایش جذب

کلسیم می‌شود (جبارزاده و همکاران، ۱۳۸۹). از سوی دیگر در تفسیر نحوه اثر عمل عوامل تحریک کننده رشد گیاهی بسیاری از محققین بر این باورند که جدایه‌های مختلف *Trichoderma spp.* با تولید مواد بیوشیمیایی باعث تحریک رشد گیاهان می‌شوند و یا باعث کاهش اثر ممانعت از رشد برخی ترکیبات، توکسین‌های زیستی و شیمیایی موجود در خاک و حتی تغییر در میزان عناصر محلول در خاک می‌شوند. گزارش شده که برخی از جدایه‌های تریکودرما باعث افزایش حلالیت و جذب عناصر ریز مغذی همچون روی، منگنز و آهن و پر مغذی مثل فسفر می‌شوند (عراقی و همکاران، ۱۳۹۰).

بعضی از جدایه‌های تریکودرما به صورت طولانی مدت ریشه‌های گیاه را کلونیزه کرده و به داخل اپیدرم نفوذ می‌کند. بهترین جدایه‌ها قادر به رشد همراه با ریشه‌های گیاه بوده و اثرات مفید طولانی مدتی را مهیا می‌کنند. برای مثال، تیمار بذر ذرت با *T. harizanum* رشد و عملکرد منجر به رشد و عملکرد بیشتر گیاه، افزایش ریشه‌زایی در گیاهان بالغ و کارایی بیشتر استفاده از کودهای نیتروژنه می‌شود. تیمار بذر با تریکودرما روی عملکرد گیاه در طولانی مدت اثر می‌گذارند، زیرا این قارچ به شدت با فضای فراریشه سازگاری داشته و به عنوان یک همزیست ریشه مدت زمان طولانی دوام می‌آورد (هارمان و همکاران، ۲۰۰۴).

طی آزمایش‌های متعددی اثر مثبت قارچ تریکودرما در تحریک رشد گیاه و بهبود شرایط خاک از طریق افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک به اثبات رسیده است. در این راستا می‌توان به آزمایشاتی که بر روی گیاهانی مانند توتون (*Nicotiana sp.*)، گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum*)، بادمجان (*Solanum melanena*)، فلفل (*Piper nigrum*)، میخک (*Dianthus caryophyllus*) و داوودی (*Denderanthema grandiflora*) انجام شده است اشاره کرد (چانگ و همکاران، ۱۹۸۶). میزان افزایش رشد گیاهان تحت تأثیر قارچ تریکودرما در میزبان‌های مختلف متفاوت بوده است. به عنوان مثال، زمانی که تریکودرما (به صورت سوسپانسیون کنیدی) به عنوان افزایش دهنده رشد به خاک اضافه گردید موجب افزایش وزن خشک گیاه در گوجه فرنگی و فلفل شد، اما در لوبیا و تربچه تأثیری بر

افزایش رشد این گیاهان نداشت (چانگ و همکاران، ۱۹۸۶). استفاده از گونه *Trichoderma harzianum* به طور مؤثری میزان محصول نهایی را در خیار افزایش داده است (آلتیناس و بال، ۲۰۰۵). یزدانی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند رشد و نمو گیاهچه سویا در شرایط استفاده از تریکودرما به ویژه در حضور کودهای آلی افزایش یافت. تقوی قاسمخیلی و همکاران (۱۳۹۳) نیز بیان کردند که در اثر کاربرد ترکودرما در گیاه گندم میزان زیست توده به طور معنی داری افزایش یافت. در مطالعه‌ای دیگر اثر بهبود دهنده‌گی رشد نهال کاکائو با حضور جدایه‌ی *T. asperellum* PR11 در بستر پیت و ماسه بررسی شد که ارتفاع بوته، وزن تر ریشه و وزن تر ساقه را به ترتیب ۴۱ سانتی متر، ۸ و ۱۶/۵ گرم نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (تچامنی و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین یافته‌های رودرش و همکارانش ثابت کرد که به کارگیری ریزوبیوم و گونه‌های مختلف تریکودرما باعث افزایش جذب عناصر پتاسیم و فسفر گیاه می‌شود (رودرش و همکاران، ۲۰۰۵). محمدی کشکا و همکاران (۱۳۹۵) نیز نشان دادند تلقیح تریکودرما در گیاه برنج افزایش حدود ۱۲ درصدی عملکرد دانه و ۱۵ درصدی زیست توده را نسبت به شرایط عدم کاربرد قارچ به همراه داشت. متقیان و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که کاربرد گونه‌های مختلف تریکودرما از جمله *T. hamatam*، *T. viride* و *T. harzianum* سبب بهبود ویژگی‌های رشدی در گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.) شد. در پژوهشی دیگر تقی نسب درزی (۱۳۹۱) نشان داد جدایه‌های *Trichoderma* spp و *T. longibraciatum* بیشترین تأثیر را در افزایش طول ساقه، هر یک به میزان ۷۴٪ نسبت به شاهد داشتند. همچنین، همین دو جدایه به ترتیب با ۴۰٪ و ۲۵٪ افزایش وزن تر کل، اختلاف معنی داری با شاهد داشتند. این نتایج نشان دهنده توانایی جدایه‌های ایرانی تریکودرما در افزایش رشد گیاه خیار و پتانسیل آن برای سایر گیاهان می‌باشد. بررسی‌های لی و همکاران (۲۰۱۸) در گوجه فرنگی تیمار شده با *T. harzianum* نشان داد که این گیاهان از نظر جذب آهن و روی نسبت به تیمارهای شاهد ۴۰-۱۵ درصد افزایش داشته‌اند از طرفی آهن، روی، مس و فسفر جذب شده توسط ریشه‌ها به میزان ۷۳-۲۱ درصد نسبت به تیمارهای شاهد بیشتر بوده است.

۲-۱-۶-۴- تأثیر قارچ تریکودرما بر مقاومت به تنش‌های محیطی به ویژه عناصر

سنگین در گیاهان

گزارش‌ها حاکی از آن است که قارچ تریکودرما با کنترل بیولوژیک در برابر عوامل بیماری‌زای خاکری، تولید هورمون‌های رشد، قابل حل کردن عناصر نامحلول، افزایش جذب و انتقال عناصر غذایی، افزایش ریشه‌زایی در ریشه‌های فرعی گیاهان، افزایش سهولت جذب آب، دفع مسمومیت و افزایش انتقال قند و اسید آمینه در ریشه گیاهان و ایجاد مقاومت القایی در برابر تنش‌های محیطی (تنش‌های زیستی و غیر زیستی) سبب افزایش رشد و نمو گیاهان می‌شوند (مژابی و همکاران، ۲۰۱۱). در همین راستا سالاری و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که کاربرد قارچ تریکودرما منجر به افزایش پارامترهای رشدی گیاه زنیان (*copticum Trachyspermum*) در شرایط تنش خشکی می‌شود. در آزمایش مظلومی لیلی و همکاران (۱۳۹۴) مشاهده شد که تأثیر قارچ تریکودرما در خاک‌های دارای تنش‌های شوری و کمبود عناصر پتاسیم و فسفر بر صفات رشدی مورد بررسی در گیاه خیار به لحاظ آماری معنی دار بوده است. شوکلا و همکاران (۲۰۱۲) علت فعالیت فتوسنتزی و عملکرد بیشتر گیاهان برنج تیمار شده با گونه *Trichoderma harzianum* تحت تنش کم آبی را چنین بیان کرده‌اند که تنش کم آبی با ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی و افزایش فعالیت اکسیژن فعال و پراکسیداسیون چربی‌ها، باعث خسارت به غشای سلولی و تشریب رنگدانه‌ها می‌گردد اما افزایش در بیان ژن پروتئین‌های سم‌زدا در گیاهان تلقیح شده با این قارچ موجب رفع سمیت گونه‌های فعال اکسیژن شده و در نهایت باعث پایداری غشای سلولی و جلوگیری از تشریب رنگدانه‌ها می‌گردد. مستوری و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گوجه فرنگی را در اثر تلقیح با قارچ تریکودرما، تحت تنش‌های شوری، خشکی و سرما گزارش کردند. در آزمایشی دیگر نشان داده شد که تلقیح بذر ذرت با قارچ تریکودرما علاوه بر کاهش بیماری، سبب افزایش میزان عملکرد دانه و وزن هزار دانه نسبت به گیاهان شاهد گردید (چاندرا نایاکا و همکاران، ۲۰۱۰). خماری و داوری (۲۰۱۷) نشان دادند که تلقیح تریکودرما با گیاه سویا در شرایط

تنش شوری سبب افزایش محتوای کلروفیل، فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ایی و افزایش فعالیت آنزیم-های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز گردید. طهماسبی شاهمنصوری و همکاران (۱۳۹۶) نیز بهبود شاخص کلروفیل، شاخص برداشت، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه گندم را در گیاهان تلقیح شده نسبت به تیمار عدم تلقیح در شرایط شور گزارش کردند. خوش منظر و همکاران (۱۳۹۸) در بررسی تأثیر قارچ تریکودرما بر گیاه گوجه فرنگی تحت تنش کم آبی بیان کردند که عملکرد تیمارهای قارچی در تنش کم تا متوسط نسبت به تیمارهای شاهد بهتر بوده و تولید ریشه‌هایی با حجم بیشتر و بدنبال آن جذب بهتر آب و عناصر غذایی برای تیمارهای قارچی رخ داده است.

از طرفی پژوهش‌ها نشان داده است که برخی از گونه‌های تریکودرما توانایی تجزیه‌ی زیستی آلاینده‌ها را دارند و به عنوان یکی از منابع میکروارگانیسمی جهت پاکسازی فلزات سنگین در محیط به کار می‌روند (وانگ و ژو، ۲۰۰۵؛ کائو و همکاران، ۲۰۰۸). شاه و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی توانایی قارچ *T. viride* را در جمع آوری کادمیوم و سرب را مورد بررسی قرار دادند نتایج آن‌ها نشانگر توانایی بالایی قارچ تریکودرما در جذب و انباشتگی عنصر کادمیوم بود به طوری که غلظت کادمیوم محیط را در سطوح پایین آلودگی حدود ۹۵ درصد و در سطوح بالای آن حدود ۵۲ درصد کاهش داد. همچنین سینگ و همکاران (۲۰۱۰) از *T. viride* به عنوان جاذب زیستی جهت جذب کادمیوم، سرب و مس استفاده کردند.

پژوهشگران بیان کردند که ساختار پلی ساکاریدی این قارچ‌ها تأثیر زیادی در جذب فلزات سنگین دارد به طوری که با گذشت زمان میزان تجمع فلز توسط تریکودرما افزایش یافته است (بین تینگ و چونگ، ۲۰۰۹). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که گونه‌های قارچی تریکودرما، توانایی همزیستی غیربیماریزایی با گیاه را دارند و قادر به جذب عناصر سنگین هستند. به گونه ای که *T. atroviride* باعث افزایش جذب کادمیوم توسط گیاه خردل و کلزا شده، مقاومت و تحمل گیاه را در خاک آلوده به کادمیوم افزایش داد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). یعقوبیان و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که قارچ تریکودرما

سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش رشد گیاهان خرفه (*Portulaca oleracea* L.) و بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) تحت تنش کادمیوم شد. تقوی و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند که حضور *T. harzianum* در سطح متوسط تا بالای آلودگی به کادمیوم، باعث کاهش فاکتور انتقال کم تر از یک شد که نشان از تأثیر مثبت تریکودرما در تجمع کادمیوم ریشه و عدم انتقال آن به اندام هوایی در گیاه گندم می‌باشد بهبود میزان رشد و عملکرد گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. tomentosum* در گیاه ریحان (فقیه عبدالهی و همکاران، ۱۳۹۴) و قارچ *T. virens* در گیاه رازیانه (علی‌زاده فروتن و همکاران، ۱۳۹۳) تحت تنش مس نیز توسط پژوهشگران گزارش شده است.

۲-۱-۶- اثر نانوذرات به ویژه نانوذرات آهن بر رشد گیاهان و تحمل به تنش‌های

محیطی با تأکید بر تنش عناصر سنگین در گیاهان

اخیراً تأثیر نانوذرات بر جوانه‌زنی و رشد گیاهان مختلف مورد پژوهش‌های گسترده‌ای قرار گرفته است (راستگوی و همکاران، ۲۰۱۷؛ صیدی و هوسن، ۲۰۱۷) برخی از گزارش‌ها حاکی از اثر مثبت استفاده از نانوذرات بر رشد گیاهان بوده‌اند (اصلی و نثومان، ۲۰۰۵؛ رالیا و همکاران، ۲۰۱۵). در حالی که نتایج برخی از پژوهش‌ها نشان‌دهنده‌ی کاهش رشد گیاه در حضور نانوذرات است (راستگوی و همکاران، ۲۰۱۷). تاکنون مکانیزم‌های کاملاً دقیق و شناخته شده‌ای در مورد اثر نانوذرات بر رشد گیاهان مختلف ارائه نشده و اثرات بعضاً متناقض نانوذرات بر رشد گیاهان مختلف، بستگی زیادی به نوع گیاه و نانوذرات مورد مطالعه، شرایط pH و دمای محیط کشت گیاه، واکنش‌های اکسیدی و احیایی در سطح نانوذرات، غلظت و اندازه نانوذرات، میزان جذب نانوذرات در بخش‌های مختلف گیاه مانند ریشه، ساقه و برگ‌ها و چگونگی افزودن نانوذرات به محیط جوانه‌زنی و رشد گیاهان دارد (راستگوی و همکاران، ۲۰۱۷؛ صیدی و هوسن، ۲۰۱۷).

در همین راستا نظران و همکاران (۱۳۸۸) در بررسی اثر زمان محلول پاشی نانوکود آلی کلات آهن بر خصوصیات کمی و کیفی گندم دیم به این نتیجه رسیدند که محلول پاشی در مرحله ساقه دهی بهترین نتیجه را با افزایش ۹۹ درصد عملکرد و ۳۲/۴ درصدی مقدار آهن دانه داشته است. محمدزاده و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که استفاده از نانوکلات آهن باعث افزایش معنی دار محتوای آهن برگ، رنگیزه ها و شاخص سطح برگ در لوبیا چیتی شد. آهن نقش اساسی در رشد و توسعه گیاه، از جمله سنتز کلروفیل و توسعه کلروپلاست، دارد. استفاده از نانوذرات اکسید آهن به عنوان منبع آهن و مواد مغذی دیگر برای رشد جلبک دریایی گزارش شده است (صیدیقی و هوسن، ۲۰۱۷). مطالعات دیگری نشان دهنده ی کاهش نرخ جوانه زنی و سرعت رشد ریشه گیاه خیار در حضور نانوذرات اکسید آهن با غلظت ۵۰۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰ ppm است (ژائو و همکاران، ۲۰۱۵). پژوهش دیگری بیانگر افزایش پارامترهای رشد گیاه گوجه فرنگی و گندم در حضور نانوذرات Fe_2O_3 و رسوب نانوذرات در ریشه گیاه است (مشتاق، ۲۰۱۱؛ مارتینز-فرناندز و همکاران، ۲۰۱۶). شانکرما و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند افزودن نانوذرات Fe_2O_3 به خاک سبب افزایش رشد ریشه و ارتفاع گیاه بادام زمینی در اثر تنظیم فعالیت های آنزیمی و هورمونی آنتی اکسیدان گیاه شده است. رشد ساقه گیاه اسفناج در حضور نانوذرات اکسید آهن پس از ۴۵ روز، بیش از دو برابر نمونه شاهد (بدون حضور نانوذرات اکسید آهن) گزارش شده است (یانن و همکاران، ۲۰۱۶). افزایش نرخ فتوسنتز و جذب آهن در ریشه گیاه کلم، تربچه و چغندر قند نیز در حضور نانوذرات اکسید آهن نیز توسط روی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش شده، اگرچه نانوذرات از ریشه به شاخه ها منتقل نشده اند. افزودن نانوذرات آهن با غلظت ۳۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ ppm به محیط رشد گیاه کدو و لیلیوم منجر به افزایش رشد ریشه گیاه شده، ولی جذب آهن به ساقه صورت نگرفته است (هو و همکاران، ۲۰۱۷).

فناوری نانو فرصت بسیار مناسبی را برای توسعه ی محصولات جدید فراهم می کند، باعث بهبود عملکرد و کیفیت محصولات می گردد و میزان سمیت ناشی از کودها و آفتکش های شیمیایی را کاهش می دهد (سريلانتا، ۲۰۱۱). از طرفی کاربرد نانوذرات امکان تولید ماکرومولکول ها را برای افزایش مقاومت

به تنش در گیاهان فراهم می‌کند و استفاده کارآمد از مواد غذایی و تسريع رشد گیاهان را سبب می‌شود (نایر و همکاران، ۲۰۱۰). مواد نانو با تأثیر بر افزایش جذب مواد غذایی غیر آلی، تسريع تجزیه مواد آلی و حذف رادیکال‌های آزاد در طول فتوسنتز، باعث تسريع این فرایند می‌شوند (خوت و همکاران، ۲۰۱۲). در همین زمینه اختیاری و مراقبی (۱۳۹۰) اثرذرات نانو نقره را بر تحمل به شوری گیاه زیره سبز در مراحل جوانه زنی در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر ذرات نانو نقره در سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های درصد جوانه زنی و قوه نامیه بذور اثر معنی داری داشته و باعث افزایش مقاومت به شوری گیاه زیره سبز می‌شود. صالحی و همکاران (۱۳۸۸) تأثیر پرایمینگ بذر و رشد گیاهچه کلزا در مقایسه با نانو نقره تحت تنش شوری را مورد مطالعه قرار داده و مشاهده کردند که تیمار بذور با نانو نقره باعث بهبود رشد گیاهچه و استقرار بهتر بذور کلزا می‌شود نتایج این تحقیق نشان داد که بهترین تیمار بذری در محیط شور و غیر شور تیمار ۲۰ ppm نانو سیلور می‌باشد که باعث بهبود استقرار کلزا در محیط شور می‌شود.

اثر محلول پاشی نانوذره نقره بر کاهش تنش غرقابی در زعفران مورد بررسی قرار گرفت، نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از نانوذره نقره ۵۰ و ۱۰۰ پی پی ام، اثرات منفی تنش غرقابی را بر ارتفاع گیاه و تعداد بنه جبران کرد (سیف شاهانی و همکاران، ۲۰۱۱). گزارش شده است که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم قادر است توانایی برخی از گیاهان در مقابله با تنش سرما را افزایش دهد (محمدی و همکاران، ۲۰۱۳). از سوی دیگر تحقیقات کوآی و همکاران (۲۰۱۳) حاکی از آن است که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می‌تواند فعالیت فتوسنتزی را در گیاه گوجه فرنگی تحت استرس گرمایی با شدت ملایم بهبود بخشد. فاطمی و همکاران (۱۳۹۶) نشان دادند، محلول پاشی با نانوذرات سیلیسیم سبب بهبود رشدی در گیاه گشنیز در شرایط تنش سرب و بدون سرب شد و اثرات منفی تنش سرب را تا حد قابل قبولی کاهش داد. در زمینه تأثیر نانوذرات آهن بر تحمل به تنش غلامی و همکاران (۱۳۹۵) بیان کردند که کاربرد نانوکلات آهن باعث کاهش میزان مالون دی آلدئید و افزایش پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و در نهایت سبب بهبود و افزایش رشد گیاه ریحان تحت تنش شوری گردید. در

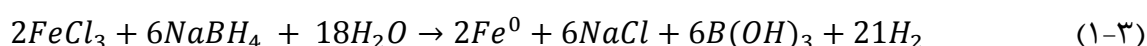
تحقیق دیگری اثنی عشری و انتشاری (۱۳۹۷) گزارش کردند که کاربرد نانوذرات آهن سبب افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش آلومینیوم گردید. طبق گزارش فتحی و زاهدی (۱۳۹۳)، محلول پاشی آهن و روی به شکل نانو ذرات نسبت به شکل معمول آن‌ها تأثیر بیشتری بر رشد گیاهان ذرت دارد. با این حال، شکل نانو از نظر تعدیل اثرات شوری بر رشد گیاه برتری نداشت. حیدری و همکاران (۱۳۹۴) نیز گزارش کردند در سطوح بالای تنش خشکی، محلول پاشی نانواکسید آهن سبب افزایش میزان رنگدانه‌ها، جذب عناصر کانی و در نهایت افزایش عملکرد دانه در گیاه کنجد را در پی داشت. در آزمایش کوناته و همکاران (۲۰۱۷) نیز مشخص گردید که تجمع کادمیوم، مهار رشد ریشه و تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های خیار و گندم با افزودن نانوذرات آهن به‌طور قابل توجهی کاهش یافت.

فصل سوم

مواد و روش ها

۳-۳- سنتز نانوذرات آهن

در ابتدا نانوذرات آهن تحت شرایط آزمایشگاهی تهیه شد. نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایداری شده با اسید آسکوربیک (AAS – ZVIN) در دمای محیط از طریق احیای کلرید آهن (FeCl_3) توسط سدیم بر هیدرات (NaBH_4) بر اساس رابطه ۳-۱ سنتز شد (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۱؛ هانگ و همکاران، ۲۰۱۴؛ سواسری و همکاران، ۲۰۱۵).



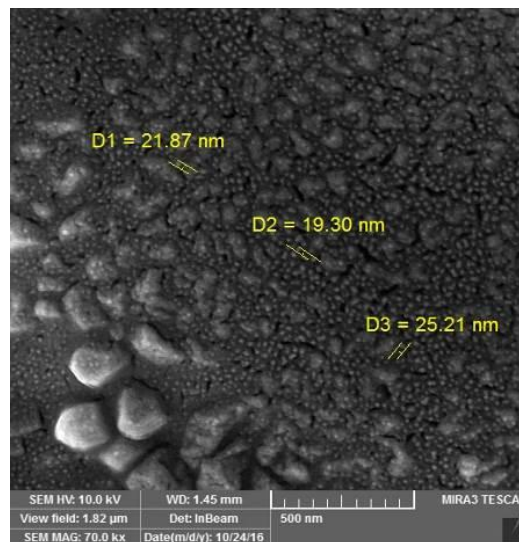
در ابتدا ۱۰۰ میلی لیتر محلول، شامل مخلوط ۰/۱۶ مولار سدیم برهیدرات و ۰/۱ مولار سود (NaOH) در آب دی یونیزه آماده شد. سپس به طور جداگانه ۱۰۰ میلی لیتر محلول (۳۰ میلی لیتر اتانول و ۷۰ میلی لیتر آب دی یونیزه) حاوی مخلوط ۰/۱ مولار اسید آسکوربیک و کلرید آهن ۰/۱ مولار تهیه و در مرحله بعد سدیم برهیدرات حل شده با سود داخل بورت ریخته و به صورت قطره قطره (یک قطره در هر دو ثانیه) به محلول کلرید آهن اضافه گردید. در طول ساخت نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایداری شده محلول به صورت یکنواخت و با سرعت ثابت توسط همزن برقی همزده و در پایان برای اطمینان کامل از شرایط احیا و اتمام واکنش، محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن برقی باقی ماند (شکل ۳-۱).



شکل ۳-۱- سنتز نانوذرات آهن در شرایط آزمایشگاهی (عکس از نگارنده)

۳-۳-۱- اندازه نانوذرات آهن

به منظور تعیین اندازه نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایداری شده (کاشانی و همکاران، ۱۳۹۸) از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده گردید (شکل ۳-۲).



شکل ۳-۲- اندازه نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایداری شده با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

۳-۴- مراحل آزمایشی

۳-۴-۱- آزمایش مقدماتی (مرحله اول)

۳-۴-۱-۱- قالب آماری طرح و تیمارهای آزمایشی

این مرحله به منظور مشخص کردن میزان حساسیت گیاه خرفه نسبت به سمیت عنصر کادمیوم و تأثیر نانوذرات آهن و جهت انتخاب غلظت‌های مناسب تیمارها برای آزمایش تکمیلی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. تیمار آزمایشی شامل شش سطح عنصر کادمیوم (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع کلرید کادمیوم) و پنج سطح محلول پاشی نانوذرات آهن (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) بود.

۳-۴-۱-۲- روش اجرای آزمایش مقدماتی (مرحله اول)

بذر خرفه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. خاک مورد استفاده در این آزمایش به شش قسمت مساوی تقسیم و مقادیر مورد نظر کادمیوم از منبع کلرید کادمیوم به آن اضافه گردید، تا غلظت آن در خاک آزمایش به مقادیر مورد نظر برسد. به منظور مخلوط کردن کادمیوم با خاک، مقادیر کلرید کادمیوم برای هر نمونه خاک در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و با یک کیلوگرم از خاک تیمار مورد نظر کاملاً مخلوط گردید. در مرحله ی بعد خاک حاوی کادمیوم با باقیمانده خاک تیمار مورد نظر مخلوط شد. خاک های آلوده به مدت چهار هفته به منظور انجام برهمکنش های بین کادمیوم و خاک در شرایط رطوبت ظرفیت زراعی در گلخانه نگهداری شدند، تا تعادل لازم بین خاک و کادمیوم فراهم شود. در مرحله ی بعد ابتدا بذور خرفه به مدت ده دقیقه با هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی و سپس تعداد ۵۰ عدد بذر در هر گلدان کشت شد. گیاهچه ها در مرحله چهار برگی تنک شده و به شش بوته در گلدان کاهش یافت. گلدان ها در گلخانه و در شرایط نور طبیعی و دمای ۲۰/۲۸ (روز/ شب) قرار گرفته و به صورت روزانه آبیاری شدند. همچنین برای گلدان ها از زیر گلدانی استفاده شد تا در صورت خروج آب زهکشی، مجدداً به خاک گلدان اضافه گردد. اولین محلول پاشی نانوذرات آهن در مرحله ی هشت برگی صورت گرفت. محلول پاشی در دو مرحله به فاصله زمانی هفت روز یکبار انجام شد. ده روز پس از اتمام دوره ی محلول پاشی، در واقع در انتهای رشد رویشی گیاه خرفه، صفات رویشی (ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و سطح برگ و وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه)، فیزیولوژیک (محتوی نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، کلروفیل a و b ، $a+b$ و a/b ، کاروتنوئید، هدایت روزنه ای و عدد اسید) و بیوشیمیایی (فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز، پرولین، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید و پروتئین محلول برگ) برای انتخاب بهترین سطوح کادمیوم و نانوذرات آهن برای مرحله ی تکمیلی اندازه گیری شد.

۳-۴-۲- آزمایش مقدماتی (مرحله دوم)

۳-۴-۲-۱- قالب آماری طرح و تیمارهای آزمایشی

این مرحله که به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد، تأثیر قارچ‌های همزیست ریشه جداسازی شده، قارچ شاهد *P. indica* و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) بر میزان رشد و همچنین تحمل و گیاه‌پالایی گیاه خرفه به عنصر کادمیوم (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک)، مورد بررسی قرار گرفت و بهترین قارچ‌ها برای مرحله آزمایش تکمیلی انتخاب شدند.

۳-۴-۲-۲- جمع آوری نمونه‌های گیاهی

به منظور جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت نمونه‌برداری از ریشه‌ی تعدادی از گیاهان از منطقه تحت تنش عناصر سنگین شهر ساری (مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی) و گیاهان بومی مازندران و منطقه تحت تنش خشکی شهر شاهرود استان سمنان صورت گرفت. نمونه‌های قارچی از ریشه گیاهانی شامل علف چشمه (*Nasturtium officinale*)، لوئی (*Typha latifolia*)، زولنگ (*Eryngium caucasicum Trauve.*) و اناریجه (*Froriepia subpinnata*) از مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در استان مازندران و گیاه درمنه دشتی (*Artemisia sieberi*) از منطقه شاهرود استان سمنان به صورت تصادفی جمع آوری شدند (شکل ۳-۳). نمونه‌های جمع آوری شده پس از انتقال به آزمایشگاه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های ریشه حداکثر تا ۴۸ ساعت پس از نمونه برداری کشت شدند.



شکل ۳-۳- نمونه‌های گیاهی جمع آوری شده علف چشمه (الف)، لوئی (ب)، اناریجه (ج) و زولنگ (د) از منطقه ساری استان مازندران و درمنه دشتی (و) از منطقه شاهرود استان سمنان (عکس از نگارنده)

۳-۴-۲-۳- جداسازی قارچ‌ها از ریشه‌ی گیاهان

برای جداسازی قارچ‌های اندوفیت از نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده از روش دو آنلا-مالی و همکاران (۲۰۱۳) با اندکی تغییرات انجام شد. بدین منظور نمونه‌های گیاهی به صورت جداگانه، جهت ضدعفونی سطحی با هدف زدودن قارچ‌های اپی فیت، ابتدا در زیر جریان آب معمولی به مدت پنج دقیقه شسته و پس از جداسازی پوست رویی، به قطعات نیم تا یک سانتی‌متری برش داده شدند. پس از آن ضدعفونی نمونه‌ها در زیر هود به این صورت انجام شد: ۱- ابتدا به مدت یک دقیقه در محلول اتانول ۷۵ درصد، ۲- شست و شوی یک دقیقه‌ای با آب مقطر استریل، ۳- به مدت سه تا پنج دقیقه در محلول هیپوکلریت سه درصد (ماده مؤثره)، ۴- شست و شوی یک دقیقه‌ای با آب مقطر استریل، ۵- یک دقیقه در محلول اتانول ۷۵ درصد و ۶- شست و شوی یک دقیقه‌ای با آب مقطر استریل (شکل ۳-۴- ضدعفونی نمونه‌های گیاهی در زیر هود). سپس نمونه‌ها با کمک پنس استریل به منظور حذف آب سطحی اضافی، روی کاغذهای صافی استریل آب‌گیری شدند. پس از اطمینان از رطوبت‌گیری و خشک شدن، هر یک نمونه‌های اضافی ضدعفونی شده و به محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار، منتقل و پس از کشت در پتری در انکوبار در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در شرایط تاریکی به مدت ۳۰-۱۵ نگهداری شدند. پتری‌های کشت به صورت مرتب و روزانه بازبینی شدند. از حاشیه هر پرگنه رشد کرده، توسط سوزن‌هایی ظریف و استریل برداشته و به پتری‌های جدید منتقل گردید.



شکل ۳-۴- ضدعفونی نمونه‌های گیاهی در زیر هود (عکس از نگارنده)

۳-۴-۲-۴- خالص سازی جدایه‌های قارچی

۳-۴-۲-۴-۱- روش تک اسپور

به منظور خالص سازی نمونه‌هایی که دارای قابلیت تولید اسپور هستند، قطعه‌ای از محیط کشت اسپوردار در لوله آزمایش حاوی آب مقطر استریل ریخته و با همزدن آن سوسپانسیون اسپور تهیه گردید. یک قطره سوسپانسیون اسپور روی لام گذاشته و با میکروسکوپ نوری تراکم اسپور در سوسپانسیون بدست آمده مشاهده شد. غلظت اسپور باید به گونه‌ای باشد که بعد از پخش کردن در سطح پتری روی محیط کشت، اسپورها مجزا و با فاصله‌ی مشخصی از یکدیگر قرار گیرند. سوسپانسیون حاصل روی محیط کشت آب-آگار (WA) دو درصد منتقل و در سطح پتری پخش شد. سپس تشتک-های پتری به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از طی این مدت اسپورهای جوانه زده در شرایط استریل به پتری‌های حاوی محیط کشت PDA منتقل شدند.

۳-۴-۲-۴-۲- روش نوک ریشه

برای نمونه‌های فاقد اسپور از روش نوک ریشه کردن استفاده شد، به این صورت که قطعاتی به ابعاد یک سانتی‌متر مربع از حاشیه پرگنه قارچ، توسط سوزن استریل برداشته و به تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت WA منتقل شدند. تشتک‌های پتری به مدت دو تا سه روز در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از طی این مدت پتری‌ها بررسی شدند. نوک ریشه‌هایی که از یکدیگر فاصله کافی داشتند و نسبت به سایر ریشه‌ها بیشتر رشد کرده بودند، توسط سوزن استریل برداشته و به محیط کشت PDA منتقل شدند.

۳-۴-۲-۵- روش اجرای آزمایش مقدماتی (مرحله دوم)

در مرحله دوم آزمایش مقدماتی برای اعمال تیمارهای آزمایشی، ۱۳ جدایه قارچی استخراج شده و قارچ‌های شاهد *P. indica* و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) در محیط کشت PDB (عصاره سیب‌زمینی و دکستروز) و محیط کشت مایع کفر (۱۹۷۷) کشت و سپس به مدت دو هفته در دمای

۲۸ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه روی شیکر قرار گرفتند. پس از گذشت مدت زمان مذکور که رشد رویشی قارچ‌ها به حداکثر خود رسید، سوسپانسیونی با غلظت حدود 1×10^8 واحد کلونی در میلی‌لیتر (CFU/ml) تهیه و جهت تلقیح استفاده شد. چهار غلظت کادمیوم انتخاب شده از سطوح بررسی شده در مرحله اول آزمایش مقدماتی در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت، به‌طوری‌که ابتدا خاک مورد نظر به مدت دو ساعت در اتوکلاو استریل سپس مانند مرحله قبل با مقادیر مورد نظر عنصر کادمیوم مخلوط گردید. پس از گذشت چهار هفته از مخلوط کردن خاک با عنصر، ابتدا بذور خرفه ضدعفونی (هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ده دقیقه) و سپس به مدت ۲۴ ساعت جوانه‌دار شدند. پس از آن بذور جوانه‌دار با سوسپانسیون قارچی تهیه شده به مدت یک ساعت تلقیح و در گلدان کشت گردید. درنهایت پس از اتمام دوره‌ی رویشی و قبل از شروع مرحله‌ی گلدهی نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری صفات رویشی مانند ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و سطح برگ و همچنین وزن تر و خشک ساقه و برگ، فیزیولوژیک شامل محتوی نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، کلروفیل a و b ، $a+b$ و a/b ، کاروتنوئید، عدد اسپد و بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز، پرولین، پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید و پروتئین محلول برگ گیاه خرفه انجام شد.

۳-۴-۲-۶- رنگ آمیزی ریشه

جهت بررسی همزیستی قارچ‌های مذکور با ریشه‌ی گیاه خرفه، ریشه‌ها پس از برداشت گیاه از خاک خارج و خاک آن‌ها شسته و سپس قطعات یک سانتی‌متری از ریشه هر گیاه جدا شد. نمونه‌ها در محلول FAA (ترکیب فرمالدهید، استون و اتانول) فیکس شدند. قطعات ریشه برای رنگ آمیزی ابتدا در محلول KOH ده درصد به مدت پنج دقیقه رنگ‌بری و سپس به مدت سه دقیقه با استفاده از محلول پنج درصد جوهر و سرکه (اسید سیتریک) رنگ آمیزی شد. نمونه‌های رنگ آمیزی شده روی لام قرار گرفتند و زیر میکروسکوپ جهت بررسی همزیستی و عکس برداری استفاده شدند (ویرهیلینگ و همکاران، ۱۹۹۸).

۳-۴-۲-۷- شناسایی مورفولوژیک قارچ‌ها

پس از بررسی همزیستی قارچ‌های جداسازی شده با گیاه خرفه، قارچ‌های کشت شده در محیط PDA با استفاده از ویژگی‌های ماکروسکوپی (مورفولوژی، رنگ، بافت و قطر کلنی) و میکروسکوپی کلنی‌های رشد یافته در محیط PDA در حد جنس شناسایی شدند (واتاناب، ۱۹۹۴؛ کلیچ و پیت، ۱۹۸۸؛ نلسون و همکاران، ۱۹۸۳؛ کیفر و مورلت، ۲۰۱۱؛ ریفای، ۱۹۶۹)، اما تعدادی از جدایه‌ها به دلیل اندوفیت بودن و عدم تولید اسپور تنها از طریق مولکولی شناسایی شدند.

۳-۴-۲-۸- شناسایی مولکولی

۳-۴-۲-۸-۱- کشت قارچ در محیط PDB

قرص پنج میلی‌متری از حاشیه کلنی‌های دو تا سه روزه جدایه‌های مد نظر به ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع PDB (عصاره ۲۰۰ گرم سیب‌زمینی و ۱۲ گرم دکستروز در یک لیتر آب مقطر) منتقل و برای مدت سه تا پنج روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر (با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه) قرار داده شد (دهبویید و همکاران، ۱۳۹۲).

۳-۴-۲-۸-۲- استخراج DNA

توده میسلیومی رشد کرده در محیط کشت مایع براس روی کاغذ صافی توسط آب مقطر شسته و پس از آگیری، با نیتروژن مایع در هاون پودر گردید. پودر حاصل به ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و حدود ۶۰۰ تا ۷۰۰ میکرولیتر بافر [200 mM EDTA, 100mM Tris, HCl (PH: 8), 1.4 M CTAB] NaCl, 2% (W/V) CTAB] به هر ویال اضافه و حدود یک میکرولیتر مرکاپتواتانول (Mercaptoethanol) به مخلوط فوق اضافه و توسط ورتکس محتویات درون ویال‌ها به‌خوبی مخلوط گردید. سپس ویال‌ها در حمام بن‌ماری در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰-۴۵ دقیقه قرار داده شد و هر پنج دقیقه با وارونه کردن ویال‌ها به‌خوبی مخلوط شدند. بعد از اتمام زمان بن‌ماری به هر ویال ۶۰۰-۷۰۰ میکرولیتر مخلوط کلروفورم ایزوآمیل الکل (۲۴:۱) اضافه و با چند بار وارونه کردن

محتویات آن به خوبی مخلوط شد تا رنگ آن شیری شود. نمونه‌ها برای مدت ده دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه (RPM) سانتریفیوژ شد. در این مرحله سه فاز متفاوت تشکیل شد. فاز رویی حاوی DNA، فاز زیری کلروفرم-ایزوامیل الکل می‌باشد و بین این دو فاز مایع، لایه‌ای متشکل از بقایای دیواره سلولی و پروتئین قرار گرفت.

پس از اتمام سانتریفیوژ فاز شفاف رویی را برداشته و به ویال دیگری انتقال داده و نصف حجم آن ایزوپروپانول خنک اضافه شد. پس از اختلاط کامل با چند بار وارونه کردن ویال‌ها، برای مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از اتمام این مرحله، محتویات درون ویال تخلیه و رسوب حاصله با ۱۰۰۰ میکرولیتر الکل اتانول ۷۰٪ شستشو داده شد. پس از تخلیه کامل الکل با وارونه قرار دادن ویال‌ها بر روی دستمال کاغذی زیر هود لمینار برای مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه رسوب DNA خشک گردید. در نهایت ۷۰ میکرولیتر بافر TE استریل (۱۰:۱) یا آب استریل به هر ویال اضافه و پس از یک ساعت نگهداری در یخچال در نهایت به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد (راپلی، ۲۰۰۰).

۳-۴-۲-۸-۳- بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده الکتروفورز ژل آگارز

برای بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد (شاه‌حسینی و سید رضای تهرانی، ۱۳۸۰ و محمدی و گوهرزاد، ۱۳۹۴). برای تهیه ژل آگارز یک درصد، یک گرم آگارز با ده میلی‌لیتر TBE (2 mM EDTA, 90 mM Boric acid, 90 mM Tris) با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس مخلوط حاصل در دمای مایکروویو قرار گرفت، تا محلول همگن و شفاف به دست آید. ظرف ژل نیز توسط شانه مخصوص آماده و پس از خنک شدن محلول ژل به آرامی در ظرف ژل ریخته شد. در محله بعد، تانک دستگاه الکتروفورز توسط بافر TBE (1X) پر و سپس ژل آماده شده به تانک منتقل و الکتروفورز با ولتاژ ۸۰ به مدت یک ساعت انجام شد. پس از اتمام الکتروفورز، ژل توسط محلول اتیدیوم بروماید (۰/۵ µg/ml) رنگ‌آمیزی و با دستگاه ژل خوان کداک (GEL

LOGIC 200) از آن عکس برداری شد. دیدن باندهای پررنگ و واضح نشان دهنده موفق بودن فرآیند استخراج بود و در صورت مشاهده باند اسمیر (DNA خرد شده) و یا عدم مشاهده باند، مرحله استخراج تکرار شد.

۳-۴-۲-۴-۸-۴- واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

۳-۴-۲-۴-۸-۱- آماده‌سازی آغازگرها

در این تحقیق از آغازگر رفت و برگشت ITS جهت انجام واکنش PCR استفاده شد. ناحیه توالی و اطلاعات این آغازگر در جدول ۳-۲ ذکر شده است. آغازگر خریداری شده (شرکت تکاپوزیست) به صورت منجمد و خشک بوده و بر اساس اطلاعات مندرج شده روی بسته آن، این آغازگر با آب استریل رقیق شد.

جدول ۳-۲- توالی و اطلاعات آغازگرهای مورد استفاده در بررسی مولکولی

دمای ذوب	توالی	جهت	آغازگر
۵۴/۱	TCCTCCGCTTATTGATATGC	Forward	ITS (20-mer)
۵۴/۱	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	Reverse	ITS (22-mer)

۳-۴-۲-۴-۸-۲- مخلوط PCR و سیکل حرارتی

برای تکثیر قطعات DNA، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از مواد مورد نیاز توسط دستگاه ترموسایکلر (Termal Cycler) انجام گرفت. ابتدا مقدار مورد نیاز از هر ماده در واکنش بر اساس حجم نهایی واکنش مطابق جدول ۳-۳ تعیین شد. در مرحله بعد بر اساس حجم نهایی و میزان DNA مورد نیاز برای هر واکنش از استوک برداشته و به ویال‌های ۰/۲ میلی‌لیتری اضافه شد. سپس به هر ویال دو میکرولیتر از DNA مورد نظر اضافه شد. سرانجام تیوپ‌ها در دستگاه PCR با دوره حرارتی و مدت زمان مناسب برای هر واکنش برنامه‌ریزی شده، قرار داده شد. برنامه حرارتی و دوره زمانی بهینه شده در جدول ۳-۴ ارائه شده است. تعداد دور بین مراحل واسرشت‌سازی و گسترش ۳۵ چرخه اعمال شد.

جدول ۳-۳- ترکیبات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

ترکیبات	غلظت	مقدار (میکرولیتر)
PCR buffer 10X	۱۰ X	۲/۵ µl
MgCl ₂	۵۰ mM	۱ µl
Forward Primer	۵ Pmol	۱ µl
Reverse Primer	۵ Pmol	۱ µl
dNTPs	۱۰ mM	۱ µl
Tag Polymeras	۵ u/µl	۰/۲ µl
DNA	۵۰ ng/µl	۲ µl
D.D.H ₂ O	--	۱۶/۳
Total (کل)	--	۲۵

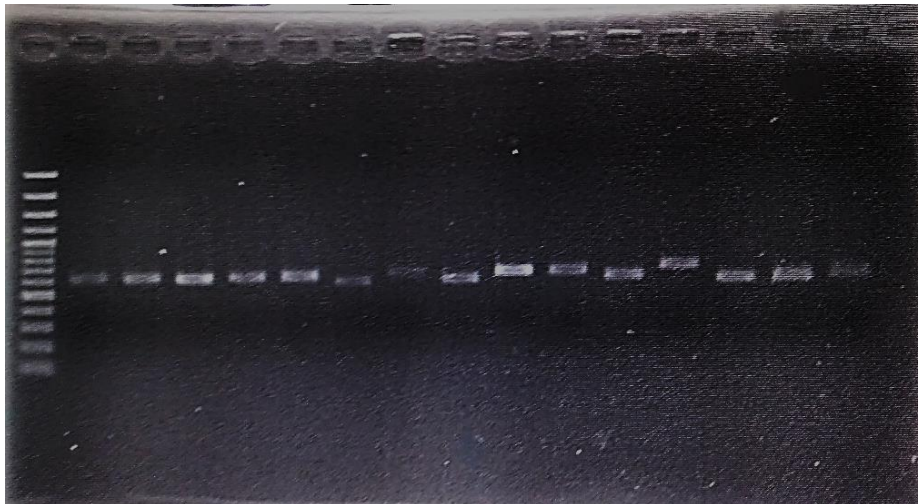
جدول ۳-۴- برنامه حرارتی و زمان‌بندی جفت آغازگر ITS4 و ITS5

تعداد چرخه	زمان	درجه حرارت (°C)	مراحل واکنش
۱	۵ دقیقه	۹۴	واسرشت‌سازی اولیه
۳۵	۱ دقیقه	۹۴	واسرشت‌سازی (Denaturation step)
	۱ دقیقه	۶۰	اتصال آغازگر (Annealing step)
	۱ دقیقه	۷۲	بسط (Extention step)
۱	۱۰ دقیقه	۷۲	بسط نهایی

۳-۴-۲-۴-۳- بارگذاری محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

ارزیابی محصول واکنش PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در بافر TBE صورت گرفت. مقدار پنج میکرولیتر از محصول هر واکنش به همراه دو میکرولیتر از محلول رنگی بارگذاری (Dye) با هم مخلوط شد و با سمپلر در چاهک‌های ژل بارگذاری شد. محلول بارگذاری دو کار مهم را انجام می‌دهد، اول اینکه چون حاوی گلیسرول می‌باشد نمونه‌های DNA را سنگین‌تر از تامپون الکتروود نموده و باعث می‌شود DNA در ته چاهک‌ها قرار گیرد، دوم به دلیل رنگی بودن محلول بارگذاری آبی بروموفنل (Bromo Phenol Blue) و زایلن سیانول (Xylen Cynol) امکان ردیابی DNA در جریان الکتروفورز را به وجود می‌آورد. برای تخمین حدود وزن مولکولی قطعات تکثیر شده از نشانگر با وزن مولکولی ۱ kb

(DNA ladder- SMO311) استفاده شد. ژل با ولتاژ ۸۰ الکتروفورز شد. در نهایت در اتیدیوم بروماید ($0.5 \mu\text{g/ml}$) به مدت ۱۵ دقیقه رنگ آمیزی و بعد از شستشو با آب مقطر با UV دستگاه ژل خوان کدک از آن عکس برداری شد (شکل ۳-۵).

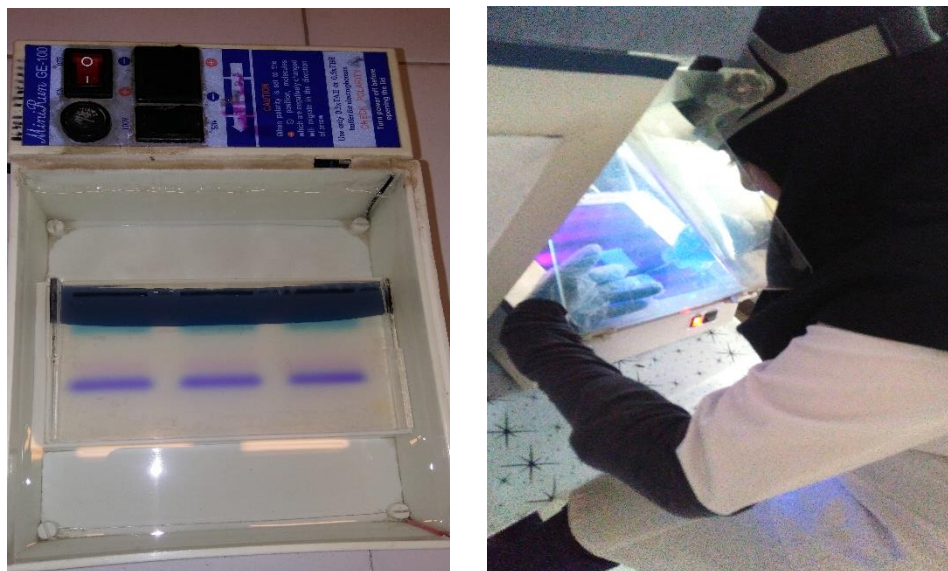


شکل ۳-۵- نمایش از ارزیابی محصول واکنش PCR بر روی ژل آگارز (عکس از نگارنده)

۳-۴-۲-۸-۵- خالص سازی قطعه ژنی از روی ژل با استفاده از کیت استخراج از ژل DNA

به منظور خالص سازی قطعه ژنی مورد نظر از روی ژل الکتروفورز شده، برش ژل آگارز حاوی ژن تکثیر یافته در زیر نور UV انجام شد. سپس قطعات جدا شده از روی ژل به ویال های $1/5$ میکرولیتری از قبل توزیع شده منتقل و توسط کیت خالص سازی High Pure PCR Product Purification شرکت TERMO طبق خالص سازی شدند. برای این منظور ۳۰۰ میکرولیتر Binding Buffer به قطعه ژل حاوی ژن مورد نظر اضافه و سپس به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس و به مدت ده دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد قرار داده و هر دو دقیقه ورتکس شد. در ادامه، ۱۵۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اضافه و ورتکس شد. محتویات تیوپ به ستون منتقل و به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه با حداکثر سرعت سانتریفیوژ شد. محلول زیرین دور ریخته و ۵۰۰ میکرولیتر Washing Buffer اضافه و یک دقیقه سانتریفیوژ با حداکثر سرعت انجام و محلول زیرین دور ریخته شد. سپس، ۲۰۰ میکرولیتر Washing Buffer اضافه

و سانتریفیوژ با حداکثر سرعت به مدت یک دقیقه صورت گرفت. محلول زیرین دور ریخته و ستون به تیوپ جدید منتقل شد. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر Elution Buffer سانتریفیوژ با حداکثر سرعت به مدت یک دقیقه انجام شد (شکل ۳-۶).



شکل ۳-۶- مراحل خالص سازی قطعه ژنی از روی ژل با استفاده از کیت استخراج از ژل DNA

۳-۴-۲-۶- شناسایی مولکولی جدایه‌ها در پایگاه اطلاعات NCBI

محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز جدایه‌ها برای توالی‌یابی به شرکت فزاپژوه (نماینده شرکت بیورون آلمان) فرستاده شد. سپس توالی ژنوم به‌دست آمده با نرم افزار بلاست (BLAST) با سایر توالی‌های موجود در NCBI (<http://www.ncbi.nih.gov>) هم‌ردیف‌سازی و مورد مقایسه قرار گرفتند.

۳-۴-۳- آزمایش تکمیلی

۳-۴-۳-۱- قالب آماری طرح و تیمارهای آزمایشی

این مرحله به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. بدین صورت که در این مرحله اثر نانوذرات آهن (۰، ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر) انتخاب شده از مرحله اول مقدماتی و قارچ‌های اندوفیت انتخاب شده (*Chaetomium subaffine* (SF3)، *Trichoderma atroviride* (SN1)

و قارچ شاهد (*T. longibrachiatum* (UTFC 10060) از مرحله‌ی دوم مقدماتی بر میزان تحمل و گیاه‌پالایی گیاه خرفه نسبت به عنصر کادمیوم (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع کلرید کادمیوم) مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت.

۳-۴-۲- روش اجرای آزمایش (مرحله تکمیلی)

ابتدا خاک مورد نظر به مدت دو ساعت در اتوکلاو استریل گردید سپس مانند مرحله قبل خاک به چهار قسمت مساوی تقسیم و مقادیر مورد نظر کادمیوم (از منبع $\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) مورد بررسی از مرحله اول مقدماتی به آن اضافه شد و به مدت چهار هفته نگهداری گردید. بذره‌های خرفه پس از ضدعفونی (ده دقیقه در هیپوکلریت سدیم یک درصد) به مدت ۲۴ ساعت در دمای 28 ± 1 درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار و سپس به منظور تلقیح بذور با تیمارهای قارچی در سوسپانسیون‌های تهیه شده غوطه‌ور گردیده و به مدت یک ساعت روی شیکر با سرعت ۸۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. قبل از کشت پنجاه میلی‌لیتر مایه تلقیح قارچی به خاک هر گلدان (با ابعادی به قطر ۲۰ در ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر) اضافه و سپس در هر گلدان پنجاه بذر گیاه خرفه کاشته شد. بذور پس از سبز شدن تنک شده و به شش بوته در گلدان کاهش یافت. گلدان‌ها در گلخانه و در شرایط نور طبیعی (در حدود ۲۵۰۰۰ لوکس) و دمای (28 ± 2) و رطوبت مطلوب (در حد ۶۵ الی ۷۵ درصد) برای گیاه قرار گرفته و به‌صورت روزانه آبیاری شدند. اولین محلول‌پاشی نانوذرات آهن در مرحله‌ی هشت برگی صورت گرفت که در دو مرحله به فاصله زمانی هفت روز یکبار انجام شد. ده روز پس از اتمام دوره‌ی محلول‌پاشی (همزمان با اتمام مرحله‌ی رویشی گیاه) نمونه برداری انجام شد.

در این مرحله نیز صفات فیزیولوژیک شامل محتوی نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، کلروفیل a ، $a+b$ و a/b ، کاروتنوئید، عدد اسید و صفات بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز، پرولین، پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید و پروتئین محلول برگ اندازه‌گیری شدند.

همچنین غلظت عنصر سنگین در قسمت‌های مختلف گیاه و پارامترهایی همچون فاکتور جذب زیستی ریشه، فاکتور انتقال و ضریب انتقال به عنوان یک معیار نسبی برای تعیین پتانسیل پالایش عناصر فلزی در خاک و توانایی گیاه برای تحمل و تجمع فلزات سنگین محاسبه شدند.

۳-۵- صفات مورد مطالعه در این آزمایش

۳-۵-۱- صفات رویشی

برای اندازه‌گیری صفات رویشی خرفه، ابتدا تعداد برگ شمارش و سپس ارتفاع بوته با استفاده از خط کش مدرج اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری قطر ساقه از کولیس دیجیتالی (مدل Guanglu) استفاده شد. همچنین سطح برگ با استفاده از نرم‌افزار Digimizer اندازه‌گیری گردید. سپس وزن تر برگ، ساقه، ریشه و کل بوته اندازه‌گیری و سپس برای خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت داخل آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده گرفتند. اندازه‌گیری وزن تر و خشک با استفاده از ترازوی حساس (HR- ۰/۰۰۱) 100i انجام شد.

۳-۵-۲- صفات فیزیولوژیک

۳-۵-۲-۱- محتوای نسبی آب برگ (RWC)

جهت سنجش محتوای نسبی آب برگ (RWC) از آخرین برگ توسعه یافته گیاه نمونه تهیه و بلافاصله وزن تر آن‌ها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد (FW). سپس نمونه‌های برگ به لوله آزمایش حاوی آب مقطر منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شد تا برگ‌ها آماس پیدا کنند. برای محاسبه وزن آماس، برگ‌ها از لوله آزمایش خارج و رطوبت اضافی با دستمال کاغذی گرفته شده و نمونه‌ها وزن شدند (TW). سپس نمونه‌ها در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و سپس توزین انجام شد (DW). محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها با استفاده از رابطه ۲-۳ محاسبه گردید (اسچونفیلد و همکاران، ۱۹۸۸).

$$\% RWC = (Fw - Dw) / (Tw - Dw) \times 100 \quad (2-3)$$

۳-۵-۲-۲- نشت الکترولیت

به منظور اندازه گیری نشت الکترولیت، نمونه‌ی برگ‌ی در لوله‌های آزمایش حاوی یک میلی لیتر آب مقطر قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (CON 410) اندازه گیری شد (EC_1). به منظور اندازه گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه بن‌ماری با دمای ۹۰ درجه قرار گرفته و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (EC_2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از رابطه ۳-۳ محاسبه شدند (لوتس و همکاران، ۱۹۹۵).

$$\text{درصد نشت الکترولیت} = EC_1 / EC_2 \times 100 \quad (3-3)$$

۳-۵-۲-۳- عدد اسپد

عدد اسپد با استفاده از دستگاه کلروفیل متر (SPAD-502, Minolta, Japan) قرائت شد. اندازه گیری از سه نقطه در سه برگ از برگ‌های فوقانی گیاه انجام و میانگین آن‌ها به عنوان عدد SPAD مورد محاسبه قرار گرفت.

۳-۵-۲-۴- محتوای کلروفیل برگ و کاروتنوئید

برای اندازه گیری میزان کلروفیل، شش عدد پانچ از برگ‌های خرفه برداشته و در هشت میلی لیتر متانول غوطه‌ور شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق قرار گرفت. سپس میزان نور جذبی محلول در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytic jena- SPEKOL 1300) قرائت و ثبت گردید. در نهایت میزان کلروفیل a (Chl_a)، b (Chl_b)، کلروفیل کل

(Chl_{a+b})، نسبت کلروفیل ($Chl_{a/b}$) و کاروتنوئید به ترتیب با استفاده از روابط چهار تا هفت محاسبه شدند (پورا، ۲۰۰۲).

$$c_a(\mu\text{g/ml}) = 16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4} \quad (۴-۳)$$

$$c_b(\mu\text{g/ml}) = 34.09 A_{652.4} - 15.28 A_{665.2} \quad (۵-۳)$$

$$c_{a+b}(\mu\text{g/ml}) = c_a + c_b \quad (۶-۳)$$

$$ca/b(\mu\text{g/ml}) = c_a / c_b \quad (۷-۳)$$

$$\text{Carotenoid}(\mu\text{g/ml}) = (1000 A_{470} - 1.63 C_a - 104.96 C_b)/221 \quad (۸-۳)$$

۳-۵-۲-۵- هدایت روزنه‌ایی

جهت اندازه‌گیری هدایت روزنه‌ایی طبق روش کیلی و رامیرز-والجو (۱۹۹۸) از جوانترین برگ کاملاً توسعه یافته استفاده شد. در هر بوته سه برگ انتخاب و هدایت روزنه‌ایی در دوطرف این برگ‌ها با دستگاه پرومتر (مدل KR1310, KOREA) بر حسب واحد میلی‌مول بر متر مربع در ثانیه اندازه‌گیری شد.

۳-۵-۳- صفات بیوشیمیایی

۳-۵-۳-۱- اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

جهت اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه خرفه، از آخرین برگ توسعه یافته‌ی آن استفاده گردید. به این صورت که پس از اتمام دوره رشد رویشی و قبل از مرحله گلدهی نمونه برگ‌گی از تمامی گیاهان مورد آزمایش تهیه و در ورقه‌های آلومینیومی قرار گرفتند و بلافاصله در نیتروژن مایع غوطه‌ور شده و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۳-۵-۳-۲- استخراج محلول آنزیمی

برای استخراج محلول‌های آنزیمی کاتالاز و گایاکول پراکسیداز نیم گرم از نمونه برگ‌گی با استفاده از هاون چینی کاملاً سرد و نیتروژن مایع هموژن و سپس به آن پنج میلی‌لیتر از بافر فسفات سرد (pH=۷)

محتوی EDTA نیم میلی مولار اضافه شد. هموژن‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش، به مدت پانزده دقیقه با دور ۲۰۰۰۰ در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. به منظور پیشگیری از اثرات مضر انجماد و ذوب متوالی نمونه‌ها، محلول آنزیمی به دست آمده به سه قسمت تقسیم و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (سایرام و همکاران، ۲۰۰۲).

۳-۵-۳-۳- ثبت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

۳-۵-۳-۳-۱- سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش بوچمپ و فریدروویچ (۱۹۷۱) با اندازه‌گیری توانایی آنزیم در جلوگیری از کاهش فتوشیمیایی نیتروبلو-تترازولیوم (NBT) تعیین شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم از محلول‌های زیر استفاده شد.

بافر ۱: بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، حاوی EDTA (۱/۵ میلی مولار)، متیونین (۲۰۰ میلی مولار) و NBT (۱/۱۲ میکرو مولار) با pH=۷.

بافر ۲: بافر ریوفلاوین (۷۵ میلی مولار).

نمونه شاهد شامل ۹۳۵ میکرولیتر بافر یک، ۱۵ میکرولیتر بافر دو و ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، نمونه بلنک شامل ۹۳۵ میکرولیتر بافر یک، ۱۵ میکرولیتر بافر دو و ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار و نمونه حاوی عصاره آنزیمی شامل ۹۳۵ بافر یک، ۱۵ میکرولیتر بافر دو و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی، نمونه بلنک به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و نمونه‌های کنترل (شاهد) و عصاره آنزیمی، به مدت ۱۵ دقیقه، در شیکر با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و دارای دو عدد لامپ فلورسنت ۴۰ وات با دور ۱۰۰ دور در دقیقه شیک شدند. سپس میزان جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به دست آمد. تفاوت بین جذب هر عصاره در مدت زمان روشنایی ۱۵ دقیقه و جذب عصاره آنزیمی در

همان مدت زمان روشنایی در واقع نشان‌دهنده بازداشتن واکنش خودبخودی و تشکیل فورمازان توسط SOD است.

۳-۵-۳-۳-۲-کاتالاز

فعالیت این آنزیم طبق روش ابی (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد. کمپلکس واکنشی شامل ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، نیم میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی می‌باشد که حجم نمونه‌ها با اضافه کردن آب مقطر به سه میلی‌لیتر رسانده شد. با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش آغاز و کاهش در جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت گردید. فعالیت آنزیمی از محاسبه میزان پراکسید هیدروژن تجزیه شده توسط آنزیم محاسبه گردید.

۳-۵-۳-۳-۳-گایاکول پراکسیداز

کمپلکس واکنشی (دو میلی‌لیتر) شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر گایاکول پنج میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر پراکسید ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده است. واکنش با اضافه کردن محلول آنزیمی شروع شده و افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی بر اساس میزان تتراگایاکول تشکیل شده و با استفاده از ضریب خاموشی ۱/۳۳ میکرومول بر سانتی‌متر بدست آمد (تانگ و نیوتون، ۲۰۰۵).

۳-۵-۳-۴-آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از طریق بررسی میزان اکسیداسیون آسکوربات به روش یوشیمورا و همکاران (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر از کمپلکس واکنش حاوی ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷، ۲۵۰ میکرولیتر آسکوربات یک میلی‌مولار، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۴

میلی مولار، ده میکرولیتر پراکسید هیدروژن ده میلی مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده بود. با اضافه شدن پراکسید هیدروژن فعالیت آنزیمی شروع گردید. تغییرات جذب کمپلکس واکنش در طول موج ۲۹۰ نانومتر شروع و پس از یک دقیقه یادداشت شد. سپس، با استفاده از ضریب خاموشی $2/8 \text{ cm}^{-1}\text{mmol}^{-1}$ میزان فعالیت آنزیم محاسبه گردید.

۳-۵-۴- سنجش میزان پرولین

اندازه گیری میزان پرولین با استفاده از روش بتس و همکاران (۱۹۷۳) به دست آمد. نیم گرم ماده تر گیاهی را با هاون خرد کرده و درون یک تیوب ریخته شد، سپس ده میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید سه درصد آماده شده را به آن اضافه نموده و نمونه درون یخ قرار داده شد. تیوب را در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ده تا ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ نموده تا مواد اضافی از محلول جدا گردد. می توان به جای سانتریفیوژ از قیف شیشه ای و کاغذ صافی برای صاف کردن نمونه ها استفاده کرد. مقدار دو میلی لیتر از عصاره ی صاف شده را درون تیوب جدید ریخته و دو میلی لیتر اسید ناین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک گلاسیال به آن افزوده و سپس خوب مخلوط شد (نمونه ها و محلول ناین هیدرین را در دمای چهار درجه ی سانتی گراد نگهداری شدند). نمونه ها را در حمام آب گرم به مدت یک ساعت حرارت داده و سپس درون حمام یخ قرار داده شدند. مقدار چهار میلی لیتر تولوئن به محلول اضافه نموده و به مدت ۲۰ ثانیه با دستگاه ورتکس به همزده می شود. استانداردهای پرولین محلول در فاز تولوئن را به اندازه ی لازم در کووت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و مقدار پرولین را در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت کرده و منحنی استاندارد رسم گردید. سپس میزان جذب در نمونه های گیاهی را قرائت نموده و با قراردادن آن در معادله خط مقدار پرولین بدست آمد.

۳-۵-۵- اندازه گیری میزان پراکسید هیدروژن

ابتدا نیم گرم نمونه برگی هموژن و به آن ها پنج میلی لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید (وزنی-حجمی) اضافه کرده و در $12000 \times g$ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس کمپلکس

واکنش حاوی نیم میلی لیتر از سوپرناتانت، نیم میلی لیتر بافر فسفات ده میلی مولار ($\text{pH}=7$) و یک میلی لیتر KI یک مولار تهیه و میزان جذب آن‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر سنجش گردید. میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد بدست آمد (سرگیو و همکاران، ۱۹۹۷).

۳-۵-۳-۶- اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی یا مالون دی آلدئید

این شاخص براساس روش استوارت و بولی (۱۹۸۰) اندازه گیری شد. در حدود نیم گرم از برگ‌های خرفه در ده میلی لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید هموژن و به مدت ده دقیقه در $15000 \times g$ سانتریفیوژ گردید. دو میلی لیتر از سوپرناتانت حاصل با چهار میلی لیتر از محلول ۲۰٪ تری کلرواستیک اسید محتوی نیم درصد تیوباربیوتوریک اسید مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل گردید. در مرحله بعد نمونه‌ها دوباره به مدت ده دقیقه در $10000 \times g$ سانتریفیوژ شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۳ و ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید. میزان پراکسید شدن لیپیدها از اختلاف بین طول موج‌های جذبی در ضریب خاموشی ۱۵۵ میکرومول بر سانتی متر بدست آمد.

۳-۵-۳-۷- اندازه گیری میزان پروتئین محلول برگ

میزان پروتئین موجود در نمونه‌های آنزیمی استخراج شده به روش برادفورد (۱۹۷۶) اندازه گیری گردید. کمپلکس واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج شده، ۲۰۰ میکرولیتر معرف بردفورد و ۷۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه می‌باشد. پس از گذشت دو دقیقه از تشکیل کمپلکس فوق، معرف بردفورد حداکثر ترکیب را با اسیدهای آمینه آروماتیک نظیر آرژنین از خود نشان می‌دهد. حداکثر زمان پایداری ترکیب حاصل، تا یک ساعت پس از تشکیل بوده و سپس شروع به تجزیه و جدا شدن می‌نماید. لذا در این فاصله زمانی نمونه‌ها حداکثر جذب را داشته و جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر یادداشت شد. برای بدست آوردن میزان فعالیت ویژه آنزیم‌ها، پس از محاسبه تعداد واحدهای آنزیمی، هر یک از آنزیم‌های مورد مطالعه بر میزان پروتئین حاصل تقسیم شد.

۳-۵-۴- تعیین غلظت عنصر سنگین کادمیوم در گیاه

اندازه‌گیری این عناصر در گیاه به روش هضم مرطوب انجام شد. به این صورت که ابتدا بعد از خشک شدن نمونه‌های گیاهی (دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد) و پودر کردن آن‌ها، نیم گرم از نمونه توزین و سپس پنج میلی‌لیتر اسید نیتریک به هر کدام از نمونه‌ها اضافه و به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر اسید پرکلریک به هر کدام از نمونه‌ها اضافه و در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت روی هیتر قرار داده شد. بعد از خنک شدن حدود ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به هر کدام اضافه شده سپس از آن عصاره‌گیری به عمل آمد و در نهایت میزان عناصر موجود در نمونه‌ها توسط دستگاه جذب اتمی (مدل Varian Spectra AA-10) قرائت و فرم قابل جذب آن محاسبه گردید (پیچ و همکاران، ۱۹۸۲).

۳-۵-۵- تعیین میزان غلظت عنصر سنگین کادمیوم قابل جذب در خاک

پس از برداشت گیاه و نمونه‌برداری از خاک در نقاط تعیین شده، نمونه‌ها به منظور اندازه‌گیری غلظت قابل جذب فلزت سنگین کادمیوم در نمونه‌های خاک گلدان با استفاده از روش لیندسای و نورول (۱۹۷۸) به آزمایشگاه انتقال یافت. به این صورت که ابتدا خاک پس از هوا خشک شدن، کوبیده شده و از الک دو میلی‌متری عبور داده و سپس ۱۵ گرم از خاک وزن و به میزان ۳۰ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیر DTPA به نسبت دو به یک افزوده شد. پس از دو ساعت شیک محلول صاف شده و با دستگاه جذب اتمی (مدل Varian Spectra AA-10) قرائت و فرم قابل جذب عناصر محاسبه شد.

۳-۵-۶- محاسبه شاخص‌های زیستی

همچنین در این پژوهش، پارامترهایی همچون فاکتور جذب زیستی ریشه (رابطه ۳-۹)، فاکتور انتقال (رابطه ۳-۱۰) و ضریب انتقال به اندام هوایی (رابطه ۳-۱۱) به عنوان یک معیار نسبی برای تعیین

پتانسیل پالایش عناصر فلزی در خاک (کریمی و همکاران، ۲۰۱۲) و توانایی گیاه برای تحمل و تجمع فلزات سنگین (نظیر و همکاران، ۲۰۱۱؛ سان و همکاران، ۲۰۰۸) محاسبه شدند.

$$(9-3) \quad \frac{\text{غلظت فلز در ریشه}}{\text{غلظت فلز در خاک}} = \text{فاکتور جذب زیستی ریشه} \\ (\text{نظیر و همکاران، ۲۰۱۱؛ سان و همکاران، ۲۰۰۸})$$

$$(10-3) \quad \frac{\text{غلظت فلز در اندام هوایی}}{\text{غلظت فلز در ریشه}} = \text{فاکتور انتقال (سان و همکاران، ۲۰۰۸)}$$

$$(11-3) \quad \frac{\text{غلظت فلز در اندام هوایی}}{\text{غلظت فلز در خاک}} = \text{ضریب انتقال (کریمی و همکاران، ۲۰۱۲؛ رفعتی و همکاران، ۱۳۹۱)}$$

۳-۶- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تست نرمال به روش کولموگروف-اسمیرنوف انجام شد. سپس آنالیز واریانس داده‌ها و تجزیه خوشه‌ای به ترتیب به وسیله نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) و SPSS (نسخه ۲۲) و PAST (نسخه ۳/۵) انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. همچنین برای کمی‌سازی اثر کادمیوم و نانوذرات آهن در مرحله اول مقدماتی از تجزیه رگرسیونی و برازش معادله خطی (رابطه ۳-۱۲) و دو تکه‌ای (رابطه ۳-۱۳) استفاده گردید (بخشنده و همکاران، ۲۰۱۲) و برای رسم منحنی‌ها از صفحه گستر Excel استفاده شد.

$$y = b_1x + a \quad (12-3)$$

$$y = b_1x + a \quad \text{if } x \leq x_0 \quad (13-3)$$

$$y = (b_1x_0 + a) + b_2(x - x_0) \quad \text{if } x > x_0$$

فصل چہارم

نتائج و بحث

۴- نتایج و بحث

۴-۱- نتایج مرحله اول مقدماتی

۴-۱-۱- اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات مورفولوژیک خرفه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های صفات مورفولوژیک مرحله اول مقدماتی آزمایش نشان داد که اثر ساده نانوذرات آهن بر ارتفاع بوته، قطر ساقه و سطح برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اثر ساده کادمیوم بر صفات تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه و سطح برگ نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما برهمکنش نانوذرات آهن و کادمیوم بر هیچ یک از این صفات اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۴-۱).

جدول ۴-۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات مورفولوژیک خرفه

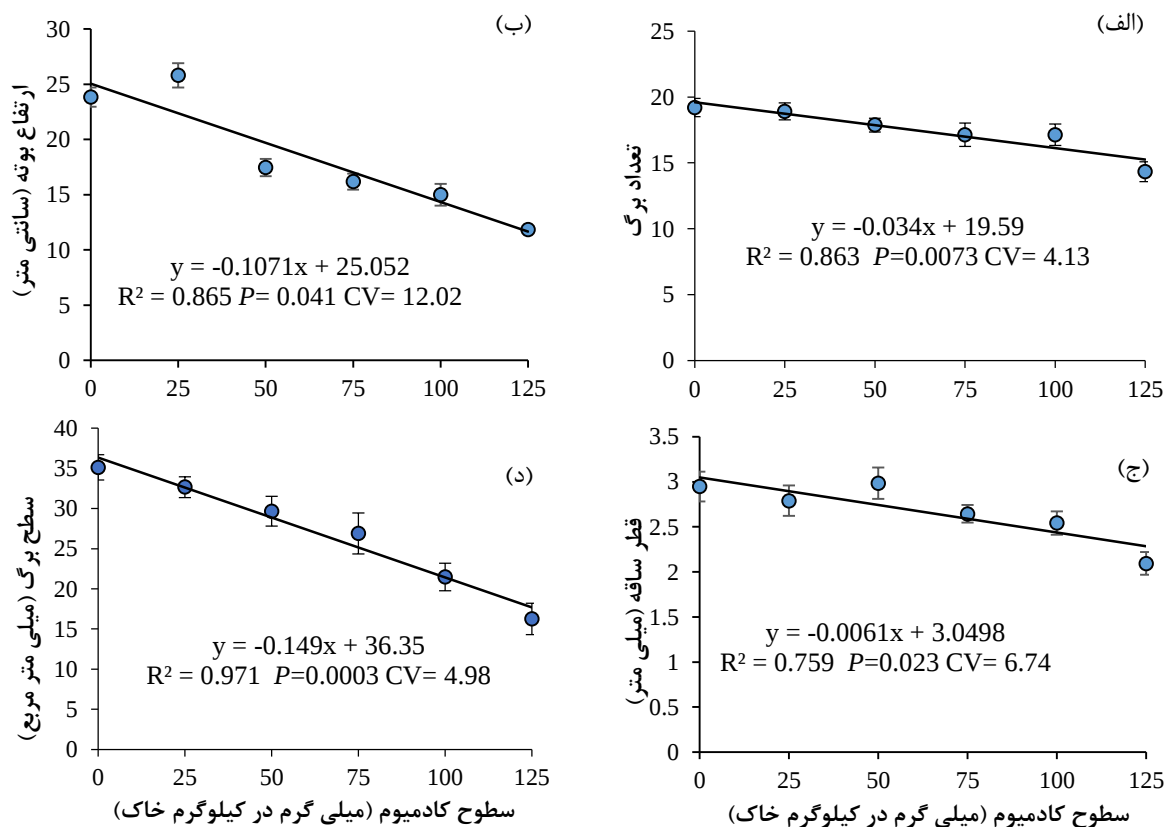
منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد برگ	ارتفاع بوته	قطر ساقه	سطح برگ
نانوذرات آهن (A)	۴	۴/۳۲ ^{ns}	۳۶/۵۳ ^{**}	۰/۳۷۵ ^{**}	۴۷/۶۲ [*]
کادمیوم (B)	۵	۵۱/۱۰ ^{**}	۴۳۴/۹۳ ^{**}	۳/۷۴ ^{**}	۷۵۴/۰۷ ^{**}
A × B	۲۰	۲/۶۵ ^{ns}	۳/۴۰ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۱۳/۵۸ ^{ns}
خطای آزمایشی	۶۰	۲/۱۸	۳/۴۱	۰/۰۷	۱۳/۲۸
ضریب تغییرات (درصد)		۸/۴۵	۱۰/۰۶	۹/۷۷	۱۳/۴۹

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۱-۲- روند پاسخ صفات مورفولوژیک خرفه به غلظت کادمیوم خاک

طبق یافته‌ها پاسخ تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه و سطح برگ به افزایش کادمیوم به صورت خطی و به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۶۳، ۰/۸۶۵، ۰/۷۵۹ و ۰/۹۷۱ بیان شد. با افزایش سمیت کادمیوم صفات تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه و سطح برگ به ترتیب با شیب‌های ۰/۰۳۴-، ۰/۱۰۷-، ۰/۰۰۶۱- و ۰/۱۴۹- واحد کاهش یافت (شکل ۴-۱). در بین صفات مورفولوژیک ارتفاع بوته و سطح برگ به ترتیب با حدود ۵۰ و ۵۴ درصد کاهش بیشترین حساسیت و تعداد برگ و قطر ساقه به ترتیب با ۲۵ و ۲۹ درصد کاهش نسبت به شاهد کمترین حساسیت را نسبت به افزایش غلظت کادمیوم خاک نشان دادند (شکل ۴-۲). مهار رشد توسط کادمیوم می‌تواند به علت مهار تقسیم سلولی و سرعت طویل شدن

سلول‌ها باشد که اغلب توسط مهار غیرقابل برگشت پمپ پروتون که مسئول این فرآیند است، رخ می‌دهد (لیو و همکاران، ۲۰۰۳). از دلایل دیگر کاهش رشد می‌توان به تحرک بالای کادمیوم در آوند آبکش و تجمع آن در هر یک از اندام‌های گیاه اشاره کرد که رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ را تحت تأثیر قرار داده و کاهش رشد گیاه را سبب می‌شود (حسین و همکاران، ۲۰۱۵). کاهش رشد رویشی گیاه در اثر کاربرد فلزات سنگین همانند کادمیوم و مس در لوبیا (هولندر، ۲۰۱۴) نخود (فیاض و همکاران، ۲۰۱۱) و ذرت (پوراکبر و ابراهیم‌زاده، ۱۳۹۲) گزارش شده است که با نتایج حاضر مطابقت دارد.



شکل ۴-۱- روند پاسخ صفات تعداد برگ (الف)، ارتفاع بوته (ب)، قطر ساقه (ج) و سطح برگ (د) به غلظت کادمیوم خاک



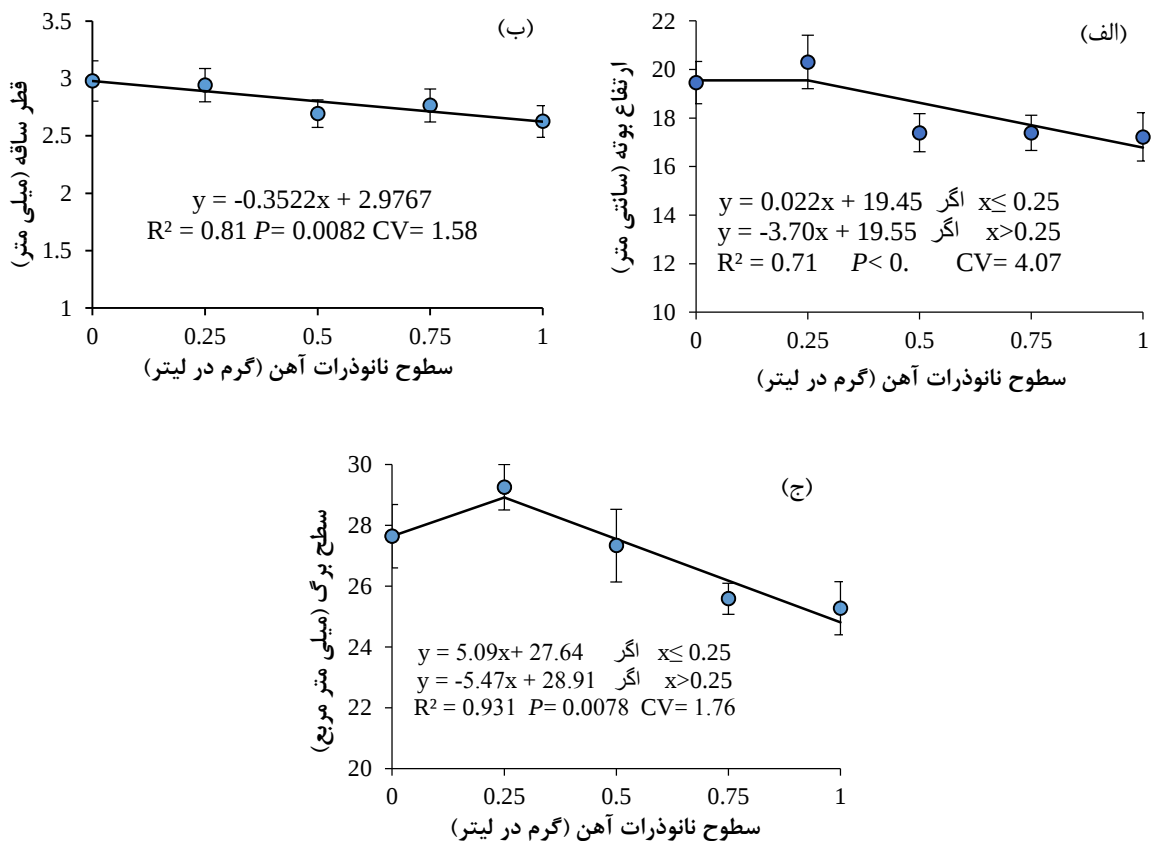
شکل ۴-۲- روند تغییرات رشد رویشی گیاه خرفه در پاسخ به افزایش غلظت کادمیوم در خاک (عکس از نگارنده)

۴-۱-۳- روند پاسخ صفات مورفولوژیک خرفه به سطوح محلول پاشی نانوذرات

آهن

با افزایش غلظت نانوذرات آهن روند ارتفاع بوته و سطح برگ به صورت دوتکه‌ایی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۷۱ و ۰/۹۳) و قطر ساقه به صورت خطی (با ضریب تبیین ۰/۸۱) بود (شکل ۴-۲). میزان قطر ساقه با افزایش غلظت محلول پاشی نانوذرات آهن با شیب ۰/۳۵۲- واحد و به میزان حدود ۱۲ درصد نسبت به عدم محلول پاشی کاهش یافت (شکل ۴-۳-ب)، اما در حالیکه افزایش غلظت نانوذرات آهن تا سطح ۰/۲۵ گرم در لیتر سبب افزایش حدود چهار درصدی ارتفاع بوته و حدود شش درصدی سطح برگ نسبت به سطح شاهد شد، اما با افزایش بیشتر غلظت نانو ذرات آهن میزان ارتفاع بوته و سطح برگ نسبت به سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۴-۳-الف و ج). دلیل افزایش سطح برگ و ارتفاع بوته گیاه خرفه تا غلظت ۰/۲۵ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن را می‌توان به نقش مثبت آهن بر افزایش میزان تولید کلروفیل و نمو کلروپلاست و به تبع آن افزایش میزان فتوسنتز و تولید کربوهیدرات نسبت داد که در نتیجه بالا رفتن میزان مواد فتوسنتزی شرایط بهتری برای رشد و نمو گیاه فراهم می‌شود (یاسین و همکاران، ۲۰۱۰). افزایش سطح برگ با کاربرد نانوذرات آهن در گیاه آفتابگردان تحت تنش شوری توسط ترابیان و زاهدی (۱۳۹۲) و در گیاه کلزا توسط بیاتی و همکاران (۱۳۹۳) گزارش

شده است. پژوهشگران مختلفی به تأثیر مثبت کاربرد آهن در مقایسه با عدم کاربرد آن (شاهد) بر ارتفاع بوته گیاهان و به دنبال آن بهبود عملکرد کل اشاره داشتند. برای مثال در کلزا بهبود ارتفاع گیاه و عملکرد کل با کاربرد آهن توسط پورغلام و همکاران (۲۰۱۳) و در سویا توسط قاسمیان و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. نظری (۱۳۹۱) نیز طی تحقیقی در بررسی اثر محلول پاشی نانو کود کلات آهن روی ریحان (*Ocimum bacilicus* L.) مشاهده کرد که کمترین سطح تیمار آهن (۱ گرم در لیتر)، بیشترین تأثیر را روی ارتفاع گیاه ریحان داشته است.



شکل ۴-۳- روند پاسخ صفات ارتفاع بوته (الف)، قطر ساقه (ب) و سطح برگ (ج) به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن

۴-۱-۴- اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات رویشی خرفه

تجزیه واریانس صفات رویشی مرحله اول مقدماتی این آزمایش نشان داد که محلول پاشی نانوذرات آهن بر وزن تر و خشک ساقه در سطح یک درصد معنی دار بود. تیمار کادمیوم بر وزن تر برگ، ساقه، ریشه و کل و همچنین وزن خشک ساقه و کل در سطح یک درصد اثر معنی داری داشت. بر همکنش کادمیوم و نانوذرات آهن بر وزن خشک برگ در سطح یک درصد و وزن خشک ریشه در سطح ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۴-۲).

جدول ۴-۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات رویشی خرفه

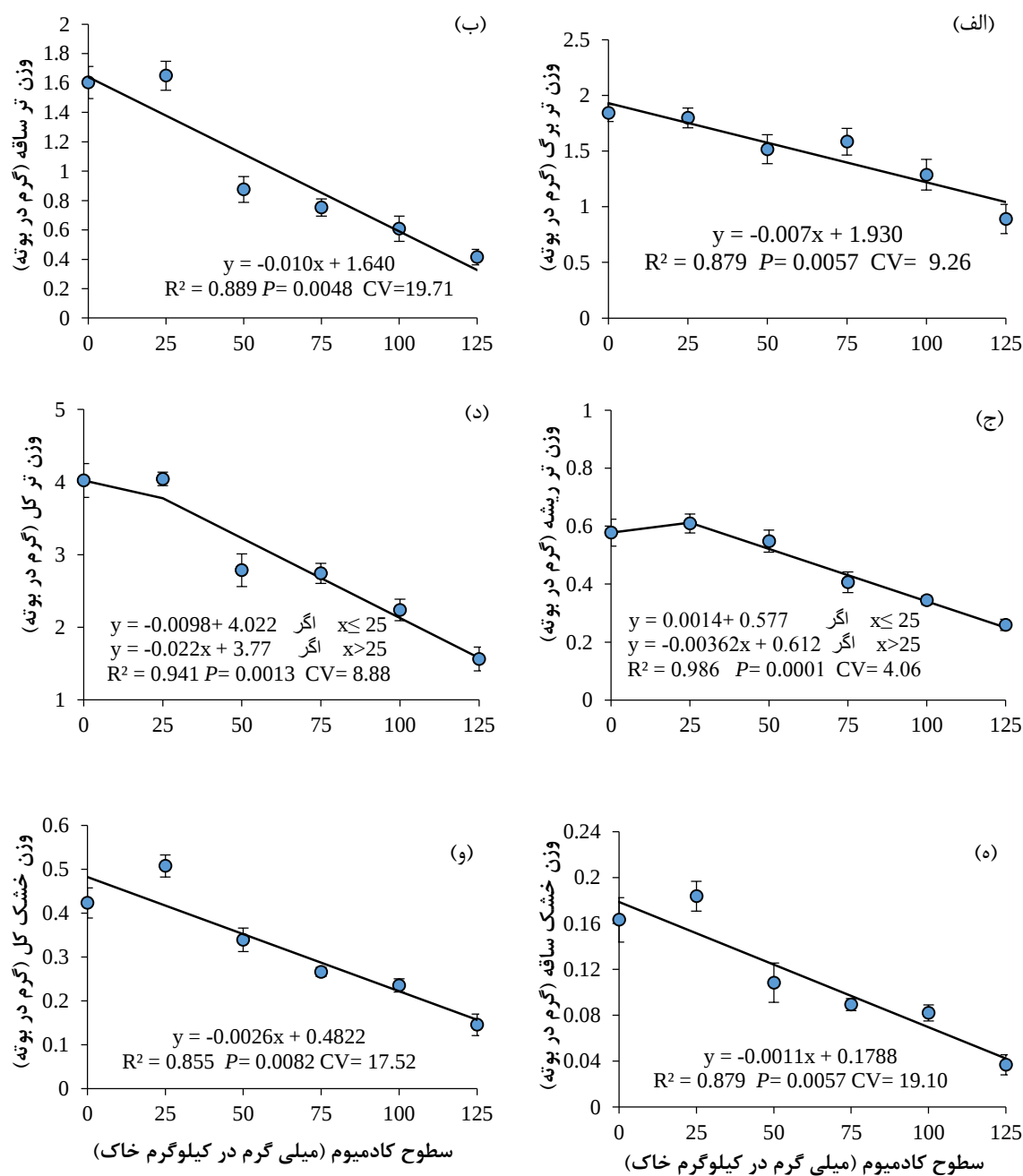
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر				وزن خشک			
		برگ	ساقه	ریشه	کل	برگ	ساقه	ریشه	کل
نانوذرات آهن (A)	۴	۰/۰۱۹۵ ^{ns}	۰/۱۸۲ ^{**}	۰/۰۰۴۹ ^{ns}	۰/۳۸۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۲۶ ^{**}	۰/۰۰۲۲ ^{**}	۰/۰۰۲۴ ^{ns}
کادمیوم (B)	۵	۲/۰۱۷ ^{**}	۴/۰۷۶ ^{**}	۰/۳۰۱ ^{**}	۱۴/۹۰ ^{**}	۰/۰۲۱۹ ^{**}	۰/۰۴۴۴ ^{**}	۰/۰۲۵۸ ^{**}	۰/۲۶۰۱ ^{**}
A × B	۲۰	۰/۰۷۰۵ ^{ns}	۰/۰۲۹۸ ^{ns}	۰/۰۰۳۲ ^{ns}	۰/۱۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۱۰ ^{**}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۸ [*]	۰/۰۰۲۳ ^{ns}
خطای آزمایشی	۶۰	۰/۰۸۱۵	۰/۰۳۵۸	۰/۰۰۴۳	۰/۱۴۷	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۲۰
ضریب تغییرات (درصد)		۱۶/۴۶	۱۹/۲۳	۱۴/۴۹	۱۳/۱۸	۱۵/۲۶	۲۲/۸۵	۲۴/۸۱	۱۴/۲۰

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۱-۵- روند پاسخ صفات رویشی خرفه به غلظت کادمیوم خاک

نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون صفات رویشی در این مرحله از آزمایش نشان داد، روند پاسخ وزن تر برگ و ساقه و وزن خشک ساقه و کل به صورت خطی و به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۷، ۰/۸۸، ۰/۸۷ و ۰/۸۵ بود به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم خاک میزان پارامترهای مذکور به ترتیب با شیب ۰/۰۰۷، -۰/۰۱۰، -۰/۰۱۱ و -۰/۰۰۲۶ واحد کاهش یافت (شکل ۴-۴ الف، ب، ه، و). در حالیکه روند پاسخ وزن تر ریشه و وزن تر کل به صورت دوتکه‌ای (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۸ و ۰/۹۴) بیان شد. با افزایش غلظت کادمیوم خاک تا سطح ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم خاک وزن تر ریشه با شیب ۰/۰۱۴ و به میزان حدود پنج درصد نسبت به سطح شاهد افزایش و سپس کاهش یافت. وزن تر کل گیاه تا سطح ۲۵ میلی گرم کادمیوم با شیب کمتری (۰/۰۰۹- واحد) کاهش یافت، اما با افزایش غلظت کادمیوم خاک از این سطح این پارامتر شیب کاهشی بیشتری (۰/۰۲۲- واحد) نشان داد (شکل ۴-۴).

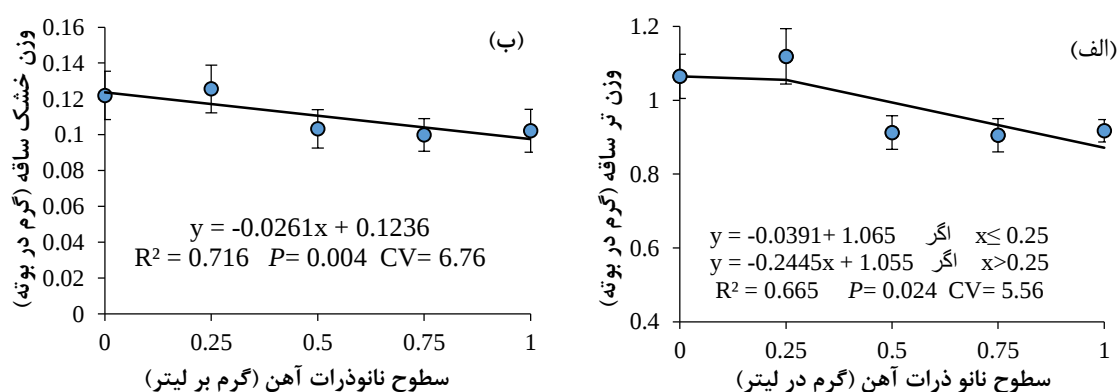
ج و د). در بین صفات رویشی وزن تر ساقه با بیش از سه برابر کاهش بیشترین حساسیت و وزن تر ریشه با ۵۵ درصد کاهش نسبت به سطح شاهد (صفر کادمیوم) کمترین حساسیت را به افزایش غلظت کادمیوم خاک نشان دادند. کاهش وزن خشک شاخساره تحت سمیت کلرید کادمیوم توسط هولاندار (۲۰۱۴) در گیاه لوبیا، گیاه نخود (فیاضان و همکاران، ۲۰۱۱) و در گیاه گلرنگ (نورانی آزاد و کفیل زاده ۱۳۹۰) گزارش گردید که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. فلزات سنگین با تجمع در دیواره سلول، ورود به سیتوپلاسم و ایجاد اختلال در متابولیسم طبیعی سلول منجر به کاهش رشد می‌شوند. البته فلزات سنگین با کاهش تورژسانس سلول موجبات کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلول‌ها را فراهم می‌آورند (یادوا، ۲۰۱۰).



شکل ۴-۴- روند پاسخ صفات وزن تر برگ (الف)، ساقه (ب)، ریشه (ج)، کل (د)، وزن خشک ساقه (ه) و کل (و) به غلظت کادمیوم خاک

۴-۱-۶- روند پاسخ صفات رویشی خرفه به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن

طبق نتایج تجزیه رگرسیون، روند پاسخ وزن تر ساقه از مدل دوتکه‌ای (ضریب تبیین ۰/۶۶۵) و وزن خشک ساقه از مدل خطی (ضریب تبیین ۰/۷۱۶) تبعیت کرد. با افزایش غلظت محلول پاشی تا سطح ۰/۲۵ گرم بر لیتر نانوذرات آهن وزن تر ساقه با شیب کمتری (۰/۰۳۹- واحد) کاهش یافت. با افزایش غلظت نانوذرات آهن از این سطح شیب کاهشی افزایش (۰/۲۴۴- واحد) یافت. وزن خشک ساقه نیز با افزایش غلظت نانوذرات آهن (با شیب ۰/۰۲۶- واحد) به میزان ۱۶ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۴-۵). کاهش وزن خشک گیاه با کاربرد نانوذرات آهن با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت ندارد. به عنوان مثال در پژوهش پیوندی و همکاران (۱۳۹۰) مشخص گردید که مصرف یک کیلوگرم در هکتار کلات آهن به شکل نانو در مقایسه با شکل معمول آن به نسبت بیشتری وزن خشک اندام هوایی، ریشه و برگ و طول ریشه گیاه ریحان را افزایش داد. همچنین فتحی و زاهدی (۱۳۹۳) نیز در پژوهش خود دریافتند که محلول پاشی آهن به شکل نانوذرات وزن خشک اندام هوایی ذرت را افزایش داد.



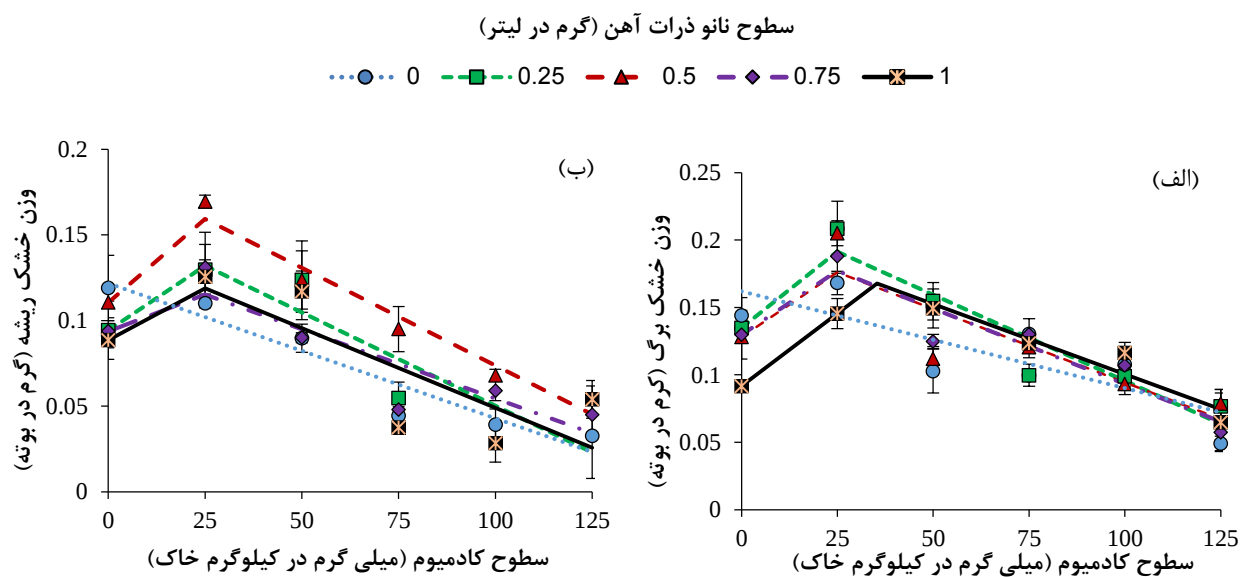
شکل ۴-۵- روند پاسخ وزن تر (الف) و وزن خشک ساقه (ب) به سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن

۴-۱-۷- روند پاسخ صفات رویشی خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت-

های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن

پاسخ وزن خشک برگ به افزایش کادمیوم خاک در تیمار عدم محلول پاشی به صورت خطی و کاهشی (ضریب تبیین ۰/۶۶۹) بود؛ در حالی که روند پاسخ وزن خشک برگ در هر سه سطح محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت دوتکه‌ای بیان شد. با افزایش کادمیوم میزان وزن خشک برگ در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ محلول پاشی تا سطح ۲۵ و در غلظت یک گرم در لیتر محلول پاشی تا سطح ۳۵ افزایش یافت، اما افزایش بیشتر از این سطوح کادمیوم، سبب کاهش وزن خشک برگ گردید (شکل ۴-۶- الف، جدول ۳-۴). روند پاسخ وزن خشک ریشه نیز در تیمار عدم محلول پاشی به صورت خطی و کاهشی (با ضریب تبیین ۰/۹۲۳) بود؛ بدین صورت که با افزایش کادمیوم وزن خشک ریشه با حدود ۷۳ درصد نسبت به سطح شاهد کادمیوم کاهش یافت. روند پاسخ وزن خشک ریشه در تمامی سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت دوتکه‌ای بیان شد. به طوری که محلول پاشی نانوذرات آهن در هر چهار سطح، سبب افزایش میزان وزن خشک ریشه تا سطح ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک گردید، اما در سطوح بالاتر از ۲۵ وزن خشک ریشه با شیب کاهشی همراه بود. در این میان غلظت ۰/۵ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن با حدود ۳۵ درصد نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را در افزایش وزن خشک ریشه داشت (شکل ۴-۶- ب، جدول ۳-۴). دهریک و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که کادمیوم سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی اسفناج می‌شود. تالاتام و پاریدا (۲۰۰۹) کاهش وزن تر و خشک گیاه اسفناج در اثر کادمیوم را به سبب تأثیر منفی کادمیوم بر تولید انرژی در میتوکندری نسبت دادند. بر طبق نتایج این پژوهش در تمامی غلظت‌های نانوذرات آهن افزایش در میزان وزن خشک ریشه و برگ در سطوح پایین کادمیوم خاک مشاهده شد. به نظر می‌رسد با توجه به نقش آهن در ساختمان کلروفیل و سیستم فتوسنتزی گیاه (یوسف زاده و همکاران، ۱۳۹۵)، محلول پاشی نانوذرات آهن در سطوح مناسب با افزایش دسترسی گیاه به آهن موجب بهبود فتوسنتز و ماده سازی در گیاه

شده و در نهایت وزن خشک گیاه را افزایش داده است. در همین زمینه نتایج مشابهی برای گیاه دارویی انیسون (پیرزاد و همکاران، ۱۳۹۲) و نعناع فلفلی (حیدری و همکاران، ۱۳۸۷) نیز پیش‌تر گزارش شده است.



شکل ۴-۶- روند پاسخ وزن خشک برگ (الف) و ریشه (ب) گیاه خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی نانوذرات آهن

جدول ۴-۳- معادله مناسب توصیف کننده رابطه تیمارهای نانوذرات آهن بر پارامترهای رویشی گیاه خرفه در سطوح مختلف کادمیوم

غلظت نانوذرات آهن	وزن خشک برگ	وزن خشک ریشه
۰	$y = -0.0007x + 0.161$ $R^2 = 0.669$ $P=0.046$ $CV= 22.52$	$y = -0.0008x + 0.121$ $R^2 = 0.923$ $P=0.0022$ $CV= 16.33$
۰/۲۵	$y = 0.0022x + 0.1348$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.0012x + 0.1916$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.890$ $P= 0.0047$ $CV= 13.01$	$y = 0.00151x + 0.0943$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.00109x + 0.1321$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.889$ $P= 0.0047$ $CV= 18.15$
۰/۵	$y = 0.00192x + 0.1282$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.00109x + 0.1762$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.760$ $P= 0.023$ $CV= 17.122$	$y = 0.00195x + 0.1105$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.00114x + 0.1593$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.961$ $P= 0.0005$ $CV= 8.55$
۰/۷۵	$y = 0.0019x + 0.129$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.00112x + 0.1773$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.883$ $P= 0.0053$ $CV= 12.33$	$y = 0.000861x + 0.0937$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.00081x + 0.1152$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.797$ $P= 0.0166$ $CV= 19.24$
۱	$y = 0.00215x + 0.0917$ اگر $x \leq 35.37$ $y = -0.00104x + 0.1677$ اگر $x > 35.37$ $R^2 = 0.931$ $P= 0.0018$ $CV= 7.95$	$y = 0.00121x + 0.0885$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.00093x + 0.1188$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.665$ $P= 0.050$ $CV= 29.17$

۴-۱-۸- اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات فیزیولوژیک خرفه

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک مرحله اول مقدماتی این آزمایش نشان داد، اثر ساده نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل a و محتوای نسبی آب برگ در سطح یک درصد و بر نسبت کلروفیل a/b در سطح پنج درصد معنی دار بود. تیمار کادمیوم بر نسبت کلروفیل a/b ، نشت الکترولیت، محتوای نسبی آب برگ و هدایت روزنه‌ایی در سطح یک درصد اثر معنی داری گذاشت. همچنین برهمکنش نانوذرات آهن و کادمیوم بر کلروفیل a ، b ، مجموع کلروفیل $a+b$ ، کاروتنوئید و عدد اسپد در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۴-۴).

جدول ۴-۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات فیزیولوژیک خرفه

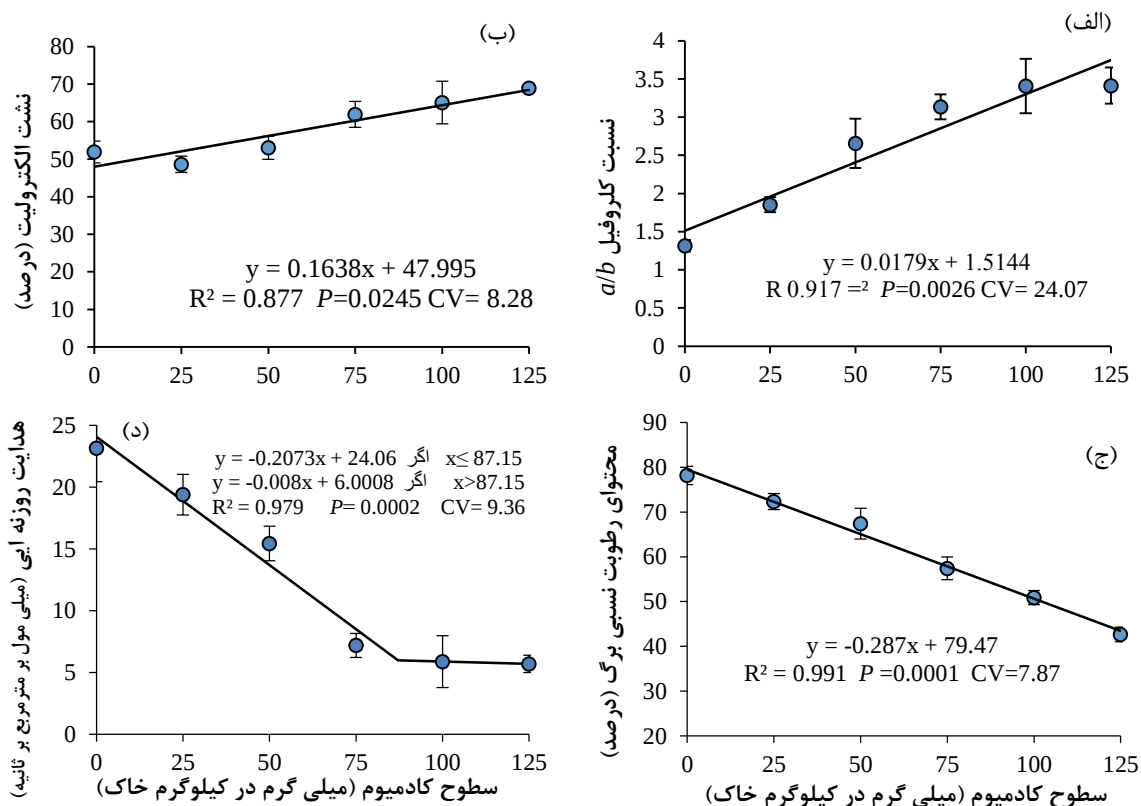
منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل			کاروتنوئید	عدد اسپد	نشت الکترولیت	محتوای نسبی آب برگ	هدایت روزنه‌ای
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>					
نانوذرات آهن (A)	۴	۲/۲۰**	۰/۴۰۳ ^{ns}	۱/۰۵ ^{ns}	۰/۳۲۱**	۱۶۷/۰۸**	۱۰۱/۳۸ ^{ns}	۴۷۱/۳۷**	۱۸/۶۹ ^{ns}
کادمیوم (B)	۵	۳/۸۵**	۱۴/۳۳**	۲۹/۳۱**	۲/۸۳**	۲۸۷/۵۴**	۱۲۴۹/۵۷**	۲۷۴۴/۲۸**	۸۶۱/۲**
A × B	۲۰	۲/۰۲**	۱/۱۳**	۳/۶۲**	۰/۰۸**	۳۲/۴۲**	۵۴/۴۹ ^{ns}	۳۶/۵۲ ^{ns}	۶/۹۸ ^{ns}
خطای آزمایشی	۶۰	۰/۲۸۸	۰/۳۴۸	۰/۸۰۵	۱/۳۶۳	۷/۸۱	۵۱/۲۰	۳۶/۵۳	۱۲/۰۵
ضریب تغییرات (درصد)		۱۲/۲۱	۲۸/۸۴	۱۳/۴۲	۳۰/۰۴	۱۵/۴۴	۱۳/۰۳	۹/۸۳	۲۷/۱۳

^{ns} و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۱-۹- روند پاسخ صفات فیزیولوژیک خرفه به غلظت کادمیوم خاک

آنالیز رگرسیون صفات فیزیولوژیک مرحله اول مقدماتی این آزمایش نشان داد، روند پاسخ کلروفیل *a/b* به کادمیوم به صورت خطی و افزایشی بود (ضریب تبیین ۰/۹۱)، به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم نسبت کلروفیل *a* به *b* (با شیب ۰/۰۱۷ واحد) افزایش یافت (شکل ۴-۷ الف). روند پاسخ نشت الکترولیت به صورت خطی و افزایشی بود و با افزایش غلظت کادمیوم خاک نشت الکترولیت با شیب ۰/۱۶۳ واحد و به میزان حدود ۲۵ درصد نسبت به سطح شاهد کادمیوم بیشتر شد (شکل ۴-۷ ب). نشت املاح از اجزاء گیاهی، منعکس کننده وضعیت غشاء سلولی است. مشخص شده است که اثرات زیان‌بار ناشی از آسیب اکسیداتیو فلزات سنگین مانند کادمیوم می‌تواند ساختار غشاء را به علت پراکسیداسیون لیپیدی تخریب کند و در نتیجه، باعث نشت املاح گردد (آگراوال و میشر، ۲۰۰۹) که با نتایج به دست آمده در پژوهش افتخار و همکاران (۱۳۹۸) بر روی گیاه آفتابگردان، رفیعی و همکاران (۱۳۹۷) در گیاه خرفه، رادی و همکاران (۲۰۱۱) در گیاه لوبیا و پور اکبر (۱۳۹۱) بر روی گیاه ذرت مطابقت دارد. به هر حال چنین آسیبی ناشی از مکانیسم‌های مختلف شامل اکسیداسیون توسط گونه-های فعال اکسیژن و یا تغییرات در نفوذپذیری است که ممکن است در مهار فعالیت $H^+-ATPase$ غشای پلاسمایی شرکت کند (هاتاتا و ابدل-ال، ۲۰۰۸) که احتمالاً آن هم تغییر در ترکیب و سیالیت چربی‌ها را در پی دارد. نتایج به دست آمده در پژوهش میشر و همکاران (۲۰۰۶) نشان دهنده‌ی آن است که کادمیوم همانند فلزات دیگر بر روی پیوندهای محتوای نیتروژن و سولفور پروتئین‌ها اثر قوی

دارد و پروتئین‌هایی که حاوی چنین پل‌هایی هستند، موجب تخریب کانال‌های غشایی و نشت یون‌ها در تیمار با کادمیوم می‌شوند؛ همچنین نتایج بیانگر کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ به صورت خطی (با شیب $0/287$ - واحد) بود. میزان کاهش RWC در مقایسه با سطح شاهد کادمیوم حدود 45 درصد بود (شکل $4-7$ - ج). نتایج نشان داد با بیشتر شدن غلظت کادمیوم روند تغییرات هدایت روزنه‌ایی به صورت دو تکه‌ایی (با ضریب تبیین $0/97$) بیان شد به طوریکه از سطح شاهد تا سطح 87 میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم خاک میزان هدایت روزنه‌ایی با شیب بیشتری ($0/207$ - واحد) و در غلظت‌های بالاتر از این سطح با شیب کمتری ($0/008$ - واحد) کاهش یافت (شکل $4-7$ - د). محدودیت جذب آب ناشی از تنش کادمیوم باعث تشکیل اسیدآبسیزیک و پراکسید هیدروژن می‌شود. اسید آبسیزیک و سایر مولکول‌های پیام‌رسان، به برگ‌ها انتقال داده می‌شوند. پراکسید هیدروژن تولید شده نیز باعث تشدید پاسخ اسید آبسیزیک می‌شود و منجر به بسته شدن روزنه از طریق فعال‌سازی کانال‌های کلسیم می‌شود (اسچوتزندوبل و پول، 2002). کاهش تعداد و اندازه‌ی روزنه‌ها ممکن است از دلایل دیگر کاهش هدایت روزنه‌ایی در تیمار کادمیوم باشد (برگمن، 2004). کاهش محتوای نسبی آب برگ با افزایش غلظت کادمیوم خاک در گیاه خرفه (رفیعی و همکاران، 1397)، بنگدانه (کاظم علیلو و صدیقیانی، 1391)، گل‌گندم (برین و همکاران، 1394) و کاهو (فرخ و همکاران، 2011) توسط پژوهشگران گزارش شده است.



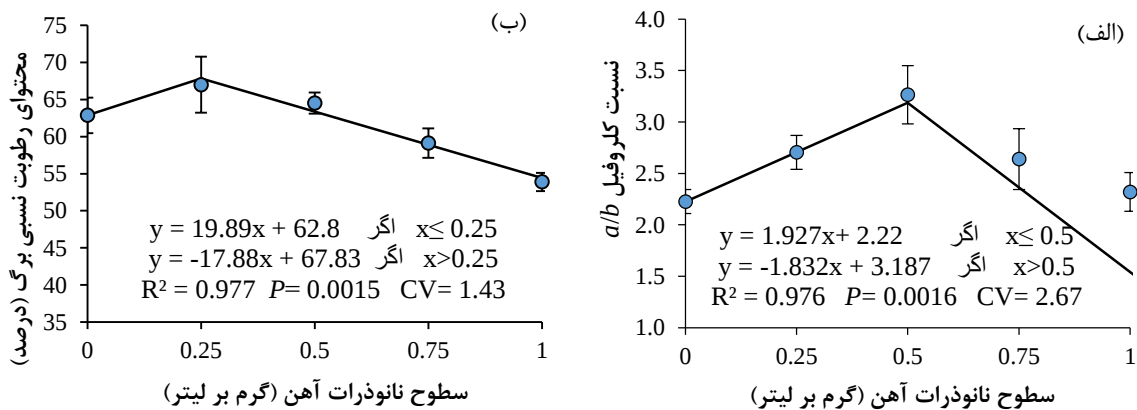
شکل ۴-۷- روند پاسخ صفات کلروفیل a/b (الف)، نشت الکترولیت (ب)، محتوای رطوبت نسبی برگ (ج) و هدایت روزنه‌ایی (د) به غلظت کادمیوم خاک

۴-۱-۱۰- روند پاسخ صفات فیزیولوژیک خرفه به سطوح محلول‌پاشی نانوذرات آهن

آهن

آنالیز رگرسیون داده‌ها نشان داد روند پاسخ کلروفیل a/b به افزایش غلظت نانوذرات آهن به صورت دو تکه‌ای بیان شد (ضریب تبیین ۰/۹۷)، به طوری که تا سطح ۰/۵ گرم برلیتر نسبت کلروفیل a/b افزایش یافت (با شیب ۱/۹۲۷ واحد) و با افزایش غلظت از این سطوح روند کاهشی نشان داد (با شیب ۱/۸۳۲- واحد) (شکل ۴-۸-الف). پاسخ محتوای نسبی آب برگ به محلول‌پاشی نانوذرات آهن از مدل دوتکه‌ایی با ضریب تبیین ۰/۹۷۷ تبعیت کرد. افزایش غلظت محلول‌پاشی نانوذرات آهن تا سطح ۰/۲۵

گرم در لیتر سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ به میزان حدود شش درصد نسبت به سطح شاهد گردید. اما در غلظت‌های بالاتر محلول‌پاشی میزان محتوای نسبی آب برگ با شیب ۱۷/۸۸- واحد و به میزان حدود ۱۴ درصد به نسبت سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۴-۸-ب)، که می‌تواند بیانگر عدم تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات آهن بر این پارامتر در سطوح بالاتر از ۰/۲۵ گرم در لیتر باشد. در اثر محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی، گیاه در شرایط مطلوب رشدی قرار گرفته و با جذب آب، کارایی آن نیز بالا می‌رود. به طوری که برای جذب آب، CO_2 کمتری از دست می‌دهد زیرا شیب غلظتی که در اتاقک زیر روزنه ایجاد می‌شود به قدری بالا خواهد رفت که تمایل برای جذب CO_2 چندین برابر خواهد شد. بنابراین به ازای ورود هر مولکول CO_2 آب کمتری نیز خارج می‌شود که از این طریق محتوی نسبی آب برگ نیز افزایش می‌یابد (قدسی و همکاران، ۱۳۸۳). افزایش در محتوای نسبی آب برگ با کاربرد نانوذرات آهن توسط نودری‌راد و همکاران (۱۳۹۵) در گیاه لوبیا و کاشانی و همکاران (۱۳۹۸) در گیاه کلزا گزارش شده است.



شکل ۴-۸- روند پاسخ صفات کلروفیل a/b (الف) و محتوای رطوبت نسبی برگ (ب) به سطوح مختلف محلول‌پاشی نانوذرات آهن

۴-۱-۱۱- روند پاسخ صفات فیزیولوژیک خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت

غلظت‌های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن

روند پاسخ کلروفیل a به افزایش غلظت کادمیوم خاک در سطوح محلول پاشی شاهد، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر نانوذرات آهن از مدل دو تکه ایی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۳۱، ۰/۸۷۴، ۰/۹۱۰ و ۰/۸۴۹) پیروی کرد اما در غلظت محلول پاشی ۰/۷۵ گرم در لیتر به صورت خطی و کاهشی (ضریب تبیین ۰/۸۸۱) بود. میزان کلروفیل a در سطح شاهد، ۰/۲۵ و ۰/۵ محلول پاشی نانوذرات آهن با افزایش غلظت کادمیوم به ترتیب تا سطح ۲۵، ۵۰ و ۴۳/۱۷ میلی گرم در کیلوگرم افزایش یافت و با افزایش بیشتر از این سطوح روند کاهشی نشان داد. محتوای کلروفیل a در سطح یک گرم در لیتر محلول پاشی با افزایش کادمیوم تا سطح ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم ابتدا حدود ۳۷ درصد کاهش (با شیب ۰/۰۲۹- واحد) و سپس حدود ۳۵ درصد افزایش (با شیب ۰/۰۰۹ واحد) یافت. اما در غلظت ۰/۷۵ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن با افزایش سطوح کادمیوم محتوای کلروفیل a به صورت خطی و با شیب ۰/۰۱۸ واحد کاهش یافت (شکل ۴-۹-الف، جدول ۴-۵).

پاسخ محتوای کلروفیل b در سطوح شاهد، ۰/۲۵ و ۱ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن به افزایش غلظت کادمیوم خاک به صورت دو تکه ایی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۵۷، ۰/۹۷۲ و ۰/۹۸۱) و در سطوح ۰/۵ و ۰/۷۵ به صورت خطی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۵۰ و ۰/۹۴۸) بیان شد. میزان کلروفیل b در سطح شاهد و ۰/۲۵ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن با افزایش غلظت کادمیوم به ترتیب تا سطح ۵۰ و ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک افزایش یافت و با افزایش بیشتر از این سطوح روند کاهشی نشان داد (به ترتیب با شیب ۰/۰۲۵- و ۰/۰۳۰- واحد). محتوای کلروفیل b در سطح محلول پاشی یک گرم در لیتر با افزایش کادمیوم تا سطح ۶۲/۹۲ میلی گرم در کیلوگرم ابتدا حدود ۸۸ درصد کاهش (با شیب ۰/۰۵۴- واحد) و سپس بیش از دو برابر افزایش یافت. همچنین با افزایش غلظت کادمیوم خاک محتوای کلروفیل b در سطوح ۰/۵ و ۰/۷۵ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات

آهن نسبت به سطح صفر کادمیوم خاک حدود ۷۵ و ۵۶ درصد کاهش یافت (شکل ۴-۹-ب، جدول ۴-۵).

مجموع کلروفیل a و b در سطوح شاهد و ۰/۷۵ محلول پاشی نانوذرات آهن با افزایش غلظت کادمیوم خاک به صورت خطی به ترتیب با شیب ۰/۰۲۰- و ۰/۰۳۴- واحد (با ضریب تبیین ۰/۷۹۵ و ۰/۹۱۹) کاهش یافت. در حالیکه در غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ محلول پاشی مجموع کلروفیل a و b ابتدا به ترتیب تا سطح ۳۵/۷۴ و ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک افزایش (به ترتیب با شیب ۰/۰۴۷ و ۰/۰۶۵ واحد) و با افزایش بیشتر از این سطوح کاهش (به ترتیب با شیب ۰/۰۵۲- و ۰/۰۵۳- واحد) یافت. در غلظت یک گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن محتوای کلروفیل ها ابتدا تا سطح ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک ۵۰ درصد کاهش و سپس حدود ۱۹ درصد افزایش یافت (شکل ۴-۹-ج، جدول ۴-۵).

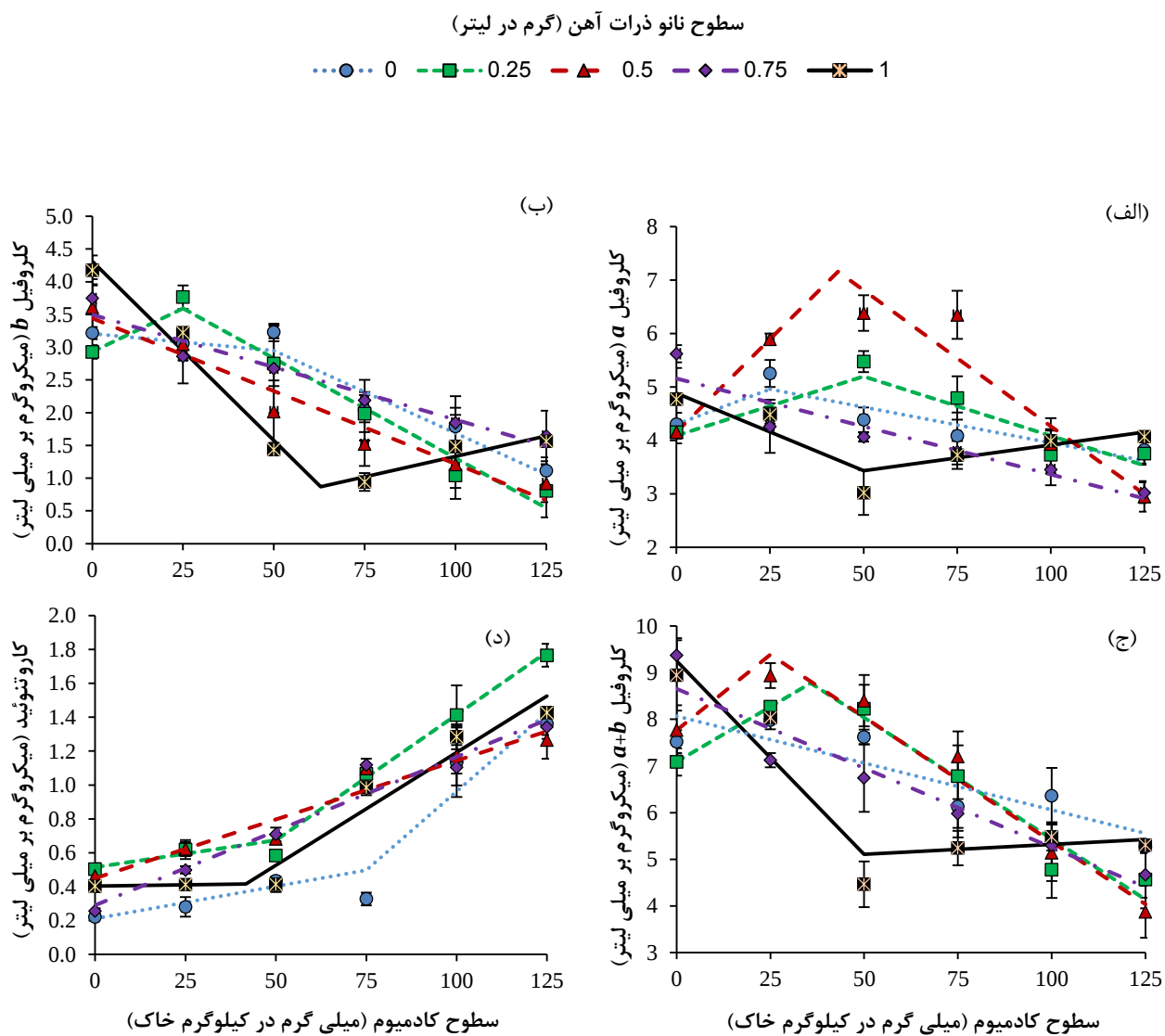
روند پاسخ محتوای کاروتنوئید گیاه در سطح شاهد، ۰/۲۵ و ۱ گرم بر لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت دوتکه ایی بیان شد به طوری که با افزایش کادمیوم به ترتیب تا سطح ۷۵، ۵۰ و ۴۱/۶۹ محتوای کاروتنوئید با شیب کمتر و با افزایش غلظت کادمیوم از این سطوح با شیب بیشتری افزایش یافت. در سطح ۰/۵ و ۰/۷۵ گرم بر لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن محتوای کاروتنوئید با افزایش میزان کادمیوم خاک به صورت خطی (به ترتیب با شیب ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۸ واحد) افزایش یافت (شکل ۴-۹-د، جدول ۴-۵).

روند پاسخ سبزینگی برگ به سطوح کادمیوم در غلظت های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن نشان داد با افزایش غلظت کادمیوم سبزینگی برگ در سطوح ۰، ۰/۲۵ و ۱ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت خطی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۷۳، ۰/۹۵ و ۰/۸۷) کاهش یافت که در این میان سطح ۱ محلول پاشی با ۰/۰۷۵- واحد بیشترین شیب کاهشی را نشان داد. پاسخ سبزینگی برگ در سطوح ۰/۵ و ۰/۷۵ محلول پاشی به صورت دوتکه ایی (به ترتیب با ضریب ۰/۹۳ و ۰/۸۷) تبیین شد.

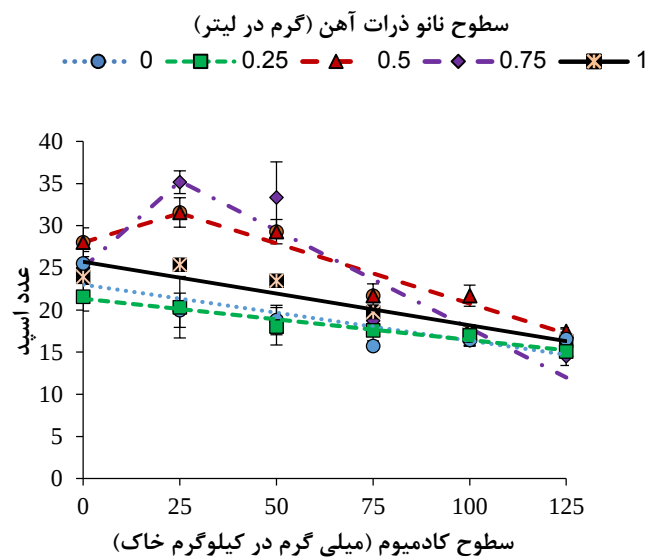
میزان سبزی‌نگی برگ در هر دو سطح ۰/۵ و ۰/۷۵ تا غلظت ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به ترتیب حدود ۱۱ و ۲۹ درصد به نسبت شاهد بیشتر شد. در سطوح بالاتر کادمیوم سبزی‌نگی برگ با روند کاهشی همراه بود. در این میان محلول پاشی ۰/۷۵ گرم نانوذرات آهن در لیتر از شیب کاهشی بیشتری در مقایسه با سطح ۰/۵ برخوردار بود (شکل ۴-۱۰، جدول ۴-۵). نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده است با افزایش سطح کادمیوم بستر، جذب عناصر غذایی به کار رفته در ساختمان کلروفیل کاهش یافته و آثار زردی و خشکیدگی در گیاه پدیدار می‌گردد. در پژوهشی روی گوجه فرنگی کاربرد غلظت‌های متفاوت کادمیوم در دامنه ۸۰-۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک سبب کاهش معنی‌دار شاخص کلروفیل برگ شد (نعمتی و همکاران، ۱۳۹۴).

در مجموع یافته‌ها نشان داد، با افزایش میزان کادمیوم خاک میزان کلروفیل کاهش و محتوای کاروتنوئید افزایش یافت، اما محلول پاشی نانوذرات آهن به ویژه در سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر لیتر میزان کلروفیل کل گیاه را در غلظت‌های پایین کادمیوم خاک افزایش داد. تخریب کلروفیل‌ها در برگ‌های مسن و جلوگیری از سنتز آن‌ها در برگ‌های جوان، از علل اولیه کلروز برگ‌گی در گیاهان رشد یافته در خاک حاوی کادمیوم می‌باشد. مهار آنزیم‌های بیوسنتز کلروفیل و فعالسازی تجزیه آنزیمی، نقش بسیار مهمی در کاهش محتوای کلروفیل ایفا می‌کند. کادمیوم جذب برخی عناصر غذایی از جمله منگنز، آهن و منیزیم را کاهش می‌دهد و با جایگزینی کادمیم به جای منیزیم موجود در حلقه پورفیرینی موجب تخریب کلروفیل می‌گردد (پارمر و همکاران، ۲۰۱۳). کاهش میزان کلروفیل در گیاه توسط کادمیوم در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (پراساد و همکاران، ۲۰۰۴؛ اله‌بخش و همکاران، ۱۳۹۷؛ افتخار و همکاران، ۱۳۹۸). عنصر کادمیوم به عنوان آغازکننده‌ی پراکسیداسیون لیپید و غشاء و تحریک کننده تولید گونه‌های فعال اکسیژن شناخته شده‌اند (شارما و همکاران، ۲۰۰۴). یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل‌ها، تخریب آن‌ها به وسیله گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد (نواری-ایزو و همکاران، ۱۹۹۸). محتوی کاروتنوئید گیاهان در معرض کادمیوم، یک الگوی منظم را نشان نمی‌دهد و در گیاهان مختلف ممکن است افزایش یا کاهش یابد. در بسیاری از موارد افزایش در میزان

کاروتنوئیدها در اثر کادمیوم گزارش شده است، به طور مثال در ذرت رشد یافته در محیط حاوی ۱۰۰ میکرومول کادمیوم، ۱۰ روز بعد از تیمار، افزایش در میزان کاروتنوئید مشاهده شد (پارمر و همکاران، ۲۰۱۳). افزایش ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند کاروتنوئید یکی از سازوکارهای دفاعی گیاهان در برابر فلزات سنگین است (اسمیت و همکاران، ۲۰۰۵). در تحقیق افتخار و همکاران (۱۳۹۸) روی گیاه آفتابگردان نیز مشاهده گردید که به موازات افزایش سمیت کادمیوم خاک، بر میزان کاروتنوئید افزوده شد. از طرفی پژوهشگران گزارش کردند که مقدار کلروفیل گیاهان به در دسترس بودن مداوم آهن بستگی دارد و می تواند به عنوان یک عامل کمکی برای فعال کردن آنزیم نیترات ردوکتاز به کار رود. با توجه به این که عنصر آهن در ساختار کلروفیل نقش مستقیمی دارد و عنصر کادمیوم جایگزین آهن در ساختار کلروفیل می گردد، وجود آهن کافی سبب بهبود کلروفیل سازی در گیاه می گردد و می تواند در میزان فتوسنتز تأثیر گذار باشد (عرب و همکاران، ۱۳۹۷). نتایج سایر تحقیقات روی گیاه مرزه (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰ الف)، سویا (بو و همکاران، ۲۰۱۳)، آفتابگردان (ترابی و زاهدی، ۱۳۹۲) و گندم (بابایی و همکاران، ۲۰۱۷) بیانگر افزایش کلروفیل a ، b و کلروفیل کل به واسطه کاربرد نانوذرات آهن بود.



شکل ۴-۹- روند پاسخ کلروفیل a (الف)، b (ب)، $a+b$ (ج) و کاروتنوئید (د) گیاه خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی نانوذرات آهن



شکل ۴-۱۰ روند پاسخ عدد اسپد گیاه خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول پاشی نانو ذرات آهن

جدول ۴-۵ معادله مناسب توصیف کننده رابطه تیمارهای نانو ذرات آهن بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه خرفه در سطوح مختلف کادمیوم

غلظت نانو ذرات آهن	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل $a+b$
۰	$y = 0.0262x + 4.304$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.0134x + 4.959$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.831$ $P = 0.0113$ $CV = 5.06$	$y = -0.0051x + 3.208$ اگر $x \leq 50$ $y = -0.0252x + 2.948$ اگر $x > 50$ $R^2 = 0.957$ $P = 0.0007$ $CV = 8.34$	$y = -0.020x + 8.072$ $R^2 = 0.795$ $P = 0.017$ $CV = 37.82$
۰/۲۵	$y = 0.0221x + 4.0902$ اگر $x \leq 50$ $y = -0.0222x + 5.1952$ اگر $x > 50$ $R^2 = 0.874$ $P = 0.0062$ $CV = 5.27$	$y = 0.0266x + 2.929$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.0305x + 3.594$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.972$ $P = 0.0003$ $CV = 9.53$	$y = 0.0473x + 7.087$ اگر $x \leq 35.74$ $y = -0.052x + 8.777$ اگر $x > 35.74$ $R^2 = 0.950$ $P = 0.0009$ $CV = 5.97$
۰/۵	$y = 0.0695x + 4.156$ اگر $x \leq 43.17$ $y = -0.0509x + 7.157$ اگر $x > 43.17$ $R^2 = 0.910$ $P = 0.0031$ $CV = 9.40$	$y = -0.022x + 3.442$ $R^2 = 0.950$ $P = 0.0009$ $CV = 18.64$	$y = 0.065x + 7.765$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.0536x + 8.777$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.966$ $P = 0.0004$ $CV = 5.73$
۰/۷۵	$y = -0.018x + 5.158$ $R^2 = 0.881$ $P = 0.0055$ $CV = 28.79$	$y = -0.016x + 3.497$ $R^2 = 0.948$ $P = 0.001$ $CV = 19.06$	$y = -0.034x + 8.655$ $R^2 = 0.919$ $P = 0.0025$ $CV = 23.71$
۱	$y = -0.029x + 4.885$ اگر $x \leq 50$ $y = 0.00964x + 3.435$ اگر $x > 50$ $R^2 = 0.849$ $P = 0.0090$ $CV = 5.39$	$y = -0.0547x + 2.929$ اگر $x \leq 62.92$ $y = 0.0125x + 0.8703$ اگر $x > 62.92$ $R^2 = 0.981$ $P = 0.0001$ $CV = 9.03$	$y = -0.083x + 9.254$ اگر $x \leq 50$ $y = 0.00422x + 5.104$ اگر $x > 50$ $R^2 = 0.921$ $P = 0.0024$ $CV = 8.34$

ادامه جدول ۴-۵

غلظت نانوذرات آهن	کاروتنوئید	عدد اسپد
۰	$y = 0.0038x + 0.2123$ اگر $x \leq 75$ $y = 0.0186x + 0.497$ اگر $x > 75$ $R^2 = 0.947$ $P = 0.001$ $CV = 18.90$	$y = -0.066x + 23.01$ $R^2 = 0.732$ $P = 0.029$ $CV = 11.19$
۰/۲۵	$y = 0.0032x + 0.5149$ اگر $x \leq 50$ $y = 0.0148x + 0.674$ اگر $x > 50$ $R^2 = 0.993$ $P = 0.0001$ $CV = 4.60$	$y = -0.048x + 21.33$ $R^2 = 0.959$ $P = 0.006$ $CV = 2.89$
۰/۵	$y = 0.006x + 0.449$ $R^2 = 0.941$ $P = 0.0013$ $CV = 20.33$	$y = 0.138x + 28.03$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.143x + 31.48$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.934$ $P = 0.0017$ $CV = 6.074$
۰/۷۵	$y = 0.008x + 0.291$ $R^2 = 0.958$ $P = 0.0007$ $CV = 17.10$	$y = 0.411x + 25$ اگر $x \leq 25$ $y = -0.233x + 35.27$ اگر $x > 25$ $R^2 = 0.877$ $P = 0.0059$ $CV = 13.54$
۱	$y = 0.0003x + 0.4043$ اگر $x \leq 41.69$ $y = 0.0133x + 0.4168$ اگر $x > 41.69$ $R^2 = 0.957$ $P = 0.0007$ $CV = 12.92$	$y = -0.075x + 25.74$ $R^2 = 0.875$ $P = 0.0061$ $CV = 7.09$

۴-۱-۱۲- اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات بیوشیمیایی خرفه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی مرحله اول مقدماتی آزمایش نشان داد که اثر ساده نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوای مالون دی آلدئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود. کادمیوم نیز بر فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوای پروتئین، مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن در سطح یک درصد اثر معنی‌داری گذاشت. بر همکنش تیمارها بر فعالیت آنزیم سوپرکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز در سطح یک درصد و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و محتوای پرولین در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۴-۶).

جدول ۴-۶- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفات بیوشیمیایی خرفه

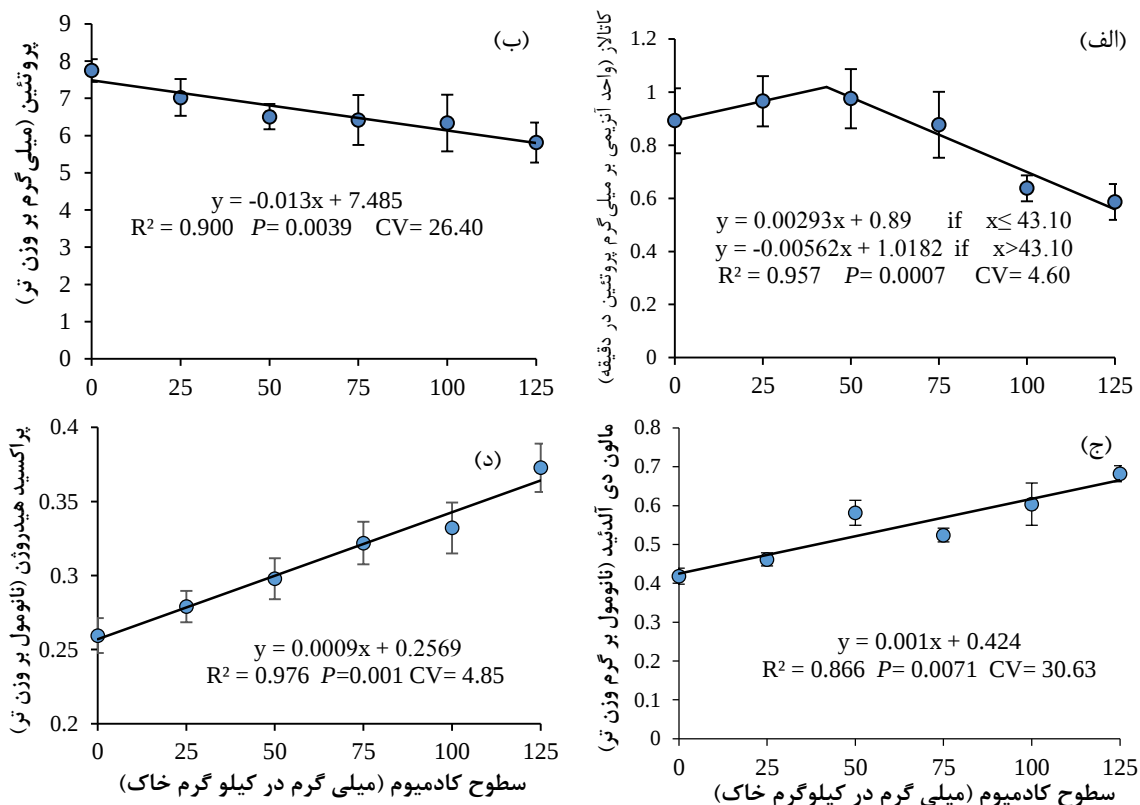
منابع تغییر	درجه آزادی	سوپراکسید دیسموتاز	آنزیم‌های آنتی اکسیدانی			پروتئین	پرولین	مالون دی آلدئید	پراکسید هیدروژن
			کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز				
نانوذرات آهن (A)	۴	۰/۳۵۳**	۰/۲۴۲**	۱/۱۴*	۱۶۴۱۰/۹**	۱/۷۸ ^{NS}	۰/۰۰۸**	۰/۰۲۳**	۰/۰۰۱۷ ^{NS}
کادمیوم (B)	۵	۱/۰۶**	۰/۴۲۴**	۹/۳۷**	۱۲۳۵۰/۹**	۶/۶۶**	۰/۰۳۴**	۰/۱۴۱**	۰/۰۳۶۲**
A × B	۲۰	۰/۱۹۸**	۰/۰۴۷ ^{NS}	۱/۱۳*	۶۷۵۱/۵**	۰/۷۵۷ ^{NS}	۰/۰۰۱۴*	۰/۰۰۳ ^{NS}	۰/۰۰۰۴ ^{NS}
خطای آزمایشی	۶۰	۰/۰۲۳	۰/۰۳۵	۰/۴۳۵	۲۳۵۰/۱	۱/۰۵	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۲۹	۰/۰۰۰۹
ضریب تغییرات (درصد)		۱۵/۳۵	۲۲/۹۱	۳۱/۶۳	۲۷/۵۰	۱۵/۴۴	۱۳/۶۴	۱۰/۰۰۸	۹/۹۱

^{NS} و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۱-۱۳- روند پاسخ صفات بیوشیمیایی خرفه به غلظت کادمیوم خاک

طبق آنالیز رگرسیون صفات بیوشیمیایی، روند پاسخ کاتالاز به افزایش غلظت کادمیوم خاک به صورت دوتکه‌ای بود (با ضریب تبیین ۰/۹۵)، به طوری که با افزایش سطح کادمیوم خاک فعالیت کاتالاز ابتدا تا سطح حدوداً ۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش (با شیب ۰/۰۰۲۹ واحد) و سپس کاهش (با شیب ۰/۰۰۵۶ واحد) یافت (شکل ۴-۱۱-الف). که نشان‌دهنده‌ی کارایی سیستم آنتی اکسیدانی جهت محافظت از گیاه تا سطح ۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم می‌باشد، اما با افزایش غلظت کادمیوم از این سطح فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت که نشان دهنده‌ی ناکارامدی این آنزیم در غلظت‌های بالای کادمیوم بود. کاهش فعالیت کاتالاز همراه با افزایش غلظت کادمیوم در برخی گیاهان به علت کاهش در میزان پروتئین‌های گیاه در اثر سمیت این فلز و تنش اکسیداتیو گزارش شده است، همچنین کاتالاز در اثر پروتئازهای موجود در پراکسی زوم‌ها می‌تواند کاهش یابد (نورانی آزاد و کفیل‌زاده، ۱۳۹۰). افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه گندم توسط کرامت و همکاران (۱۳۹۳) و کاهش فعالیت این آنزیم در آفتابگردان توسط گالرکو و همکاران (۱۹۹۶) تحت تنش کادمیوم گزارش شده است. با افزایش کادمیوم خاک میزان پروتئین محلول به صورت خطی (با شیب ۰/۰۱۳ واحد) و به میزان ۲۵ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۴-۱۱-ب). گیاه در جهت مقابله با تنش فلزات سنگین شروع به سنتز پروتئین‌های دفاعی کرده و متابولیت‌ها و آنزیم‌های موجود در ساختار پروتئین‌ها را درگیر می‌سازد. کادمیوم تمایل زیادی به کمپلکس شدن با لیگاندهای نیتروژن و پروتئین‌های گوگردی دارد و به همین دلیل با تشکیل پیوند و اتصال به گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌ها موجب مهار و اختلال در ساختار آن‌ها و کنترل احیایی سلول می‌گردد، همچنین موجب تخریب کانال‌های یونی و نشت یونی می‌شود (میشرا و همکاران، ۲۰۰۹). کاهش میزان پروتئین با افزایش کادمیوم خاک در گزارش‌های متفاوتی از جمله حقیقی و کافی (۱۳۹۰) روی گیاه کاهو و رئیسی زاده و جهانبخش گده کهریز (۱۳۹۵) در گیاه گندم گندم و نورانی آزاد و کفیل زاده (۱۳۹۰) روی گیاه گلرنگ گزارش شده است. کادمیوم به اختلال در متابولیسم نیتروژن از طریق مهار فعالیت آنزیم‌هایی مانند گلوتامین سینتاز، گلوتمات

سینتاز و نیترات ردوکتاز و فرآیند احیاء نیترات سبب کاهش تولید پروتئین شده و رشد را متوقف می‌کند (وانگ و همکاران، ۲۰۰۸). با افزایش غلظت کادمیوم خاک محتوای مالون دی آلدئید نیز به صورت خطی (با ضریب تبیین ۰/۸۶) و به میزان ۳۹ درصد نسبت به سطح شاهد افزایش یافت (شکل ۴-۱۱-ج). روند پاسخ پراکسید هیدروژن به افزایش غلظت کادمیوم به صورت خطی با ضریب تبیین ۰/۹۷ بیان شد به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم خاک میزان پراکسید هیدروژن با شیب ۰/۰۰۰۹ واحد و به مقدار حدود ۳۰ درصد نسبت به سطح صفر کادمیوم افزایش یافت (شکل ۴-۱۱-د). از تبعات مهم افزایش غلظت فلزات سنگین در گیاه تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که موجب افزایش فعالیت رادیکال‌های سوپر اکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می‌شود. رادیکال‌های تولید شده موجب هیدرولیز ماکرومولکول‌هایی مانند DNA، پروتئین، آسیب به غشای سلولی و نشت یونی می‌شود (علی و همکاران، ۲۰۱۵). در تحقیقات بسیاری از جمله کرامت و همکاران (۱۳۹۳) در گیاه گندم و ولیزاده کامران و همکاران (۱۳۹۶) در گیاه اسفناج افزایش تولید پراکسید هیدروژن در طی تنش کادمیوم گزارش شده است. افزایش محتوای مالون دی آلدئید به دلیل افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در محیط ناشی از تنش ایجاد شده می‌باشد که در نهایت موجب آسیب به غشای سلول می‌شود (ایکسائو و همکاران، ۲۰۰۸). در پژوهش‌های بسیاری نشان داده شد که با افزایش کادمیوم میزان مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به گیاه پیروش (مرادی‌پور و همکاران، ۱۳۹۵) گیاه کلزا، یونجه و ماشک (مظفری و بابایی، ۱۳۹۱) اشاره کرد.



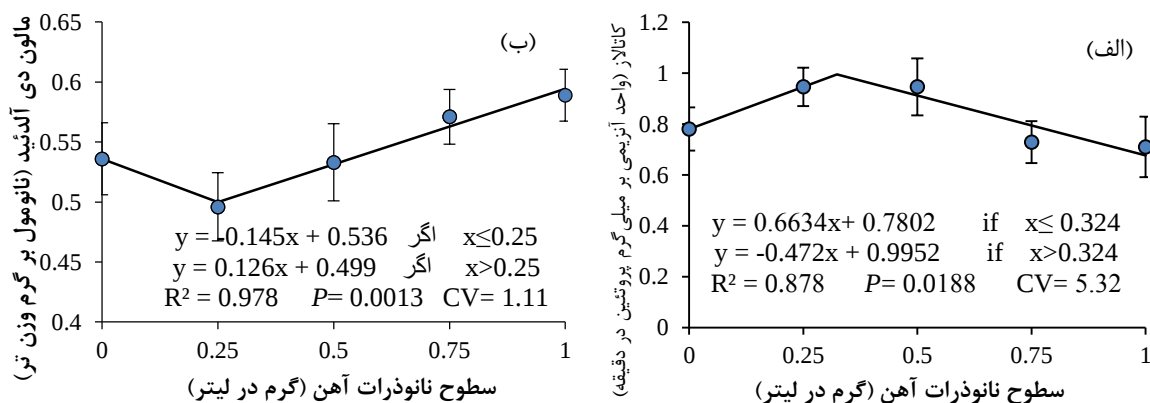
شکل ۴-۱۱- روند پاسخ فعالیت کاتالاز (الف)، محتوای پروتئین (ب)، مالون دی آلدئید (ج) و پراکسید هیدروژن (د) به غلظت کادمیوم خاک

۴-۱-۱۴- روند پاسخ صفات بیوشیمیایی خرفه به سطوح محلول پاشی نانوذرات

آهن

یافته‌ها نشان داد روند فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوای مالون دی آلدئید به سطوح محلول پاشی نانوذرات به صورت دوتکه‌ای (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۷ و ۰/۹۷) بود. افزایش غلظت نانوذرات آهن تا سطح ۰/۳۲ گرم بر لیتر سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز (با شیب ۰/۶۶۳ واحد) گردید اما در غلظت‌های بالاتر از این سطح فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش (با شیب ۰/۴۷۲ واحد) یافت (شکل ۴-۱۲-الف). محتوای مالون دی آلدئید نیز از سطح شاهد تا ۰/۲۵ گرم در لیتر به میزان حدود هفت درصد کاهش در حالی که

در غلظت‌های بالاتر از ۰/۲۵ گرم در لیتر با شیب ۰/۱۲۶ واحد افزایش یافت (شکل ۴-۱۲-ب) که نشان‌دهنده تأثیر مثبت غلظت‌های پایین محلول پاشی نانوذرات آهن با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش مالون دی آلدئید بر تحمل به تنش کادمیوم در گیاه خرفه می‌باشد. کاربرد نانو ذرات آهن نیز با توجه به این که گیاه را از کمبود تغذیه ناشی از تنش حفاظت می‌کند، می‌تواند به سیستم دفاعی گیاه در جهت مقابله با تنش کمک کند. آهن به عنوان یک کاتالیزور در واکنش‌ها عمل نموده و موجب تسریع این واکنش‌ها می‌شود. همچنین، در مطالعات مختلف به نقش آهن در فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز اشاره شده است (روئیز و همکاران، ۲۰۰۰؛ بلاکریشمان، ۲۰۰۰). امیری‌نژاد و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که محلول پاشی آهن باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز در گیاه زیره سبز شد.



شکل ۴-۱۲- روند پاسخ آنزیم کاتالاز (الف) و محتوای مالون دی آلدئید (ب) به سطوح مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن

۴-۱-۱۵- روند پاسخ صفات بیوشیمیایی خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت

غلظت‌های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن

طبق آنالیز رگرسیون صفات بیوشیمیایی مرحله اول مقدماتی، روند پاسخ آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطوح شاهد، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر لیتر محلول پاشی به صورت دو تکه‌ای (به ترتیب با ضریب تبیین

۰/۹۷، ۰/۹۵ و ۰/۹۴) بود به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم خاک به ترتیب تا سطوح حدوداً ۴۲، ۶۴ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش (به ترتیب با شیب ۰/۰۱۷، ۰/۰۱۱ و ۰/۰۱۴ واحد) یافت اما در غلظت‌های بالاتر روند کاهشی نشان داد (به ترتیب با شیب ۰/۰۰۷، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۱۴ واحد). با افزایش غلظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطوح ۰/۷۵ و ۱ گرم بر لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت خطی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۶۰ و ۰/۸۰۰) و به میزان حدود دو و سه برابر نسبت به سطح صفر افزایش یافت (شکل ۴-۱۳-الف، جدول ۴-۷). آنزیم SOD اولین خط دفاعی سلول در برابر تنش اکسیداتیو است. افزایش فعالیت این آنزیم تحت تنش کادمیوم در گیاه گندم (جواد زرین و همکاران، ۱۳۹۵) و ذرت (کوجی و همکاران، ۲۰۰۹) نیز مشاهده شده است. پاسخ فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطوح شاهد و ۰/۵ گرم بر لیتر محلول پاشی به صورت دوتکه‌ایی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۹ و ۰/۹۵) و در سطوح ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم بر لیتر به صورت خطی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۴، ۰/۹۳ و ۰/۹۵) بیان شد. در سطوح شاهد و ۰/۵ گرم بر لیتر محلول پاشی با افزایش سطوح کادمیوم خاک فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ابتدا به ترتیب تا سطوح حدوداً ۸۱ و ۷۴ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش (به ترتیب با شیب ۰/۰۲۶ و ۰/۰۳۲ واحد) و سپس کاهش (به ترتیب با شیب ۰/۰۴۲ و ۰/۰۲۶ واحد) یافت. اما در سطوح ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم بر لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن با افزایش غلظت کادمیوم خاک میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش (به ترتیب با شیب ۰/۰۱۴، ۰/۰۱۸ و ۰/۰۳۰ واحد) یافت (شکل ۴-۱۳-ب، جدول ۴-۷). افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در حضور کادمیوم توسط سایر پژوهشگران در گیاه برنج، جاتروفا و سایر محصولات زراعی نیز گزارش شده است (چائو و همکاران، ۲۰۰۵؛ هسو و کائو، ۲۰۰۷b؛ دوی چینمائی و همکاران، ۲۰۱۴).

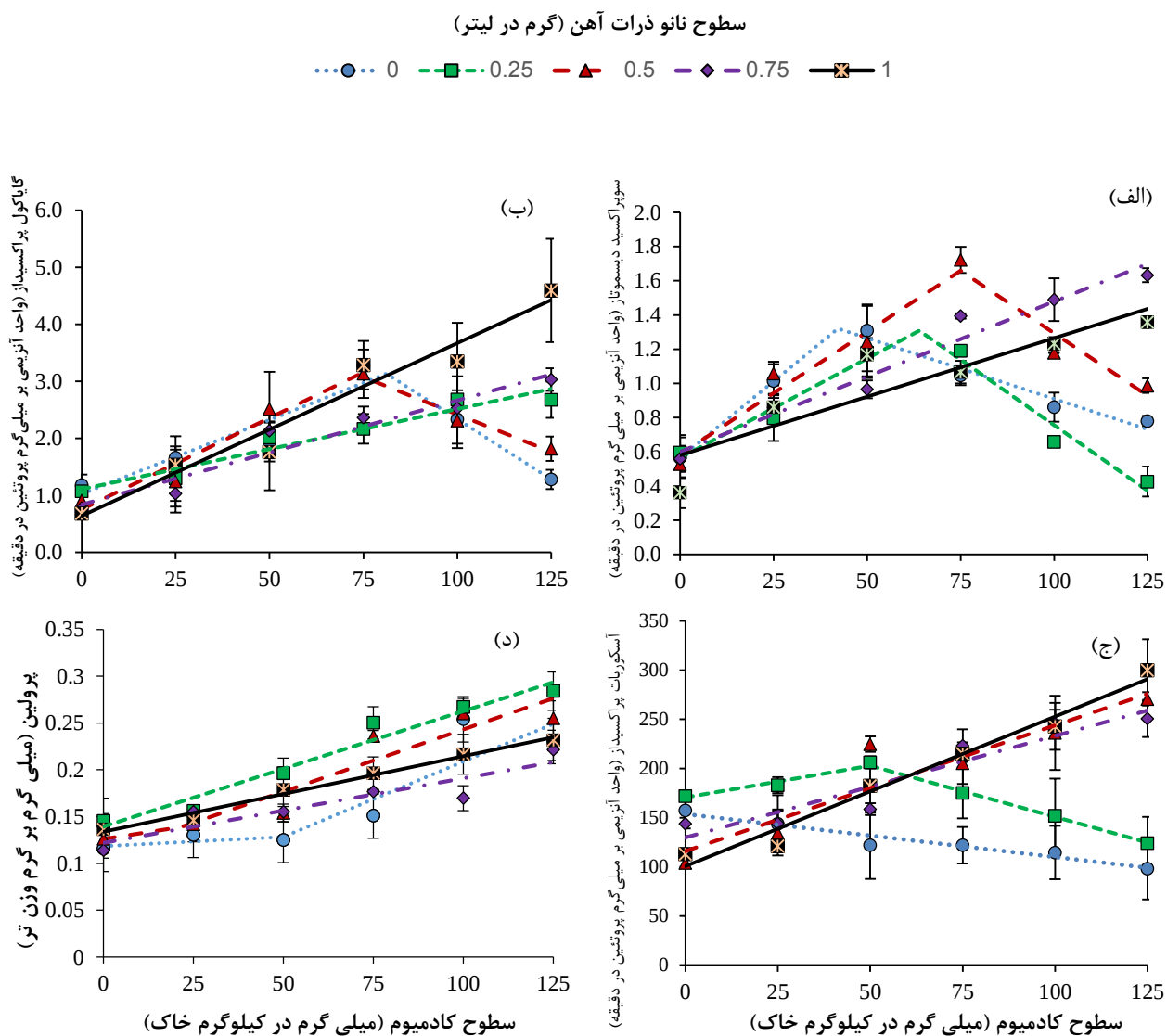
روند پاسخ آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطوح شاهد، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم بر لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت خطی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۴، ۰/۸۷، ۰/۸۹ و ۰/۹۷) و در سطح ۰/۲۵ گرم بر لیتر به صورت دوتکه‌ایی (با ضریب تبیین ۰/۹۹) بود. با افزایش غلظت کادمیوم خاک فعالیت

آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطوح شاهد ۳۸ درصد کاهش و در سطوح ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم بر لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن به ترتیب به میزان حدود ۱۶۱، ۷۴ و ۱۶۵ درصد نسبت به سطح صفر کادمیوم افزایش یافت. اما فعالیت این آنزیم در سطح ۰/۲۵ گرم بر لیتر محلول پاشی ابتدا تا غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم خاک افزایش (با شیب ۰/۶۴۸ واحد) و در غلظت‌های بالاتر کاهش (با شیب ۱/۰۴۳ واحد) یافت (شکل ۴-۱۳-ج، جدول ۴-۷). همچنین افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز تحت تنش کادمیوم در بسیاری از گیاهان از جمله ذرت (پوراکیبر و اشرفی، ۱۳۹۰)، گندم (جوادرزین و همکاران، ۱۳۹۵) و نخود (گلوواکا و همکاران، ۲۰۱۹) توسط پژوهشگران گزارش شده است. پراکسیدازها نقش مهمی در پاسخ به انواع تنش‌ها داشته و مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن می‌باشند. آن‌ها به خانواده‌ی بزرگی از مولتی ژن‌ها تعلق دارند و در طیف گسترده‌ای از فرایندهای فیزیولوژیک مانند تشکیل لیگنین و سوبرین، سنتز فیتوالکسین‌ها و متابولیسم گونه‌های فعال اکسیژنی دخالت می‌کنند (آلماگرو و همکاران، ۲۰۰۹). به نظر می‌رسد پراکسیدازها عموماً به عنوان آنزیم‌های مسمومیت‌زدای گونه‌های اکسیژن فعال عمل می‌کنند زیرا هیدروژن پراکسید ماده‌ایی است که برای دانه‌ی گسترده‌ای از واکنش‌های وابسته به پراکسیداز به عنوان ماده پذیرنده‌ی الکترون عمل می‌کند. در این میان پراکسیدازها در امر شکستن پراکسید هیدروژن از طریق چندین سازوکار نقش دارند (کاونو، ۲۰۰۳).

در مجموع محلول پاشی نانوذرات آهن توانست میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را نسبت به سطح شاهد (عدم محلول-پاشی) افزایش دهد. آهن یکی از عناصر مهم در واکنش‌های اکسایش-کاهش، در گیاهان است. نقش این عنصر در تثبیت نیتروژن و فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (قربانی جاوید و همکاران، ۱۳۸۵). در پژوهشی مصرف ریز مغذی آهن موجب افزایش ۵۱ و ۴۲ درصدی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و کاتالاز شد (عسکری و همکاران، ۱۳۹۳). امیری‌نژاد و همکاران (۱۳۹۴) نیز بیان داشتند که محلول پاشی ترکیبات آهن باعث

افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد که مطابق با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. طبق گزارش فتحی امیرخیز و همکاران (۱۳۹۰ب) آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز حاوی عنصر آهن هستند و فعالیت آن‌ها به شدت به کاربرد آهن واکنش نشان داد.

روند پاسخ پرولین به سطوح کادمیوم در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت خطی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۵، ۰/۸۴ و ۰/۹۸) بیان شد به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم میزان پرولین نسبت به شاهد افزایش یافت که در این میان سطح ۰/۲۵ با ۰/۰۱۲ واحد بیشترین شیب افزایشی را داشت. روند پاسخ پرولین در سطوح عدم محلول پاشی و ۰/۵ گرم در لیتر به صورت دوتکه‌ای به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۴ و ۰/۸۹ نشان داده شد. در تیمار عدم محلول پاشی میزان پرولین تا سطح ۵۰ کادمیوم با شیب کمتری (۰/۰۰۰۲ واحد) و در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ کادمیوم با شیب بیشتری (۰/۰۰۱۶ واحد) افزایش یافت. در غلظت ۰/۵ گرم در لیتر محلول پاشی، میزان پرولین تا سطح ۲۱ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک (با شیب ۰/۰۰۰۵۹ واحد) به میزان ۹/۱۶ درصد به نسبت شاهد افزایش یافت در صورتی که در غلظت‌های بالاتر از ۲۱ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک میزان پرولین با شیب بیشتری (۰/۰۰۱۳۳ واحد) افزایش یافت (شکل ۴-۱۳د، جدول ۴-۷). نتایج حاصل بیانگر افزایش میزان پرولین گیاه در سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن به نسبت سطح شاهد می‌باشد. تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش با کاهش خسارت در غشاء سلولی و پروتئین‌ها در ارتباط می‌باشد. همچنین پرولین به عنوان یک اسمولیت، جاروب کننده‌ی رادیکال‌ها، تثبیت کننده‌ی ماکرومولکول‌ها و یک جزء دیواره‌ی سلولی عمل می‌کند که با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها باعث حفظ تمامیت غشاء می‌گردد (حیات و همکاران، ۲۰۱۲). در آزمایش کوناته و همکاران (۲۰۱۷) نیز مشخص گردید که افزودن نانوذرات آهن، تجمع کادمیوم، مهار رشد ریشه و تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های هر دو گیاه خیار و گندم را به طور قابل توجهی کاهش داد. از دلایل آن می‌توان به فعال سازی سازوکارهای آنتی اکسیدانی با افزودن نانوذرات آهن و در نتیجه ایفای نقش محافظتی در برابر تنش اکسیداتیو اشاره نمود.



شکل ۴-۱۳- روند پاسخ آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (الف)، گایاکول پراکسیداز (ب)، آسکوربات پراکسیداز (ج) و پرولین (د) گیاه خرفه به سطوح کادمیوم خاک تحت غلظت‌های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن

جدول ۷-۴- معادله مناسب توصیف کننده رابطه تیمارهای نانوذرات آهن بر پارامترهای

بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطوح مختلف کادمیوم

غلظت نانوذرات آهن	سوپراکسید دیسموتاز	گایاکول پراکسیداز
۰	$y = 0.0179x + 0.5656$ اگر $x \leq 42.16$ $y = -0.00711x + 1.3203$ اگر $x > 42.16$ $R^2 = 0.974$ $P = 0.0002$ $CV = 4.81$	$y = 0.0260x + 1.025$ اگر $x \leq 81.13$ $y = -0.0422x + 3.1344$ اگر $x > 81.13$ $R^2 = 0.890$ $P = 0.0047$ $CV = 14.07$
۰/۲۵	$y = 0.0116x + 0.565$ اگر $x \leq 63.93$ $y = -0.0153x + 1.307$ اگر $x > 63.93$ $R^2 = 0.959$ $P = 0.0006$ $CV = 8.63$	$y = 0.014x + 1.108$ $R^2 = 0.942$ $P = 0.0013$ $CV = 20.03$
۰/۵	$y = 0.0143x + 0.5856$ اگر $x \leq 75$ $y = -0.0146x + 1.658$ اگر $x > 75$ $R^2 = 0.946$ $P = 0.0011$ $CV = 8.71$	$y = 0.0321x + 0.7545$ اگر $x \leq 73.57$ $y = -0.0263x + 3.1161$ اگر $x > 73.57$ $R^2 = 0.953$ $P = 0.0008$ $CV = 9.85$
۰/۷۵	$y = 0.008x + 0.600$ $R^2 = 0.964$ $P = 0.0005$ $CV = 15.86$	$y = 0.018x + 0.837$ $R^2 = 0.930$ $P = 0.0019$ $CV = 22.11$
۱	$y = 0.006x + 0.579$ $R^2 = 0.800$ $P = 0.0161$ $CV = 37.39$	$y = 0.030x + 0.641$ $R^2 = 0.957$ $P = 0.0007$ $CV = 17.25$

ادامه جدول ۷-۴

غلظت نانوذرات آهن	آسکوربات پراکسیداز	پرویلین
۰	$y = -0.438x + 153.7$ $R^2 = 0.941$ $P = 0.0013$ $CV = 20.26$	$y = 0.0002x + 0.1183$ اگر $x \leq 50$ $y = 0.00161x + 0.1283$ اگر $x > 50$ $R^2 = 0.844$ $P = 0.0096$ $CV = 14.19$
۰/۲۵	$y = 0.648x + 170.5$ اگر $x \leq 50$ $y = -1.043x + 202.92$ اگر $x > 50$ $R^2 = 0.992$ $P < 0.0001$ $CV = 1.61$	$y = 0.0012x + 0.139$ $R^2 = 0.959$ $P = 0.0006$ $CV = 6.09$
۰/۵	$y = 1.281x + 115.8$ $R^2 = 0.879$ $P = 0.0057$ $CV = 29.03$	$y = 0.00059x + 0.1261$ اگر $x \leq 21.54$ $y = 0.00133x + 0.1388$ اگر $x > 21.54$ $R^2 = 0.897$ $P = 0.0041$ $CV = 10.66$
۰/۷۵	$y = 1.033x + 129.8$ $R^2 = 0.898$ $P = 0.004$ $CV = 26.71$	$y = 0.0007x + 0.122$ $R^2 = 0.844$ $P = 0.0096$ $CV = 9.37$
۱	$y = 1.522x + 100.7$ $R^2 = 0.974$ $P = 0.0003$ $CV = 13.47$	$y = 0.0008x + 0.133$ $R^2 = 0.984$ $P = 0.000$ $CV = 2.86$

۴-۲- نتایج مرحله دوم مقدماتی

۴-۲-۱- شناسایی مورفولوژیکی قارچ‌های اندوفیت جداسازی شده

نتایج حاصل از بررسی مورفولوژیکی قارچ‌ها نشان داد، جدایه‌های خالص شده از ریشه گیاه علف چشمه از جنس‌های *Trichoderma*، *Plectosphaerella* و *Alternaria*، گیاه اناریجه از جنس‌های *Trichoderma*، *Stemphylium* و *Chaetomium*، گیاه زولنگ از جنس‌های *Chaetomium* و *Alternaria*، گیاه لوئی از جنس *Bjerkandera* و گیاه درمنه دشتی از جنس *Alternaria* و *Cladorrhinum* بودند.

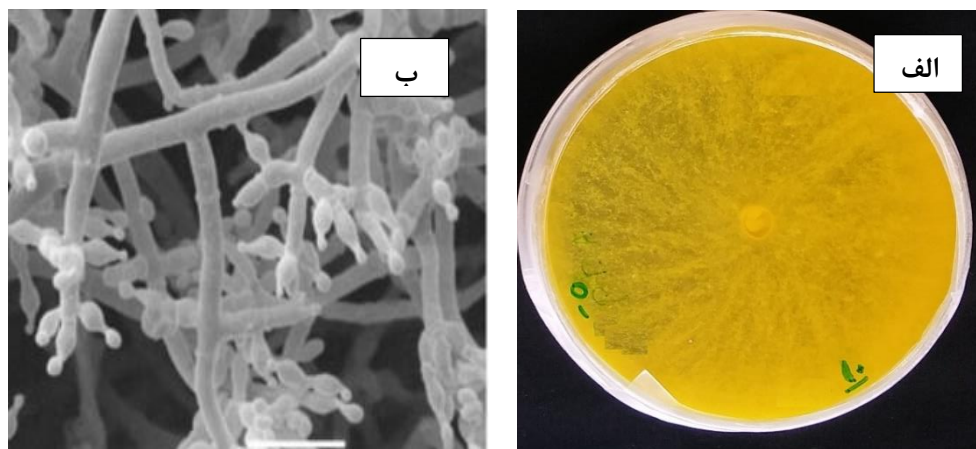
۴-۲-۱-۱- *Trichoderma*

این جنس به شاخه Ascomycota، زیرشاخه Pezizomycotina، رده Sordariomycetes، راسته‌ی Hypocreales، خانواده Hypocreaceae و جنس *Trichoderma* Pers. تعلق دارد (هیبت و همکاران، ۲۰۰۷). گیلمن و آبوت براساس ریخت‌شناسی کنیدیوم‌ها، نحوه آرایش فیالیدها و مشخصات ماکروسکوپی، کلیدی برای این جنس ارائه کردند که با وجود کارایی ضعیف تا سال ۱۹۳۹ مورد استفاده قرار می‌گرفت (بینیر، ۱۹۰۶). Bissett طبقه بندی جنس تریکودرما را به طور دقیق مورد بررسی قرار داده و آن را به پنج بخش *Trichoderma*، *Longibrachiatum*، *Saturnisporum*، *Pachybasium*، *Hypocreanum* تقسیم نمود (بیست، ۱۹۸۴). در دو دهه اخیر مطالعات مولکولی زیادی روی تاکسونومی گونه‌های تریکودرما صورت گرفته است، که اغلب آن‌ها ضمن این که تا حدود زیادی طبقه بندی بیست را تأیید کرده‌اند، گونه‌های جدیدی را معرفی و به گونه‌های قبلی اضافه نمودند.

۴-۲-۱-۱-۱- *Trichoderma longibrachiatum*

پرگنه قارچ تریکودرما دارای رشد نسبتاً سریع روی محیط‌های کشت آگاردار می‌باشد. رنگ پرگنه بسته به رنگ هاگ‌ها متغیر از بی‌رنگ تا سبز و سبز تیره، سبز مایل به زرد بودند. کنیدیوفورها درختچه‌ای و

دارای انشعابات فراوان بودند. فیالیدها فلاسک مانند و کنیدیومها تک حجره‌ای، سبز متمایل به زرد تا سبز تیره یا بی‌رنگ و دیواره آن‌ها صاف یا زبر هستند (ارشاد، ۱۳۹۷). پرگنه قارچ *T. longibrachiatum* دارای کنیدیوم‌زایی به شکل جوش‌های پراکنده و به رنگ سبز مایل به زرد است. کنیدیوفورها دارای انشعابات چندتایی و نامنظم (دو یا سه عدد) می‌باشد. فیالیدها استوانه‌ای تا کوزه‌ای و اندازه آن‌ها ۳/۵-۲×۱۱-۵ میکرومتر و کنیدیومها تخم‌مرغی تا بیضی و اندازه آن ۳/۵-۲×۶-۳ میکرومتر (شکل ۴-۱۴) هستند (عراقی، ۱۳۹۰).



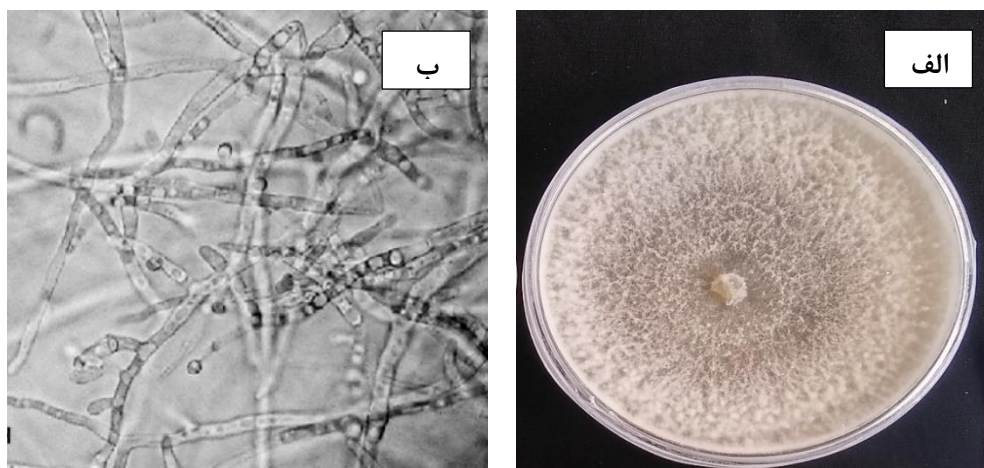
شکل ۴-۱۴- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (چوی و همکاران، ۲۰۰۳) قارچ *T. longibrachiatum*

Trichoderma atroviride - ۲-۱-۱-۲-۴

در این گونه پرگنه‌ها قارچ سریع‌الرشد است (۶-۸/۵ cm). کنیدیوم‌زایی در سطح محیط پراکنده بوده و به مرور زمان به صورت دانه دانه در محیط ظهور می‌یابد. محل‌های تولید کنیدیوم با افزایش سن پرگنه به رنگ

سبز تیره تغییر می‌کنند. پشت پرگنه سفید تا به رنگ زرد است. رایحه نارگیل از پرگنه‌ها به مشام می‌رسد. کنیدیوفورها معمولاً باریک و خمیده‌اند. انشعابات اولیه کنیدیوفورها با فواصل منظمی ایجاد شده و معمولاً به صورت جفت یا دسته‌های سه تایی قرار دارند. آن‌ها غالباً کوتاه بوده و انشعابات ثانویه

زیادی ندارند. فیالیدها منفرد یا به صورت دسته‌های فراهم ۲-۴ تایی، کم و بیش تنگی شکل بوده و اغلب خمیده و به ابعاد ۵/۸-۱۲/۵×۲/۵-۳ میکرومتر می‌باشند. کنیدیوم‌ها سبز تیره، صاف، تقریباً کروی و اندازه آن‌ها ۲/۲-۳/۵ × ۲/۵-۴ میکرومتر است. کلامیدوسپورها به فراوانی تشکیل شده، انتهایی یا میانی و به اشکال کروی تا گلابی شکل (شکل ۴-۱۵) هستند (نعیمی و همکاران، ۱۳۸۸).



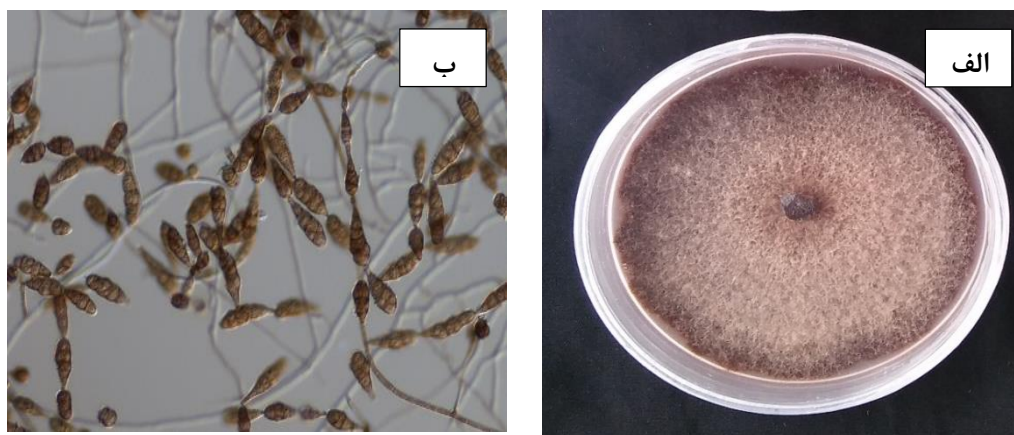
شکل ۴-۱۵- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (جاکوبیکوا و همکاران، ۲۰۰۶) قارچ *T. atroviride*

Alternaria - ۲-۱-۲-۴

جنس *Alternaria* به شاخه Ascomycota، رده Dothideomycetes، راسته Pleosporales و خانواده Pleosporaceae تعلق دارد (کیرک و همکاران، ۲۰۱۳). ویژگی اصلی جنس شامل تولید زنجیری از کنیدی‌های تیره رنگ، با بندهای طولی و عرضی و داشتن نوک یا یاخته‌های انتهایی نوک تیز در کنیدی است. همچنین تعدادی از آن‌ها قابلیت تولید مایکوتوکسین را دارند (روبرتز و همکاران، ۲۰۱۲). سیمونز در سال ۱۹۹۹ روی صفات ریخت‌شناسی کنیدی‌ها و الگوی تشکیل زنجیره تأکید کرده و اهمیت اساسی آن‌ها را در شناسایی و طبقه‌بندی گونه‌های *Alternaria* عنوان کرده است.

Alternaria alternata - ۱-۲-۱-۲-۴

پرگنه دارای هیف هوایی، سرعت رشد زیاد و رنگ قهوه‌ای تا زیتونی تیره در سطح محیط کشت می‌باشد. هر شاخه یا هیف هوایی، زنجیره ساده‌ای از یک تا ده اسپور و یا یک مجموعه کوچک از شاخه‌ها ۲۰-۱۵ کنیدیوم را تشکیل می‌دهد. کنیدیوفورها کوتاه، دیواره‌دار، قهوه‌ای تا سبز، منشعب یا غیر منشعب و به طول ۲/۵-۷/۵ میکرومتر می‌باشند. کنیدیوفور اولیه، ساده با یک مکان اسپورزایی انتهایی یا چند مکان مرتبط با کنیدی‌زایی می‌باشد. ویژگی قابل توجه این قارچ این است که کنیدیوم‌ها در زنجیره‌هایی کوتاه، مستقیم یا در زمان‌های مختلف خمیده و پیچ‌خورده با مکان‌های کنیدی‌زای مختلف، کنیدیوم اولیه معمولاً طویل‌تر از کنیدیوم‌های ثانویه تولید شده در یک زنجیره است. کنیدی‌ها معمولاً تخم مرغی شکل یا مخروطی، کنیدی‌ها در اندازه ۹-۴۰ × ۵-۲۵ میکرومتر با یک تا هفت دیواره عرضی (معمولاً سه عدد) و یا ممکن است وجود نداشته (شکل ۴-۱۶) باشد (سیمونز، ۱۹۹۹).



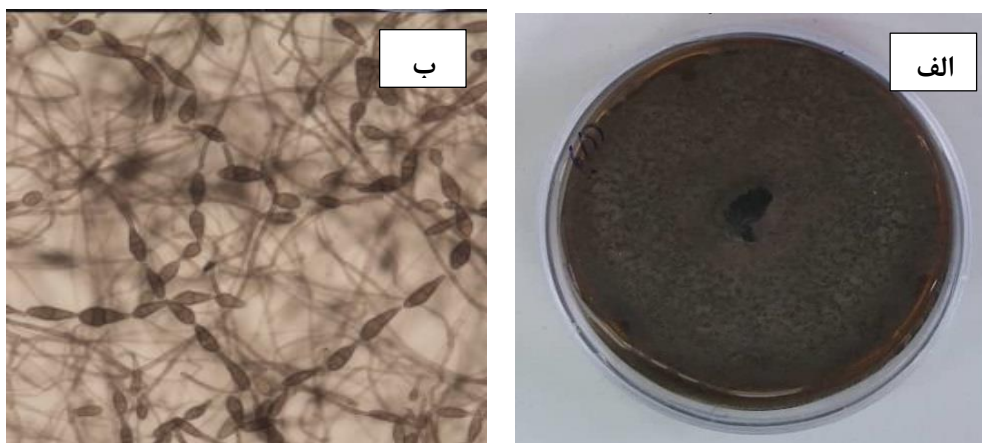
شکل ۴-۱۶- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (سیمونز، ۱۹۹۹)

قارچ *Alternaria alternata*

Alternaria burnsii - ۲-۲-۱-۲-۴

در این گونه رنگ کلونی‌ها از سفید تا زرد نخودی و در حالت معکوس زرد نخودی تا آجری رنگ می‌باشد. در محیط PDA رشد آن بعد از هفت روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ۶۵ تا ۶۷ میلی‌متر می‌رسد. کنیدیوفورها منفرد بوده و حالت جانبی از پهلوی هیف یا به صورت انتهایی، راست یا خمیده، با دیواره صاف

و دارای یک تا ده دیواره، قهوه‌ای روشن، معمولاً با یک ماده رنگین انتهایی در مکان تولید کنیدیوم‌ها، گاهی با مکان تولید کنیدیوم‌های جانبی اضافی می‌باشند. کنیدیوم‌ها در زنجیره‌های کوتاه یا نسبتاً بلند و به‌طور معمول با دو تا هشت کنیدیوم و گاهی اوقات بیشتر می‌باشد. همچنین در بعضی مواقع (غیر معمول) دارای شاخه (شکل ۴-۱۷) می‌باشد (پائول و همکاران، ۲۰۱۵).



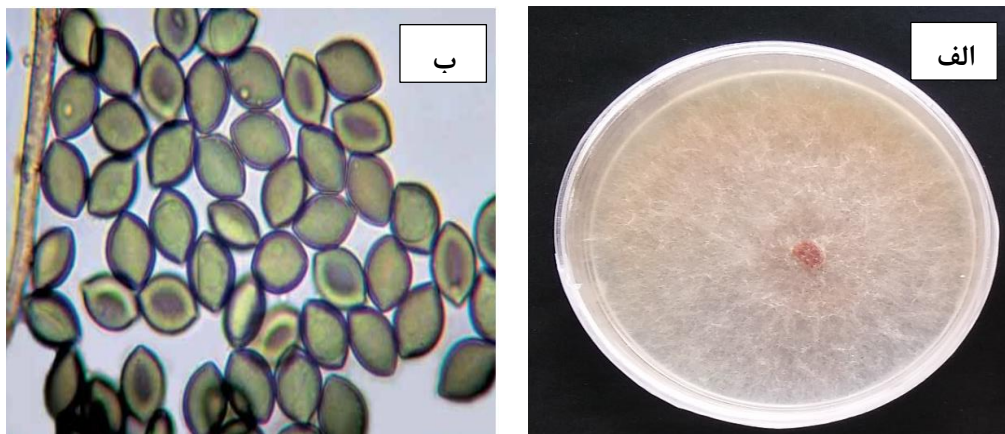
شکل ۴-۱۷- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (پائول و همکاران، ۲۰۱۵) قارچ *Alternaria burnsii*

Chaetomium - ۳-۱-۲-۴

جنس *Chaetomium* برای اولین بار توسط کانز (Kunze) و بر اساس گونه تیپ آن *C. globosum* توصیف شد. این جنس جز آسکومیست‌ها بوده و بر اساس آسکوکارپ‌های سطحی و معمولاً با موهای پوشیده شده مشخص می‌شود. غشای پردیوم متشکل از چندین لایه سودوپارانشیم است. آسک‌ها چماقی یا دوکی شکل‌اند (با دو سری آسکوسپور) یا گاهی اوقات استوانه‌ای (با یک سری آسکوسپور). دیواره آسک نازک، محو شونده و بدون ساختار آپیکالی است. پرافیزها کمیاب، که قبل از بلوغ آسکوکارپ ناپدید می‌شوند. آسکوسپورها قهوه‌ای یا خاکستری مایل به قهوه‌ای، یک سلولی، دارای یک یا گاهی دو منفذ جوانه‌زنی در راس‌های قطبی هستند (میلنر و همکاران، ۱۹۷۷؛ هس و همکاران، ۱۹۶۷).

۴-۲-۱-۳-۱ - *Chaetomium subaffine*

در این گونه سرعت رشد پرگنه در محیط کشت PDA ۷/۵-۹ میلی‌متر در روز می‌باشد. قطر پرگنه یک هفته بعد از کشت به ۵۲ میلی‌متر می‌رسد. رنگ پرگنه زرد مایل به سبز و بدون ترشحات رنگی بود. ریشه‌های قارچ در محیط PDA به رنگ سبز زیتونی دیده می‌شوند. آسکوکارپ‌ها حدوداً یک هفته بعد از کشت ظاهر می‌شوند، دیواره آسکوکارپ به رنگ تیره بوده و همچنین در ناحیه بالایی و اطراف دهانه آسکوکارپ دارای موهای فراوان و متراکمی می‌باشد که این موها غیر منشعب بوده و به صورت مارپیچ می‌باشند این مشخصه از ویژگی‌های این گونه می‌باشد. آسک‌ها به صورت چماقی یا گریزی شکل‌اند و حاوی ۸ آسکوسپورهستند. که آسکوسپورها به صورت دو ردیفه یا به صورت تویی در داخل آسک قرار می‌گیرند اندازه آسک‌ها ۱۴-۱۱×۳۹-۳۳ میکرومتر می‌باشد. آسکوسپورها یک شکل و هم اندازه بوده و به شکل لیمویی دیده می‌شوند. در هنگام بلوغ دارای رنگ قهوه‌ای هستند. دارای یک منفذ جوانه زنی انتهایی هستند. اندازه آسکوسپورها ۶/۵-۵/۸×۵/۵-۶/۵ میکرومتر (شکل ۴-۱۸) می‌باشد (بارون و همکاران، ۱۹۶۱).



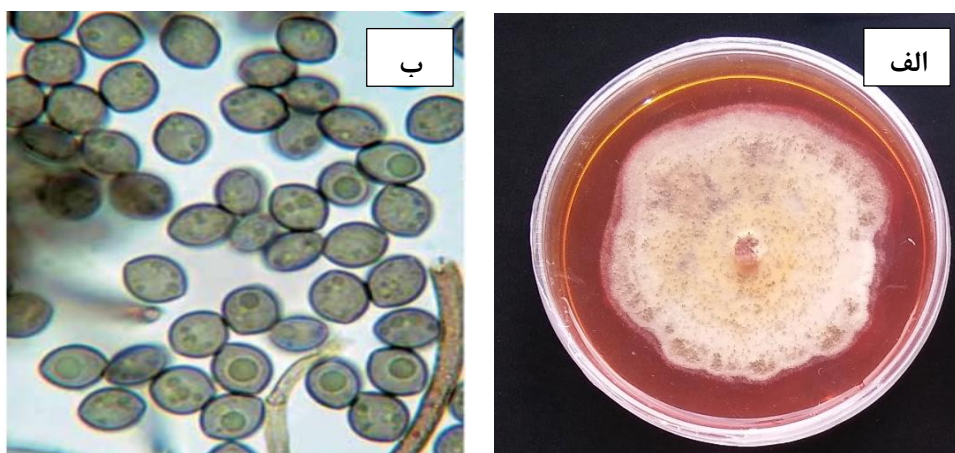
شکل ۴-۱۸- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (دوری، ۲۰۰۸)

قارچ *Chaetomium subaffine*

۴-۲-۱-۳-۲ - *Chaetomium globosum*

در این گونه سرعت رشد پرگنه متوسط، قطر رشدی پرگنه قارچ در سطح محیط PDA بعد از گذشت ۱۵ روز، ۶ سانتی‌متر، هیف‌ها به رنگ روشن با ذرات مشکی تا سبز رنگ که شامل پریتسیم می‌باشد،

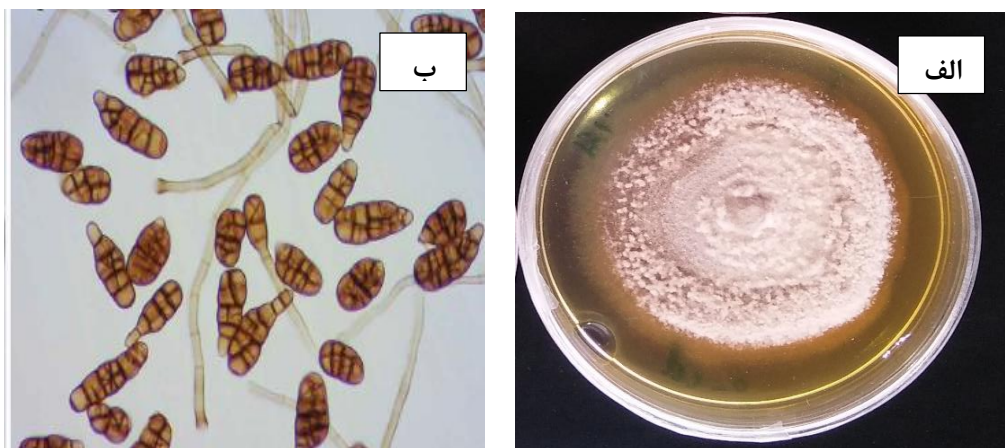
محیط به رنگ‌های کرم، زیتونی مایل به خاکستری تیره، با دواثر متحدالمرکز، در حالت معکوس به رنگ‌های زرد مایل به قهوه‌ای تیره، کرم و سفید مایل به سبز است. پریتسیم زیتونی تیره تا سیاه، تخم مرغی شکل، ۳۵۰-۲۷۰×۲۸۰-۲۳۰ میکرومتر، در قسمت انتهایی دارای موهای زیتونی مایل به قهوه‌ای تیره، موج دار به حالت فر حلقه‌ای با پهنای ۲/۵-۳/۵ میکرومتر در پایه، با موهای جانبی صاف تا کمی خمیده و در نهایت دارای موهای انتهایی، آسک دارای ۸ آسکوسپور لیمویی شکل به رنگ زیتونی مایل به قهوه‌ای به ابعاد ۱۰/۸-۸/۸×۸/۴-۷/۲ میکرومتر (شکل ۴-۱۹) می باشد (دوری، ۲۰۰۸).



شکل ۴-۱۹- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (دوری، ۲۰۰۸)
قارچ *Chaetomium globosum*

۴-۱-۲-۴ *Stemphylium amaranthi*

کلنی روی محیط PDA قهوه‌ای کمرنگ تا خاکستری در وسط متمایل به کرم در حاشیه سفید می‌باشد. اسپورزایی روی هیف‌های هوایی بسیار فراوان است. هیف‌ها قهوه‌ای کمرنگ دارای دیواره‌ی عرضی، منشعب به قطر ۴-۵ میکرومتر می‌باشند. کنیدیوفورها قهوه‌ای روشن، صاف گاهی خمیده تا ۲۰۰ میکرومتر طول دارند. کنیدیوم‌ها قهوه‌ای روشن تا تیره، کروی تا نیمه کروی، استوانه‌ای گاهاً دوکی شکل دارای ۷-۱۱ دیواره‌ی عرضی، ۵-۱ دیواره‌ی طولی و ۴-۱ دیواره‌ی عمودی به ابعاد ۱۸-۱۰×۵۷-۲۱ میکرومتر (شکل ۴-۲۰) می‌باشند (پورصفر و همکاران، ۲۰۱۸).



شکل ۴-۲۰- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (پورصفر و همکاران، ۲۰۱۸) قارچ *Stemphylium amaranthi*

۴-۲-۱-۵- *Plectosphaerella pauciseptata*

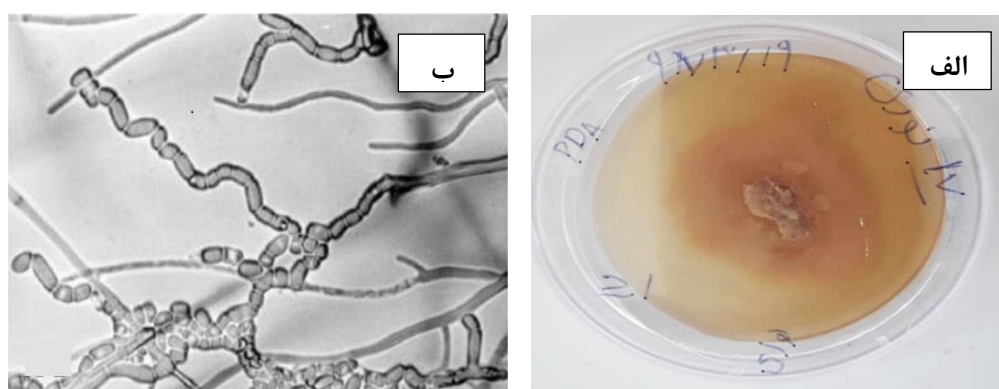
در این گونه قارچی کلنی بر روی محیط PDA به رنگ صورتی یا زرد می باشد. هیفها فشرده، لزج اما گاهی با هیفهای هوایی در مرکز کلنی می باشند، که پس از ۱۴ روز در دمای 23 ± 2 درجه سانتی گراد به قطر هشت سانتی متر می رسند. حداقل دما برای رشد ۶ درجه، دمای بهینه ۲۵ درجه و حداکثر دما ۲۹ درجه سانتی گراد می باشد. میسلیمها شفاف، منشعب، با دیواره عرضی، به شکل مارپیچ بر PDA با فیالیدهای تولید شده بر روی مارپیچها. کنیدیوفورها منفرد، بدون شاخه یا به ندرت با انشعاب نامنظم، شفاف، نازک و صاف هستند. سلولهای کنیدیزا فیالیدیک، گاهی اوقات پلی فیالیدیک، مجزا، شفاف، صاف، منفرد، بدون دیواره عرضی یا به ندرت دارای یک دیواره عرضی، نوک به صورت صاف، در قسمت پایه پهن، در قسمت انتهایی نوک باریک، با ابعاد $1/5-3/2 \times (40-23-11-8)$ میکرومتر می باشند. کنیدیها متراکم در قسمت سر لزج مانند، بیضوی تا تخم مرغی شکل، نوک گرد، شفاف، صاف، با دیواره نازک فاقد وزیکول، اغلب اوقات بدون دیواره عرضی، گاهی اوقات با یک دیواره عرضی (کمتر از ۲۵ درصد)، کنیدیهای بدون دیواره عرضی با ابعاد $2-3 \times (7/5-7-5/5-4/5)$ میکرومتر و کنیدیهای با دیواره عرضی با ابعاد $2-3 \times (9/5-9-7/5-7)$ میکرومتر می باشند. این گونه فاقد کلامیدوسپور (شکل ۴-۲۱) می باشد (کارلوسی و همکاران، ۲۰۱۲).



شکل ۴-۲۱- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (کارلوسی و همکاران، ۲۰۱۲) قارچ *Plectosphaerella pauciseptata*

۴-۲-۱-۶- *Bjerkandera adusta*

در این گونه از قارچ‌ها رشد پرگنه روی محیط کشت PDA سریع، پر کردن پتری هشت سانتی متری در مدت سه روز، ریشه‌های هوایی بسیار کوتاه سفید رنگ، رنگ پرگنه از روبه رو و در حالت وارونه به رنگ سفید دارای آرتروکنیدی‌های مستطیلی شکل، شفاف تا زرد رنگ، به ابعاد ۴-۷ میکرومتر است. پرگنه دارای بویی قوی و خاص شبیه به بوی قارچ دکمه‌ای داشته و مملو از آرتروکنیدی‌های مستطیلی شکل (شکل ۴-۲۲) بود (زابل و مورل، ۲۰۱۲).



شکل ۴-۲۲- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (کورنیلوئیز-کوآلسکا و ریبزیנסکا، ۲۰۱۲) قارچ *Bjerkandera adusta*

۴-۲-۱-۷ - *Cladorrhinum flexuosum*

در این گونه، قطر کلونی‌ها بعد از پنج روز در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد ۶۵-۶۳ میلی‌متر می‌باشد. کلونی‌ها زرد کم‌رنگ، درخشانده، مسطح، با میسیلیوم هوایی اندک، تولید دسته کنیدیال پنبه‌ای در مرکز، به سمت محیط مخملی و رنگ معکوس در مرکز سفید مایل به زرد، در اطراف خاکستری مایل به زرد می‌باشند. هیف‌ها در مرحله رویشی دارای دیواره، شاخه‌دار، بی‌زنگ تا زیتونی کم‌رنگ، دیواره صاف و نازک و عرض ۵-۱/۵ میلی‌متر هستند. میکرواسکلروتیوم‌ها قابل مشاهده نیستند. کنیدیوفورها تقریباً ناهم‌هنگ، دیواره‌دار، به‌وفور شاخه‌دار، شاخه‌ها معمولاً انعطاف‌پذیر و متراکم آشفته، اغلب به سلول‌های استریل با نوک گرد ختم می‌شوند. رنگ آن زیتونی کم‌رنگ تا قهوه‌ای کم‌رنگ، با دیواره‌های سلولی، معمولاً ضخیم‌تر از هیف‌های رویشی، طول نا مشخص، عرض ۵-۲/۵ میلی‌متر و در دسته‌هایی جمع شده‌اند. فیالیدها اغلب در میان محور کنیدیوفور و اما شاخه‌ها به صورت انتهایی یا جانبی، معمولاً انعطاف‌پذیر، سبز روشن تا قهوه‌ای روشن، با یک یا به ندرت دو دهانه کنیدی‌زا، کلارثا آشکار و شفاف، فیالیدهای میانی سیلندری یا نیمه سیلندری، ۴-۲ × ۲۱-۵ میکرومتر می‌باشند. کنیدیوم‌ها تک سلولی، نیمه شفاف تا قهوه‌ای زیتونی کم‌رنگ، دیواره صاف و نازک، اغلب کروی تا گلابی شکل، ۳-۲ × ۴-۲ میکرومتر (شکل ۴-۲۳) هستند (مادرید و همکاران، ۲۰۱۱).



شکل ۴-۲۳- نمای ماکروسکوپی (الف) (عکس از نگارنده) و میکروسکوپی (ب) (مادرید و

همکاران، ۲۰۱۱) قارچ *Cladorrhinum flexuosum*

۴-۲-۲- شناسایی مولکولی

با بررسی مولکولی نیز به طور دقیق جدایه‌های مربوطه شناسایی گردید و نتایج تعیین توالی و بلاست جدایه‌ها و درصد تشابه آن‌ها به قارچ‌های شناخته شده در جدول زیر آورده شده است (جدول ۴-۸).

جدول ۴-۸- نتایج شناسایی مولکولی جدایه‌ها با استفاده از نشانگر ریبوزومی (5.8S rRNA)				
جدایه‌ها	Taxon	Closest relation in NCBI	Evalue	درصد تشابه
SN1	Fungi imperfecti	<i>Trichoderma atroviride</i>	.	۹۸/۱۵
SN2	Fungi imperfecti	<i>Plectosphaerella pauciseptata</i>	.	۹۸/۴۶
SN3	Fungi imperfecti	<i>Alternaria alternata</i>	.	۹۹/۴۷
SN4	Fungi imperfecti	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	.	۹۶/۶۷
SF1	Fungi imperfecti	<i>Trichoderma atroviride</i>	.	۹۹/۶۷
SF2	Fungi imperfecti	<i>Stemphylium amaranthi</i>	.	۹۸/۸۰
SF3	Fungi imperfecti	<i>Chaetomium subaffine</i>	.	۹۹/۶۴
SE1	Fungi imperfecti	<i>Alternaria alternata</i>	3E-150	۸۷/۱۶
SE2	Fungi imperfecti	<i>Chaetomium globosum</i>	.	۹۵/۹۹
ST1	Fungi imperfecti	<i>Bjerkandera adusta</i>	.	۹۷/۳۱
DA1	Fungi imperfecti	<i>Alternaria burnsii</i>	.	۱۰۰
DA2	Fungi imperfecti	<i>Alternaria alternata</i>	.	۹۵/۸۶
DA3	Fungi imperfecti	<i>Cladorrhinum flexuosum</i>	.	۹۸/۰۲

۴-۲-۳- غربالگری و گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس اثر آن بر تحمل

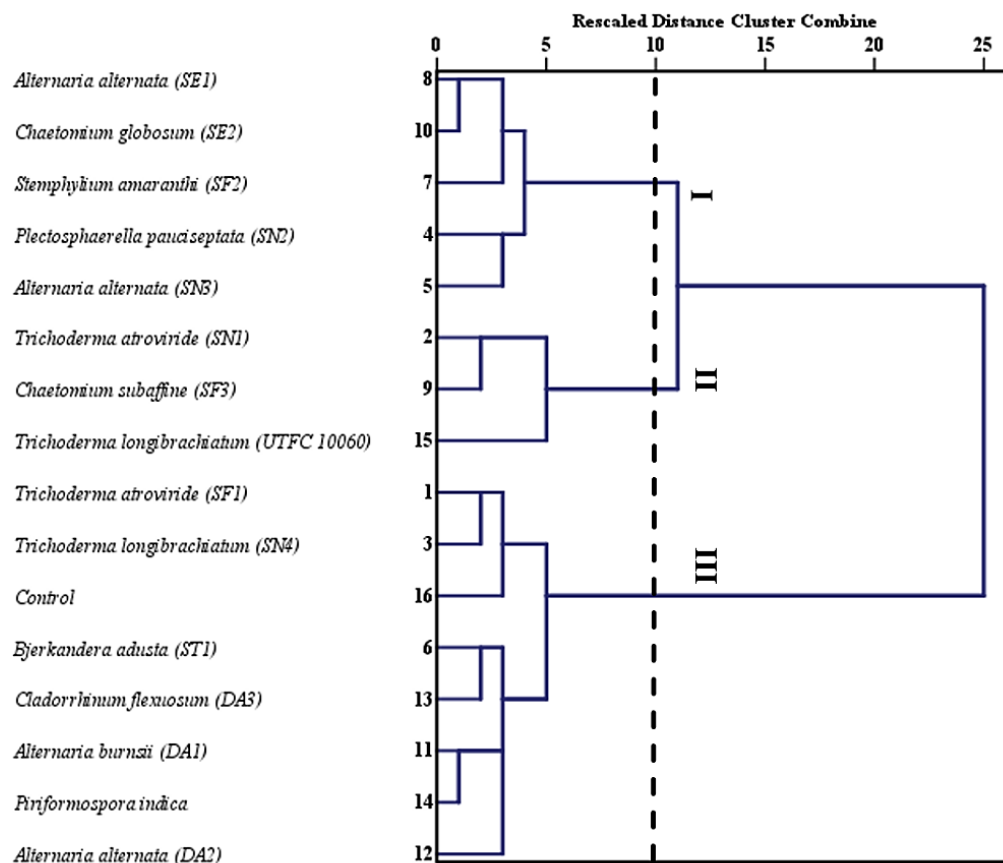
گیاه خرفه به سطوح مختلف عنصر سنگین کادمیوم

در این مرحله تأثیر ۱۳ جدایه قارچ‌های اندوفیت استخراج شده و قارچ‌های شاهد *P. indica* و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) بر تحمل گیاه خرفه به سطوح مختلف کادمیوم (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک) مورد بررسی قرار گرفت و در هر سطح، قارچ‌ها بر اساس صفات مورد بررسی در آزمایش به وسیله تجزیه خوشه‌ای گروه‌بندی شدند. روش گروه‌بندی واریانس مینیمم وارد به دلیل ارائه دندوگرام مناسب جهت برش و نیز مشخص نمودن گروه‌بندی مطلوب در همه سطوح مورد استفاده قرار گرفت.

۴-۲-۳-۱- گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس تأثیر آن بر خرفه در سطح

صفر کادمیوم

نتایج تجزیه خوشه‌ای در سطح صفر کادمیوم نشان داد ضریب کوفنیک برای تجزیه به روش وارد ۰/۶۲۴ بدست آمد. خط برش برای دندوگرام حاصل در نظر گرفته شد و بر این اساس قارچ‌ها به سه گروه تقسیم شدند. لامبدای ویلکس برای تابع اول بسیار معنی‌دار (۰/۰۰۰) و برای تابع دوم معنی‌دار (۰/۰۲۷) (جدول ۴-۹) و صحت گروه‌بندی ۱۰۰ درصد بود. گروه‌های حاصل به ترتیب گروه اول تا سوم به ترتیب شامل پنج، سه و هفت تیمار قارچی بودند. این قارچ‌ها در گروه اول (I) شامل *Alternaria alternata* (SE1)، *Chaetomium globosum* (SE2)، *Plectosphaerella*، *Stemphylium amaranthi* (SF2) و گروه دوم (II) شامل *Trichoderma pauciseptata* (SN2) و *Alternaria alternata* (SN3) و گروه سوم (III) شامل تیمار شاهد (عدم تلقیح قارچی)، *Piriformospora indica*، *Trichoderma atroviride* (SN1)، *Chaetomium subaffine* (SF3) و *Trichoderma longibrachiatum* (UTFC) و گروه سوم (III) شامل تیمار شاهد (عدم تلقیح قارچی)، *Piriformospora indica*، *Trichoderma atroviride* (SF1)، *Trichoderma longibrachiatum* (SN4)، *Bjerkandera adusta* (ST1)، *Alternaria burnsii* (DA1)، *Alternaria alternata* (DA2) و *Cladorrhinum flexuosum* (DA3) می‌باشند (شکل ۴-۲۴).



شکل ۴-۲۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح صفر کادمیوم به روش گروه‌بندی واریانس مینیم وارد (ضریب کوفنیک ۰/۶۲۴)

جدول ۴-۹- آزمون تابع تشخیص برای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح صفر کادمیوم با استفاده از لامبدای ویلکس

آزمون تابع	لامبدای ویلکس	کای اسکوئر	درجه آزادی	معنی‌داری
تابع اول از درون تابع دوم	۰/۰۰	۷۲/۴۶	۲۶	۰/۰۰
تابع دوم	۰/۰۳۷	۲۳/۰۳	۱۲	۰/۰۲۷

۴-۲-۳-۱- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه در سطح صفر

عنصر کادمیوم

مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه بین گروه‌های قارچی ایجاد شده در سطح صفر کادمیوم نشان داد که سه گروه قارچ از نظر تأثیر بر تمامی صفات مورفولوژیک و رویشی معنی‌دار بودند. به طوری که نتایج نشان داد تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه و سطح برگ در گروه دوم (به ترتیب

حدود ۲، ۲، ۳ و ۲۱ درصد) از گروه اول و (به ترتیب حدود ۱۴، ۱۵، ۱۸ و ۴۵ درصد) از گروه سوم بیشتر بود. همچنین در تمامی صفات رویشی شامل وزن تر برگ، ساقه و اندام هوایی و وزن خشک برگ، ساقه و اندام هوایی گروه دوم (به ترتیب حدود ۲۰، ۱۱، ۱۶، ۲۳، ۱۶ و ۱۹ درصد) از گروه اول و (به ترتیب حدود ۴۳، ۴۳، ۴۳، ۳۵، ۳۴ و ۳۵ درصد) گروه سوم بیشتر بود (جدول ۴-۱۰).

جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی گیاه خرفه در سطح صفر کادمیوم

صفات مورفولوژیک					
گروه‌ها	تعداد برگ	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	قطر ساقه (میلی‌متر)	سطح برگ (سانتی‌مترمربع)	
I	۱۹/۳۳ ^b	۲۸/۹۹ ^a	۳/۱۸ ^a	۳۰/۸۷ ^b	
II	۲۰/۰۰ ^a	۲۹/۴۷ ^a	۳/۲۶ ^a	۳۹/۲۷ ^a	
III	۱۷/۱۲ ^c	۲۵/۱۹ ^b	۲/۶۶ ^b	۲۱/۵۶ ^c	
معنی‌داری	**	**	**	**	
صفات رویشی					
گروه‌ها	وزن تر (گرم در بوته)	وزن خشک (گرم در بوته)	برگ	ساقه	اندام هوایی
I	۲/۲۵ ^b	۲/۰۲ ^b	۴/۲۷ ^b	۰/۱۹۶ ^b	۰/۳۵۴ ^b
II	۲/۸۳ ^a	۲/۲۸ ^a	۵/۱۱ ^a	۰/۲۳۴ ^a	۰/۴۴۰ ^a
III	۱/۶۰ ^c	۱/۳۰ ^c	۲/۹۱ ^c	۰/۱۵۳ ^c	۰/۲۸۶ ^c
معنی‌داری	**	**	**	**	**

۴-۲-۳-۱-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خرفه در سطح

صفر عنصر کادمیوم

بین سه گروه قارچ از نظر تمامی صفات فیزیولوژیک مورد بررسی مانند کلروفیل a ، b ، $a+b$ ، a/b ، عدد اسپد، نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب برگ به جز کاروتنوئید تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. به‌طوری‌که کلروفیل a ، b ، $a+b$ ، a/b در گروه دوم به‌ترتیب حدود ۱۵، ۲۵، ۲۳ و ۱۶ درصد از گروه اول و حدود ۲۸، ۱۹، ۲۷ و ۲۸ درصد از گروه سوم بیشتر بود. عدد اسپد و محتوای نسبی آب برگ نیز در گروه دوم حدود ۱۸ و هفت درصد از گروه اول و حدود ۱۸ و ۱۱ درصد از گروه سوم بیشتر بود. در نشت الکترولیت گروه اول و دوم با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی به ترتیب حدود هفت و ۱۹ درصد از گروه سوم کمتر بودند (جدول ۴-۱۱).

در صفات بیوشیمیایی نیز مشاهده شد، گروه‌بندی تمامی صفات بیوشیمیایی مورد بررسی از جمله آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز همچنین میزان پروتئین، پرولین، مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن به جز آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گروه دوم و گروه اول اختلاف معنی‌داری نداشت اما حدود ۱۶ و هفت درصد نسبت به گروه سوم کاهش یافت. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز گروه دوم قارچ‌ها حدود ۱۵ و ۱۹ درصد از گروه اول و حدود ۱۵ و ۲۱ درصد از گروه سوم کمتر بود. محتوای پروتئین در گروه اول و دوم تفاوت معنی‌داری نداشتند ولی میزان پروتئین گروه دوم و اول حدود هفت و پنج درصد از گروه سوم بیشتر بود. این در حالیست که میزان پرولین، مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن گروه دوم به ترتیب حدود ۴۴، ۱۶ و ۲۹ درصد از گروه اول و حدود ۳۴، ۱۵ و ۲۴ درصد از گروه سوم کمتر بود (جدول ۴-۱۱).

جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطح صفر کادمیوم

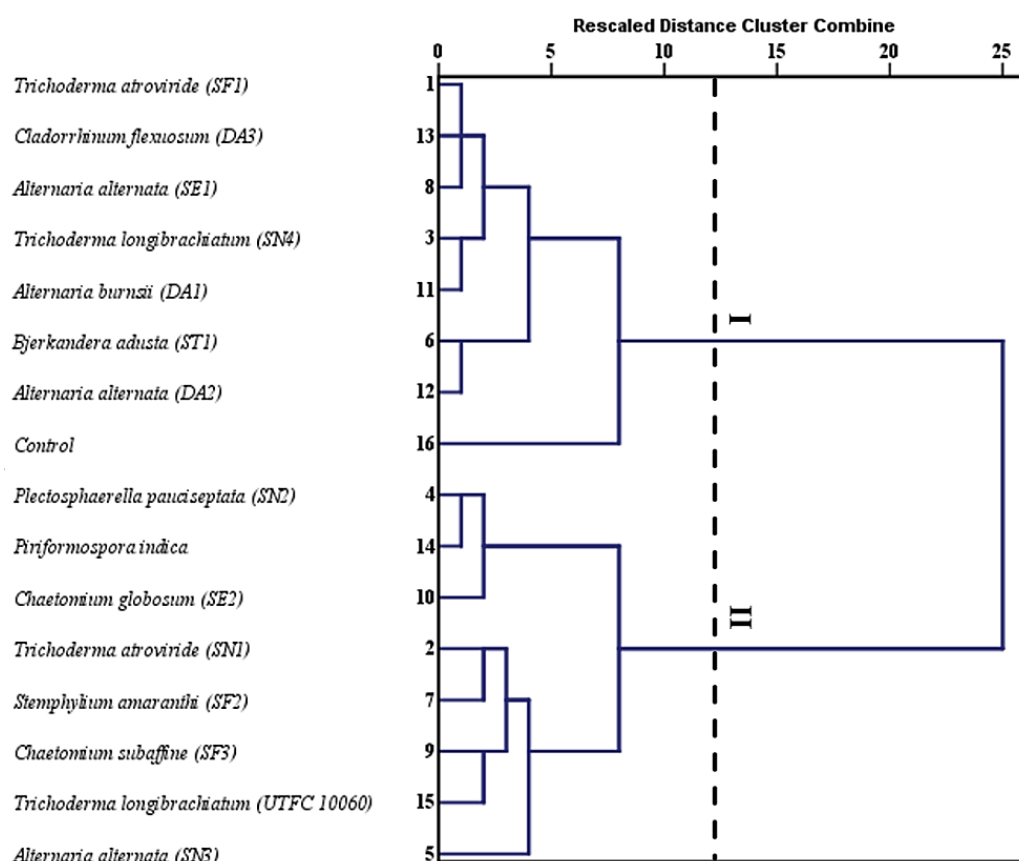
صفات فیزیولوژیک							
گروه‌ها	a	b	a+b	a/b	کاروتنوئید (میکروگرم در میلی‌لیتر)	عدد اسپد	نشت الکترولیت (درصد)
محتوای نسبی آب برگ (درصد)							
I	۲/۲ ^b	۱/۱۶ ^c	۳/۳۶ ^b	۱/۶۸ ^b	۰/۳۲۳ ^a	۲۲/۲۳ ^b	۱۵/۲۵ ^{ab}
II	۲/۵۹ ^a	۱/۵۵ ^a	۴/۱۴ ^a	۱/۹۹ ^a	۰/۳۵۴ ^a	۲۶/۹۷ ^a	۱۳/۲۹ ^b
III	۱/۸۷ ^c	۱/۲۵ ^b	۳/۰۴ ^b	۱/۴۴ ^b	۰/۳۲۸ ^a	۲۲/۰۴ ^b	۱۶/۴۷ ^a
معنی‌داری	***	***	***	***	ns	***	*

صفات بیوشیمیایی							
گروه‌ها	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	پروتئین (میلی‌گرم بر وزن تر)	پرولین (میلی‌گرم بر وزن تر)	مالون دی آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر)
پراکسید هیدروژن							
I	۰/۳۷۸ ^{ab}	۰/۶۴۱ ^a	۱/۰۶ ^a	۳۷/۰۵ ^a	۱۳/۱۶ ^a	۰/۰۴۱ ^a	۰/۳۰۷ ^a
II	۰/۳۴۳ ^b	۰/۵۴۷ ^b	۰/۸۵۷ ^b	۳۶/۴۲ ^a	۱۳/۴۹ ^a	۰/۰۲۳ ^b	۰/۲۵۷ ^b
III	۰/۴۰۸ ^a	۰/۶۴۴ ^a	۱/۰۹ ^a	۳۸/۶۰ ^a	۱۲/۵۱ ^b	۰/۰۳۵ ^a	۰/۳۰۴ ^a
معنی‌داری	*	***	***	ns	***	***	*

۴-۲-۳-۲- گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس تأثیر آن بر خرفه در سطح

۲۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

طبق نتایج تجزیه خوشه‌ای در سطح ۲۵ کادمیوم، ضریب کوفنیک برای تجزیه به روش وارد ۰/۷۱۶ بدست آمد. خط برش برای دندوگرام حاصل در نظر گرفته شد و بر این اساس قارچ‌ها به دو گروه تقسیم شدند. تفاوت بین این دو گروه بر اساس لامبدای ویلکس حاصل از تجزیه تابع تشخیص معنی‌دار (۰/۰۵) و صحت گروه‌بندی ۱۰۰ درصد بود (جدول ۴-۱۲). گروه اول شامل هفت و گروه دوم شامل هشت تیمار قارچی بودند. این قارچ‌ها در گروه اول (I) شامل تیمار شاهد (عدم تلقیح)، *Trichoderma atroviride* (SF1)، *Alternaria alternate* (SE1)، *Bjerkandera adusta* (ST1) و *Alternaria alternate* (DA2) *Alternaria burnsii* (DA1) *longibrachiatum* (SN4) و *Cladorrhinum flexuosum* (DA3) و گروه دوم (II) شامل *Trichoderma longibrachiatum* (UTFC)، *Piriformospora indica* (SN1)، *Trichoderma atroviride* (SN2)، *Stemphylium amaranthi* (SF2)، *Alternaria alternate* (SN3)، *pauciseptata* (SN2) و *Chaetomium subaffine* (SF3) و *Chaetomium globosum* (SE2) می‌باشند (شکل ۴-۲۵).



شکل ۴-۲۵- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به روش گروه‌بندی واریانس مینیم وارد (ضریب کوفنیک ۰/۷۱۶)

جدول ۴-۱۲- آزمون تابع تشخیص برای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۲۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک با استفاده از لامبدای ویلکس

آزمون تابع	لامبدای ویلکس	کای اسکوئر	درجه آزادی	معنی داری
تابع اول	۰/۰۵۲	۲۲/۲۳	۱۳	۰/۰۵۰

۴-۲-۳-۱- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه در سطح ۲۵

میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

نتایج نشان داد بین قارچ‌های اندوفیت در گروه های مختلف در سطح ۲۵ میلی گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک از نظر تعداد برگ، ارتفاع بوته و قطر ساقه تفاوت معنی داری وجود نداشت اما از نظر سطح برگ

و تمامی صفات رویشی تفاوت معنی‌داری داشتند. بر این اساس، میزان این صفات در گروه دوم از گروه اول بیشتر بود؛ به طوری که در بین صفات مورفولوژیک گروه دوم حدود ۳۶ درصد سطح برگ بالاتری داشتند. صفات رویشی نیز شامل وزن تر برگ، ساقه و اندام هوایی در گروه دوم به ترتیب حدود ۲۵، ۱۰ و ۱۹ درصد و میزان وزن خشک برگ، ساقه و اندام هوایی نیز به ترتیب حدود ۱۵، ۲۱ و ۱۹ درصد از گروه اول بیشتر بود (جدول ۴-۱۳).

جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی گیاه خرفه در سطح ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک

صفات مورفولوژیک					
گروه‌ها	تعداد برگ	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	قطر ساقه (میلی‌متر)	سطح برگ (سانتی‌مترمربع)	
I	۱۷/۴۱ ^a	۲۲/۴۱ ^a	۲/۶۰ ^a	۱۸/۶۴ ^b	
II	۱۸/۳۳ ^a	۲۳/۸۱ ^a	۲/۸۲ ^a	۲۹/۰۹ ^a	
معنی‌داری	ns	ns	ns	**	
صفات رویشی					
گروه‌ها	برگ	ساقه	اندام هوایی	وزن تر (گرم در بوته)	وزن خشک (گرم در بوته)
I	۱/۳۸ ^b	۱/۱۷ ^b	۲/۵۵ ^b	۰/۱۰۷ ^b	۰/۱۱۹ ^b
II	۱/۸۴ ^a	۱/۳۰ ^a	۳/۱۴ ^a	۰/۱۲۶ ^a	۰/۱۵۱ ^a
معنی‌داری	*	*	**	**	**

۴-۲-۳-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خرفه در سطح ۲۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

در بین صفات فیزیولوژیک اثر گروه‌بندی قارچی بر میزان کلروفیل a ، b ، $a+b$ ، نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود ولی بر میزان a/b ، کاروتنوئید و عدد اسپد اثر معنی‌داری نداشت. میزان کلروفیل a ، b و $a+b$ در گروه دوم به ترتیب حدود ۱۲، ۱۳ و ۱۳ درصد از گروه اول بیشتر بود. همچنین قارچ‌های گروه دوم سبب کاهش ۱۳ درصدی نشت الکترولیت و افزایش سه درصدی محتوای نسبی آب برگ نسبت به قارچ‌های گروه اول شدند (جدول ۴-۱۴).

اثر گروه‌بندی بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود در حالی که بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز اثر معنی‌داری نداشت. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در گروه اول به ترتیب حدود ۱۶ و ۱۷ درصد از گروه دوم بیشتر بود. محتوای پرولین و پراکسید هیدروژن در گروه‌های قارچی تفاوت معنی‌داری نداشت اما این تفاوت در محتوای پروتئین و مالون دی آلدئید معنی‌دار بود به طوری که میزان پروتئین در گروه دوم حدود نه درصد از گروه اول بیشتر و میزان مالون دی آلدئید گروه دوم حدود هشت درصد از گروه اول کمتر بود (جدول ۴-۱۴).

جدول ۴-۱۴- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطح ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک

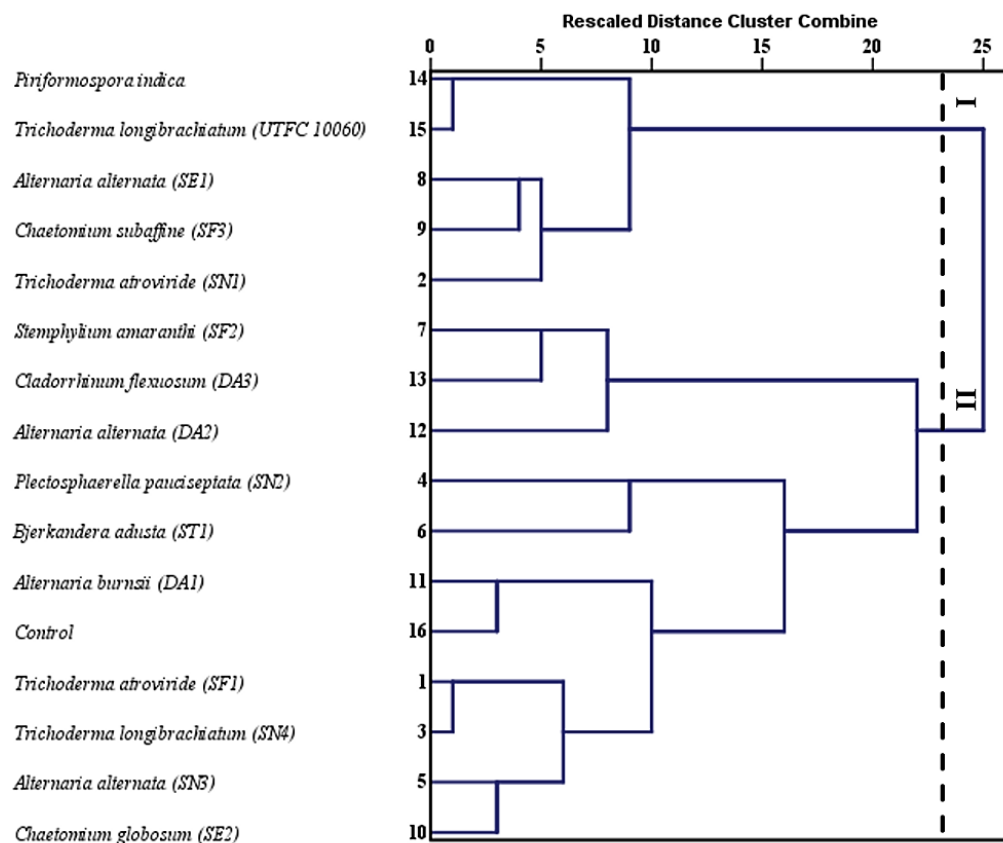
صفات فیزیولوژیک								
گروه‌ها	a	b	a+b	a/b	کاروتنوئید (میکروگرم در میلی‌لیتر)	عدد اسپد	نشت الکترولیت (درصد)	محتوای نسبی آب برگ (درصد)
I	۱/۶۵ ^b	۰/۷۷۵ ^b	۲/۴۲ ^b	۲/۲۰ ^a	۰/۴۹۷ ^a	۲۲/۳۹ ^a	۲۳/۳۱ ^a	۷۲/۲۸ ^b
II	۱/۸۸ ^a	۰/۸۹۰ ^a	۲/۷۷ ^a	۲/۲۲ ^a	۰/۵۱۹ ^a	۲۳/۲۱ ^a	۲۰/۲۱ ^b	۷۴/۳۰ ^a
معنی‌داری	***	**	**	ns	ns	ns	**	*
صفات بیوشیمیایی								
گروه‌ها	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات	پروتئین	پرولین	مالون دی آلدئید	پراکسید هیدروژن
	(واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	(واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	(واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	(واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	(میلی‌گرم بر وزن تر)	(میلی‌گرم بر وزن تر)	(نانومول بر گرم وزن تر)	(نانومول بر گرم وزن تر)
I	۰/۵۰۶ ^a	۰/۹۳۷ ^a	۱/۲۱ ^a	۴۷/۶۳ ^a	۱۰/۷۹ ^b	۰/۰۴۵ ^a	۰/۴۱۵ ^a	۰/۴۱۱ ^a
II	۰/۴۹۲ ^a	۰/۷۸۸ ^b	۱/۰۱ ^b	۵۱/۸۰ ^a	۱۱/۸۰ ^a	۰/۰۴۳ ^a	۰/۳۸۰ ^b	۰/۳۹۶ ^a
معنی‌داری	ns	*	**	ns	*	ns	**	ns

۴-۲-۳- گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه بر اساس تأثیر آن بر خرفه در سطح

۵۰ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

نتایج تجزیه خوشه‌ای در سطح ۵۰ کادمیوم نشان داد ضریب کوفنیک برای تجزیه به روش وارد ۰/۵۰۵ بدست آمد. خط برش برای دندوگرام حاصل در نظر گرفته شد و بر این اساس قارچ‌ها به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل پنج و گروه دوم شامل ده تیمار قارچی بودند. این قارچ‌ها در گروه اول (I) شامل

Alternaria alternate, *Trichoderma longibrachiatum* (UTFC), *Piriformospora indica* (SE1), *Chaetomium subaffine* (SF3) و *Trichoderma atroviride* (SN1) و گروه دوم (II) شامل تیمار شاهد (عدم تلقیح)، *Trichoderma atroviride* (SF1)، *Bjerkandera adusta* (ST1)، *Alternaria alternate* (SN4)، *Alternaria burnsii* (DA1)، *Cladorrhinum flexuosum* (DA3)، (DA2)، *Plectosphaerella pauciseptata* (SN2)، *Chaetomium globosum* و *Stemphylium amaranthi* (SF2)، *Alternaria alternate* (SN3) می‌باشند (شکل ۴-۲۶). تفاوت بین این دو گروه بر اساس لامبدای ویلکس حاصل از تجزیه تابع تشخیص معنی‌دار (۰/۰۵) و صحت گروه‌بندی ۱۰۰ درصد بود (جدول ۴-۱۵).



شکل ۴-۲۶- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به روش گروه‌بندی واریانس مینیم وارد (ضریب کوفنیک ۰/۵۰۵)

جدول ۴-۱۵- آزمون تابع تشخیص برای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۵۰ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک با استفاده از لامبدای ویلکس

آزمون تابع	لامبدای ویلکس	کای اسکوتر	درجه آزادی	معنی داری
تابع اول	۰/۰۰۲	۴۵/۴۵	۱۴	۰/۰۰۰

۴-۲-۳-۱- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه در سطح ۵۰

میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

طبق نتایج تجزیه خوشه‌ای اثر گروه‌بندی بین قارچ‌های اندوفیت در سطح ۵۰ میلی گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک، بر تعداد برگ، ارتفاع بوته و قطر ساقه معنی دار نبود اما بر سطح برگ معنی دار بود به طوری که در گروه اول میزان سطح برگ حدود ۲۸ درصد از گروه دوم بیشتر بود. در بین صفات رویشی، اثر گروه‌بندی بین قارچ‌ها، بر وزن تر برگ و اندام هوایی معنی دار بود ولی بر سایر صفات اثر معنی داری نداشت. افزایش وزن تر برگ و اندام هوایی گروه اول به نسبت گروه دوم قارچ‌ها حدود ۲۲ و ۱۶ درصد بود (جدول ۴-۱۶).

جدول ۴-۱۶- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی گیاه خرفه در سطح ۵۰

میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک

صفات مورفولوژیک				
گروه‌ها	تعداد برگ	ارتفاع بوته (سانتی متر)	قطر ساقه (میلی متر)	سطح برگ (سانتی مترمربع)
I	۱۶/۶۶ ^a	۱۷/۸۷ ^a	۲/۲۲ ^a	۱۸/۸۱ ^a
II	۱۶/۵۷ ^a	۱۷/۶۱ ^a	۲/۰۸ ^a	۱۳/۵۸ ^b
معنی داری	ns	ns	ns	**
صفات رویشی				
گروه‌ها	وزن تر (گرم در بوته)			وزن خشک (گرم در بوته)
	برگ	ساقه	اندام هوایی	برگ
I	۱/۱۱ ^a	۰/۶۴۹ ^a	۱/۷۶ ^a	۰/۰۷۴ ^a
II	۰/۸۶۳ ^b	۰/۶۱۸ ^a	۱/۴۸ ^b	۰/۰۷۲ ^a
معنی داری	*	ns	*	ns

۴-۲-۳-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خرفه در

سطح ۵۰ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

اثر گروه‌بندی قارچ‌ها بر تمامی صفات فیزیولوژیک از جمله کلروفیل a ، b ، $a+b$ ، a/b ، کاروتنوئید، عدد اسپد، نشت الکترولیت به جز محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود. میزان کلروفیل a ، b ، $a+b$ ، کاروتنوئید و عدد اسپد گروه اول با افزایش به ترتیب حدود ۱۲، ۲۲، ۱۵، ۱۱ و هشت درصدی نسبت به گروه دوم همراه بود. در حالیکه میزان کلروفیل a/b و نشت الکترولیت گروه اول هر دو حدود ۱۲ درصد نسبت به گروه دوم کمتر بود (جدول ۴-۱۷).

در این سطح کادمیوم اثر گروه‌بندی بر صفات بیوشیمیایی مانند کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و پرولین معنی‌دار نبود اما بر آنزیم گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، پروتئین، مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن معنی‌دار بود. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گروه دوم حدود ۲۷ درصد از گروه اول بیشتر بود. در حالیکه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گروه اول نسبت به گروه دوم ۱۰ درصد افزایش داشت. با این وجود محتوای مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن گروه دوم قارچ‌ها حدود ۱۳ و هفت درصد نسبت به گروه اول بیشتر بود. نتایج افزایش ۱۱ درصدی محتوای پروتئین گروه اول قارچ‌ها نسبت به گروه دوم را نیز نشان داد (جدول ۴-۱۷).

جدول ۴-۱۷- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطح ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک

صفات فیزیولوژیک								
گروه‌ها	a	b	a+b (میکروگرم در میلی لیتر)	a/b	کاروتنوئید (میکروگرم در میلی لیتر)	عدد اسپد	نشت الکترولیت (درصد)	محتوای نسبی آب برگ (درصد)
I	۱/۶۴ ^a	۰/۶۷۹ ^a	۲/۳۲ ^a	۲/۴۵ ^b	۰/۶۹۱ ^a	۲۳/۰۷ ^a	۲۴/۶۶ ^b	۷۰/۱۶ ^a
II	۱/۴۵ ^b	۰/۵۳۲ ^b	۱/۹۸ ^b	۲/۸۰ ^a	۰/۶۱۶ ^b	۲۰/۸۱ ^b	۲۸/۰۰ ^a	۷۰/۰۱ ^a
معنی داری	**	**	**	*	*	*	*	ns

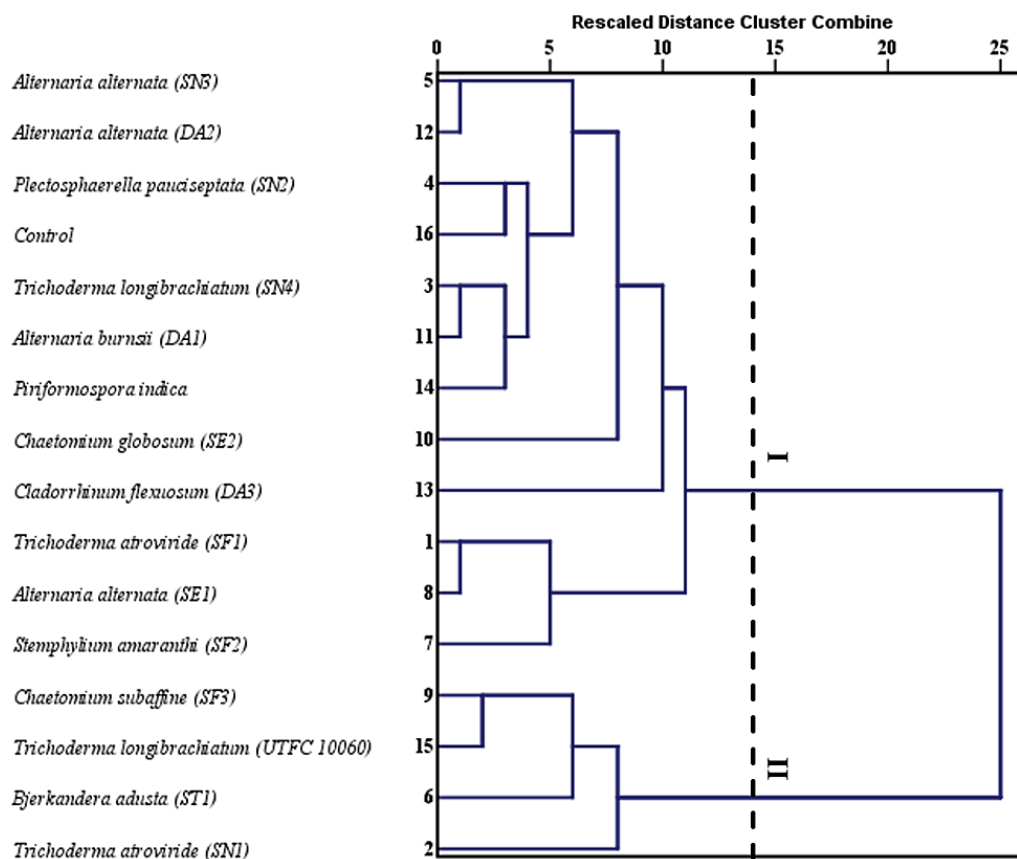
صفات بیوشیمیایی								
گروه‌ها	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	پروتئین	پرولین	مالون دی آلدئید	پراکسیدهدیروژن
	(واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)							
I	۰/۶۲۰ ^a	۱/۰۰۱ ^a	۱/۶۰ ^b	۹۳/۲۲ ^a	۱۰/۰۱ ^a	۰/۰۵۱ ^a	۰/۴۴ ^b	۰/۴۸۶ ^b
II	۰/۷۰۳ ^a	۱/۰۳ ^a	۲/۲۰ ^a	۸۴/۱۷ ^b	۸/۹۲ ^b	۰/۰۵۵ ^a	۰/۵۱۳ ^a	۰/۵۲۳ ^a
معنی داری	ns	ns	*	*	*	*	*	*

۴-۳-۲- گروه بندی قارچ های اندوفیت ریشه بر اساس تأثیر آن بر خرفه در سطح

۷۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

نتایج تجزیه خوشه‌ای در سطح ۷۵ کادمیوم نشان داد ضریب کوفنیک برای تجزیه به روش وارد ۰/۶۹۳ بدست آمد. خط برش برای دندروگرام حاصل در نظر گرفته شد و بر این اساس قارچ‌ها به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل یازده و گروه دوم شامل چهار تیمار قارچی بودند. گروه اول (I) شامل تیمار شاهد (عدم تلقیح)، *Trichoderma atroviride* (SF1)، *Trichoderma longibrachiatum* (SN4)، *Alternaria burnsii* (DA1)، *Alternaria alternate* (DA2)، *Cladorrhinum flexuosum* (DA3)، *Plectosphaerella pauciseptata* (SN2)، *Alternaria alternate* (SN3)، *Stemphylium amaranthi* (SF2)، *Chaetomium globosum* (SE2)، *Piriformospora indica* و *Alternaria alternata* (SE1) و گروه دوم (II) شامل قارچ‌های *Trichoderma longibrachiatum* (UTFC)، *Chaetomium subaffine* (SF3)، *Trichoderma atroviride* (SN1) و *Bjerkandera adusta* (ST1)

می‌باشند (شکل ۴-۲۷). تفاوت بین این دو گروه بر اساس لامبدای ویلکس حاصل از تجزیه تابع تشخیص معنی‌دار (۰/۰۰۱) و صحت گروه‌بندی ۱۰۰ درصد بود (جدول ۴-۱۸).



شکل ۴-۲۷- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به روش گروه‌بندی واریانس مینیم وارد (ضریب کوفنیک ۰/۶۹۳)

جدول ۴-۱۸- آزمون تابع تشخیص برای قارچ‌های اندوفیت ریشه در سطح ۷۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک با استفاده از لامبدای ویلکس

آزمون تابع	لامبدای ویلکس	کای اسکوتر	درجه آزادی	معنی‌داری
تابع اول	۰/۰۰۵	۳۷/۳۳	۱۴	۰/۰۰۱

۴-۲-۳-۱- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی خرفه در سطح ۷۵

میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

طبق نتایج تجزیه خوشه‌ای اثر گروه‌بندی بین قارچ‌های اندوفیت در سطح ۷۵ میلی گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک، بر تعداد برگ، ارتفاع بوته و قطر ساقه با وجود افزایش به ترتیب حدود چهار، هشت و هفت درصدی گروه دوم نسبت به گروه اول معنی‌دار نبود. اثر گروه‌بندی بر سطح برگ معنی‌دار بود به طوری که در گروه دوم میزان سطح برگ حدود ۱۶ درصد از گروه اول بیشتر بود. در بین صفات رویشی، اثر گروه‌بندی بین قارچ‌ها، بر وزن تر و خشک ساقه و وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار بود ولی بر سایر صفات اثر معنی‌داری نداشت. وزن تر و خشک ساقه و وزن خشک اندام هوایی گروه دوم به ترتیب حدود هفت، ۱۵ و ۱۲ درصد نسبت به گروه دوم بیشتر بود (جدول ۴-۱۹).

جدول ۴-۱۹- مقایسه میانگین بین گروهی صفات مورفولوژیک و رویشی گیاه خرفه در سطح ۷۵

میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک

صفات مورفولوژیک					
گروه‌ها	تعداد برگ	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	قطر ساقه (میلی‌متر)	سطح برگ (سانتی‌مترمربع)	
I	۱۴/۳۶ ^a	۱۳/۹۰ ^a	۱/۷۲ ^a	۱۰/۸۷ ^b	
II	۱۵/۰۰ ^a	۱۵/۱۳ ^a	۱/۸۴ ^a	۱۲/۸۷ ^a	
معنی‌داری	ns	ns	ns	**	
صفات رویشی					
گروه‌ها	وزن تر (گرم در بوته)			وزن خشک (گرم در بوته)	
	برگ	ساقه	اندام هوایی	برگ	ساقه
I	۰/۶۰۱ ^a	۰/۳۹۲ ^b	۰/۹۹۴ ^a	۰/۰۴۳ ^a	۰/۰۴۰ ^b
II	۰/۶۳۴ ^a	۰/۴۲۳ ^a	۱/۰۵ ^a	۰/۰۴۷ ^a	۰/۰۴۷ ^a
معنی‌داری	ns	*	ns	ns	**

۴-۲-۳-۲- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خرفه در

سطح ۷۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک

نتایج در این سطح از کادمیوم نشان داد اثر گروه‌بندی قارچ‌ها بر تمامی صفات فیزیولوژیک شامل کلروفیل a ، b ، $a+b$ ، کاروتنوئید، عدد اسپد، نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب برگ به جز نسبت

کلروفیل a/b ، معنی‌دار بود. به‌طور کلی گروه دوم قارچ‌ها در این سطح موجب افزایش به‌ترتیب حدود ۱۳، ۲۲، ۱۵، ۱۸، ۲۹ و شش درصدی کلروفیل a ، b ، $a+b$ ، کاروتنوئید، عدد اسپد و محتوای نسبی آب برگ و کاهش حدود هفت درصدی میزان نشت الکترولیت نسبت به گروه اول گردید (جدول ۴-۲۰).

در صفات بیوشیمیایی نیز مشاهده شد اثر گروه‌بندی قارچ‌ها بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز با افزایش به ترتیب حدود ۱۷، ۱۱ و ۱۵ درصدی گروه اول نسبت به گروه دوم معنی‌دار بود. اما اثر گروه‌بندی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز علی‌رغم افزایش سه درصدی گروه دوم قارچ‌ها نسبت به گروه اول معنی‌دار نبود. در گروه دوم محتوای پروتئین و پرولین حدود ۱۶ و ۱۱ درصد از گروه اول بیشتر بود در حالیکه که میزان مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن گروه دوم نسبت به گروه اول حدود ۱۰ و شش درصد کمتر بود (جدول ۴-۲۰).

جدول ۴-۲۰- مقایسه میانگین بین گروهی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه خرفه در سطح ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک

صفات فیزیولوژیک							
گروه‌ها	کلروفیل			کاروتنوئید (میکروگرم در میلی لیتر)	عدد اسپد	نشت الکترولیت (درصد)	محتوای نسبی آب برگ (درصد)
	a	b	$a+b$				
I	۱/۲۵ ^b	۰/۳۳۲ ^b	۱/۵۸ ^b	۰/۸۴۹ ^b	۱۶/۴۰ ^b	۳۴/۳۹ ^a	۶۶/۱۰ ^b
II	۱/۴۳ ^a	۰/۴۲۶ ^a	۱/۸۶ ^a	۱/۰۳ ^a	۲۳/۰۹ ^a	۳۱/۹۸ ^b	۷۰/۶۰ ^a
معنی‌داری	***	***	***	ns	***	*	**

صفات بیوشیمیایی							
گروه‌ها	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	پروتئین	پرولین	مالون دی آلدئید
	(واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	(واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	(واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	(واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	(میلی گرم بر وزن تر)	(میلی گرم بر وزن تر)	(نانومول بر گرم وزن تر)
I	۱/۰۶ ^a	۱/۲۶ ^a	۲/۹۲ ^a	۱۱۸/۰۶ ^a	۷/۰۴ ^b	۰/۰۶۸ ^b	۰/۶۰۲ ^a
II	۰/۸۷۸ ^b	۱/۱۲ ^b	۲/۴۹ ^b	۱۲۱/۳۵ ^a	۸/۳۵ ^a	۰/۰۷۶ ^a	۰/۵۹۵ ^a
معنی‌داری	*	***	***	ns	***	*	***

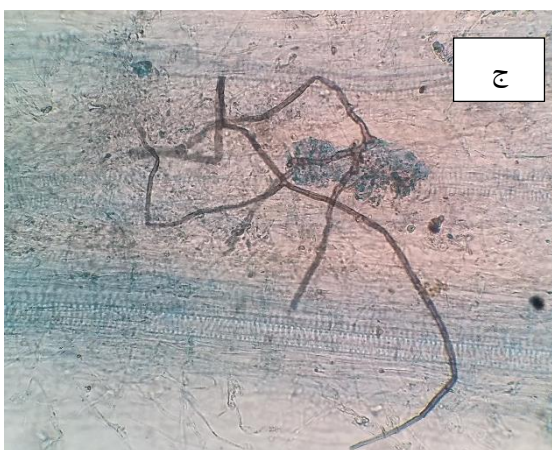
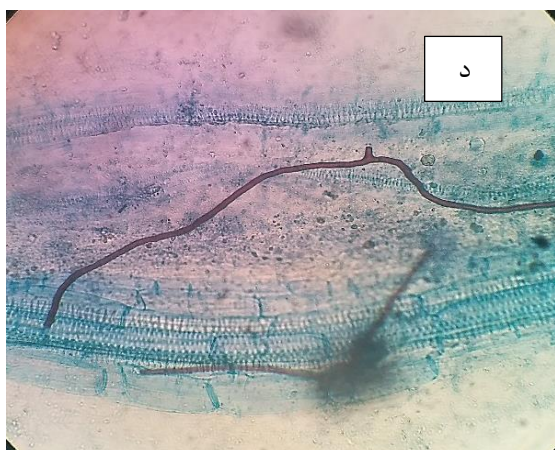
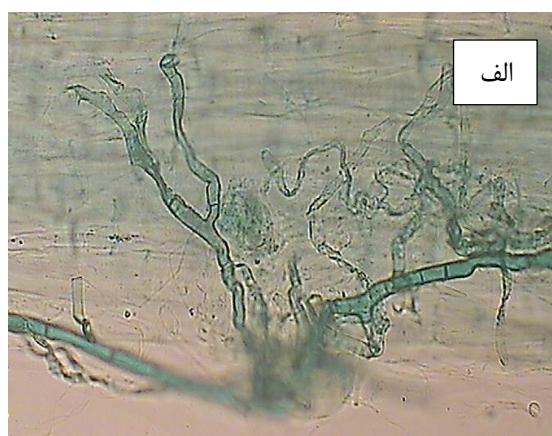
در مجموع نتایج تجزیه کلاستر و گروه‌بندی جدایه‌های قارچ‌های اندوفیت، بر اساس تأثیر آن بر گیاه خرفه در چهار سطح عنصر سنگین کادمیوم نشان داد جدایه‌های قارچی *Chaetomium subaffine* (SF3) و *Trichoderma atroviride* (SN1) در تمام سطوح کادمیوم در بهترین گروه از نظر صفات

مورفولوژیک، رویشی و همچنین صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی قرار داشت. به طوری که در گروه‌های این قارچ‌ها، گیاهان کمترین میزان نشت الکترولیت و بیشترین محتوای نسبی آب برگ را در هر سطح داشتند. در این گروه اکثر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فعالیت کمتری داشتند. از طرفی میزان پروتئین بیشتر و مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن کمتری در این تیمارهای قارچی مشاهده شد. می‌توان گفت این گروه قارچی با کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از اثر تنش عنصر کادمیوم و افزایش آنتی‌اکسیدان‌هایی همچون کاروتنوئید و افزایش محتوای پرولین موجب کاهش اثرات مخرب تنش شد. از طرفی این قارچ‌ها می‌توانند از مسیرهای متابولیک و آنزیمی دیگری (به عنوان مثال آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ریشه‌ی گیاهان)، رشد و نمو هماهنگ این گیاه را در شرایط تنش با عنصر کادمیوم بهبود بخشند.

در این مرحله از آزمایش قارچ‌های *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) و *P. indica* به عنوان قارچ شاهد در نظر گرفته شد. بنابراین برای انتخاب یک قارچ شاهد برای مرحله‌ی تکمیلی آزمایش عملکرد این قارچ‌ها در گروه‌بندی تمامی سطوح کادمیوم مورد بررسی قرار گرفت. در سطح صفر و ۷۵ کادمیوم قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) در گروه بهتری نسبت به قارچ *P. indica* قرار گرفت که نشان‌دهنده‌ی عملکرد بهتر این قارچ در این سطوح از کادمیوم بود. اما این در حالیست که در سطوح ۲۵ و ۵۰ کادمیوم این دو قارچ در گروه مشابه قرار گرفتند. بنابراین در این سطوح به طور جداگانه تعدادی صفات اندازه‌گیری شده جهت مقایسه اثر آن‌ها با تیمار عدم تلقیح بررسی گردید. به طور مثال در سطح ۲۵ کادمیوم تلقیح قارچ‌های پیریفورموسپورا و تریکودرما موجب افزایش حدود ۲۵ و ۲۱ درصدی قطر ساقه، ۴۸ و ۵۶ درصدی وزن خشک اندام هوایی، ۲۸ و ۳۰ درصدی ارتفاع بوته، ۴۶ و ۵۵ درصدی سطح برگ نسبت به تیمار عدم تلقیح شد. در بین صفات فیزیولوژیک محتوای کلروفیل کل ۲۵ و ۲۴ درصد و کاروتنوئید ۱۹ و یک درصد در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های پیریفورموسپورا و تریکودرما نسبت به تیمار عدم تلقیح در این سطح کادمیوم افزایش یافت اما میزان نشت الکترولیت در هر دو سطح قارچ ۲۴ درصد کاهش نشان داد. میزان پروتئین در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های

پیریفورموسپورا ۲۶ درصد افزایش نشان داد که این میزان در قارچ تریکودرما ۴۳ درصد بود. میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نیز در تیمارهای قارچی نسبت به عدم تلقیح کمتر بود که در تیمار تلقیح شده با قارچ تریکودرما میزان این کاهش کمتر بود. این در حالیست که در سطح ۵۰ کادمیوم قارچ پیریفورموسپورا عملکرد بهتری نشان داد. به طوری که در این سطح تلقیح قارچ های پیریفورموسپورا و تریکودرما موجب افزایش حدود ۱۷ و ۱۳ درصدی قطر ساقه، ۴۱ و ۳۱ درصدی وزن خشک اندام هوایی، ۱۵ و ۱۳ درصدی ارتفاع بوته، ۴۵ و ۳۸ درصدی سطح برگ نسبت به تیمار عدم تلقیح شد. به بیان دیگر نسبت به سطح صفر کادمیوم کاهش میزان این صفات در گیاهان تلقیح شده کمتر از گیاهان شاهد (عدم تلقیح) بود. در بین صفات فیزیولوژیک محتوای کلروفیل کل ۳۱ و ۲۷ درصد و کاروتنوئید پنج و ۱۶ درصد در گیاهان تلقیح شده با قارچ های پیریفورموسپورا و تریکودرما نسبت به عدم تلقیح افزایش یافت اما میزان نشت الکترولیت شش و هشت درصد کاهش یافت. در بین صفات بیوشیمیایی نیز میزان پروتئین در گیاهان تلقیح شده با هر دو گونه ی قارچی ۳۰ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح بیشتر بود. در این سطح کادمیوم میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نیز در تیمارهای تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا بیشتر از گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما بود. در مجموع با توجه به نتایج بیان شده و عملکرد بهتر قارچ تریکودرما در سطوح صفر، ۲۵ و ۷۵ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک نسبت به قارچ پیریفورموسپورا، بنابراین این قارچ برای مرحله ی تکمیلی آزمایش به عنوان قارچ شاهد انتخاب گردید.

نتیجه ی رنگ آمیزی ریشه گیاه خرفه در تیمارهای مختلف، همزیستی دو جدایه قارچی *Chaetomium subaffine* (SF3) (شکل ۴-۲۸- الف و ب) و *Trichoderma atroviride* (SN1) (شکل ۴-۲۸- ج و د) را نیز تأیید کرد. بنابراین سه قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC 10060)، *Chaetomium subaffine* (SF3) و *Trichoderma atroviride* (SN1) برای مرحله آزمایش تکمیلی انتخاب شدند.



شکل ۴-۲۸- همزیستی جدایه‌های قارچی *Chaetomium subaffine* (SF3) (میسلیوم (الف) و اسپور (ب)) و *Trichoderma atroviride* (SN1) (ج و د) با ریشه گیاه خرفه (عکس از نگارنده)

۴-۳- نتایج آزمایش تکمیلی

۴-۳-۱- اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر تحمل گیاه خرفه نسبت به

سمیت کادمیوم

۴-۳-۱-۱- اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر صفات مورفولوژیک گیاه خرفه

تحت تنش کادمیوم

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در این مرحله از آزمایش نشان داد که اثر ساده کادمیوم بر تمامی صفات مورفولوژیک مورد بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اثر ساده قارچ بر تعداد برگ و ارتفاع بوته در سطح یک درصد و بر میزان قطر ساقه و سطح برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. اثر ساده نانوذرات آهن بر ارتفاع بوته در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر معنی‌داری بر سایر صفات مورفولوژیک نداشت. بین کادمیوم و قارچ در صفت تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد و سطح برگ در سطح احتمال پنج درصد برهمکنش معنی‌دار بود، اما بین قارچ و نانوذرات آهن و کادمیوم و نانوذرات آهن در تمامی صفات مورفولوژیک مورد بررسی برهمکنش معنی‌داری مشاهده نشد. اثر متقابل سه گانه کادمیوم، قارچ و نانوذرات آهن بر تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴-۲۱).

جدول ۴-۲۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مورفولوژیک خرفه

منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد برگ	تعداد گره	ارتفاع بوته	قطر ساقه	سطح برگ
کادمیوم (A)	۳	۹۴۸/۶۲**	۱۴۷/۱۲**	۳۳۲۷/۸۰**	۵۹/۰۵**	۱۲۲۷۰/۶۹**
قارچ (B)	۳	۵۶/۳۴**	۲/۷۵ ^{ns}	۵۶/۷۱**	۰/۶۴۲*	۱۲۷/۴۴*
نانوذرات آهن (C)	۲	۲۵/۶۹ ^{ns}	۲/۷۹ ^{ns}	۲۶/۳۴**	۰/۱۹۷ ^{ns}	۱۷/۰۰۳ ^{ns}
A×B	۹	۴۵/۸۹**	۱/۷۴ ^{ns}	۷/۵۲ ^{ns}	۰/۲۶۱ ^{ns}	۹۱/۷۱*
A×C	۶	۱۲/۰۳ ^{ns}	۰/۲۸۹ ^{ns}	۲/۹۲ ^{ns}	۰/۲۸۶ ^{ns}	۲۳/۵۳ ^{ns}
B×C	۶	۱۹/۳۴ ^{ns}	۰/۶۹۶ ^{ns}	۸/۲۰ ^{ns}	۰/۲۸۱ ^{ns}	۷۵/۲۱ ^{ns}
A×B×C	۱۸	۲۰/۷۵**	۰/۸۱۷ ^{ns}	۵/۶۰ ^{ns}	۰/۱۴۰ ^{ns}	۶۵/۳۸ ^{ns}
خطای آزمایش	۹۶	۹/۶۵	۱/۱۵	۴/۹۳	۰/۲۳۶	۴۵/۸۱
ضریب تغییرات (درصد)		۱۶/۱۲	۱۴/۵۳	۱۲/۲۰	۱۳/۹۸	۱۷/۱۶

^{ns} و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۳-۱-۱- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر تعداد برگ خرفه تحت

سمیت کادمیوم

بر اساس یافته‌های حاصل از اثرات سه‌گانه تیمارهای آزمایشی، با افزایش تنش کادمیوم تعداد برگ کاهش یافت، اما در غلظت‌های مختلف کادمیوم تعداد برگ در تمامی تیمارهای همزیستی قارچی نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح) بیشتر بود. در سطح صفر و ۷۵ کادمیوم بیشترین تعداد برگ در تیمار همزیستی با قارچ (*T. longibrachiatum* (UTFC10060) و غلظت ۰/۱۵ گرم بر لیتر محلول‌پاشی نانوذرات آهن مشاهده شد، این در حالیست که در سطح ۲۵ کادمیوم تلقیح با قارچ *T. atroviride* (SN1) در سطح صفر محلول‌پاشی نانوذرات آهن سبب افزایش حدود ۴۱ درصدی تعداد برگ نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و عدم محلول‌پاشی) گردید. در سطح ۵۰ کادمیوم و ۰/۳ نانوذرات آهن نیز همزیستی با قارچ‌های (*T. longibrachiatum* (UTFC10060) و *C. subaffine* (SF3) با حدود ۴۴ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد بیشترین تأثیر را در تعداد برگ کل گیاه داشتند (جدول ۴-۲۲).

آثار مخرب کادمیوم در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد گیاه به اشکال گوناگونی گزارش شده است، ولی به طور کلی تأثیر این عنصر بر رشد، ویژگی‌های رشدی و مورفولوژی گیاه به عنوان مهم‌ترین و قابل مشاهده‌ترین علائم برای سمیت آن مطرح می‌شود. تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی و در سطح سلولی سمی بوده و سبب اختلال در تقسیم و رشد سلول‌ها، تقسیم سلولی منطقه مریستمی و کاهش رشد و نمو گیاه می‌گردد (بالستریس و همکاران، ۲۰۰۱). در همین رابطه مرادی و احسان زاده (۱۳۹۲) بیان کردند که با افزایش غلظت کادمیوم تا سطح ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر بیشترین کاهش در تعداد برگ در گیاه گلرنگ مشاهده شد. همچنین بهتاش و همکاران (۱۳۸۹) در مطالعه خود نشان دادند که کاربرد کلرید کادمیم باعث کاهش معنی‌دار تعداد برگ در چغندر لبویی شد. از طرفی همزیستی قارچی و محلول‌پاشی نانوذرات آهن موجب افزایش تعداد برگ در هر سطح کادمیوم نسبت به گیاهان شاهد شده است. باید اظهار نمود که افزایش در این صفات را می‌توان با رشد بیشتر اندام هوایی در تیمارهای همزیستی قارچی مرتبط دانست. در گیاهان همزیست شده به دلیل جذب و انتقال بهتر عناصر

معدنی (به ویژه عناصری مانند فسفر، پتاسیم، نیتروژن، منیزیم، آهن، روی و منگنز) و نقش این عناصر در رشد و توسعه گیاه، سبب افزایش پارامترهای مورفولوژی از جمله تعداد برگ می‌گردد (محمودزاده و همکاران، ۱۳۹۴). نتایجی مشابه در مورد اثر مثبت همزیستی قارچی بر تعداد برگ در گیاه خیار توسط فصیحی و همکاران (۱۳۹۳) و در گیاه نعنای فلفلی توسط محمودزاده و همکاران (۱۳۹۴) نیز گزارش گردیده است.

جدول ۴-۲۲- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر تعداد برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			شاهد	نانوذرات آهن (گرم در لیتر)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)			
۲۹/۳۳ ^{ab}	۲۲/۶۶ ^{c-i}	۲۵/۶۶ ^{b-e}	۱۹/۳۳ ^{g-l}	.	.
۳۱/۶۶ ^a	۲۶/۶۶ ^{a-d}	۲۴/۳۳ ^{b-g}	۲۵/۳۳ ^{b-f}	۰/۱۵	.
۲۹/۳۳ ^{ab}	۲۴/۳۳ ^{b-g}	۲۱/۶۶ ^{d-i}	۲۱/۶۶ ^{d-i}	۰/۳	.
۲۳/۶۶ ^{c-h}	۲۷/۳۳ ^{abc}	۲۰/۳۳ ^{f-j}	۱۶ ^{j-o}	.	.
۲۰ ^{g-j}	۲۰/۳۳ ^{f-j}	۲۲/۳۳ ^{c-i}	۲۱/۶۶ ^{d-i}	۰/۱۵	۲۵
۲۱/۳۳ ^{e-i}	۲۱/۳۳ ^{e-i}	۱۹/۶۶ ^{g-k}	۲۷/۳۳ ^{abc}	۰/۳	.
۱۳/۳۳ ^{no}	۱۸/۶۶ ^{h-m}	۱۵/۶۶ ^{j-o}	۱۲ ^o	.	.
۱۴/۳۳ ^{l-o}	۲۲ ^{d-i}	۱۸ ⁱ⁻ⁿ	۱۲/۶۶ ^{k-n}	۰/۱۵	۵۰
۲۱/۳۳ ^{e-i}	۱۶ ^{j-o}	۲۱/۳۳ ^{e-m}	۱۵/۳۳ ^{j-o}	۰/۳	.
۱۴ ^{mno}	۱۲/۶۶ ^o	۱۲/۶۶ ^o	۱۲/۶۶ ^o	.	.
۱۸ ^{i-m}	۱۴/۶۶ ^{k-o}	۱۴/۶۶ ^{k-o}	۱۲/۶۶ ^o	۰/۱۵	۷۵
۱۲/۶۶ ^{f-m}	۱۴/۶۶ ^{k-o}	۱۴/۶۶ ^{k-o}	۱۳/۳۳ ^{no}	۰/۳	.

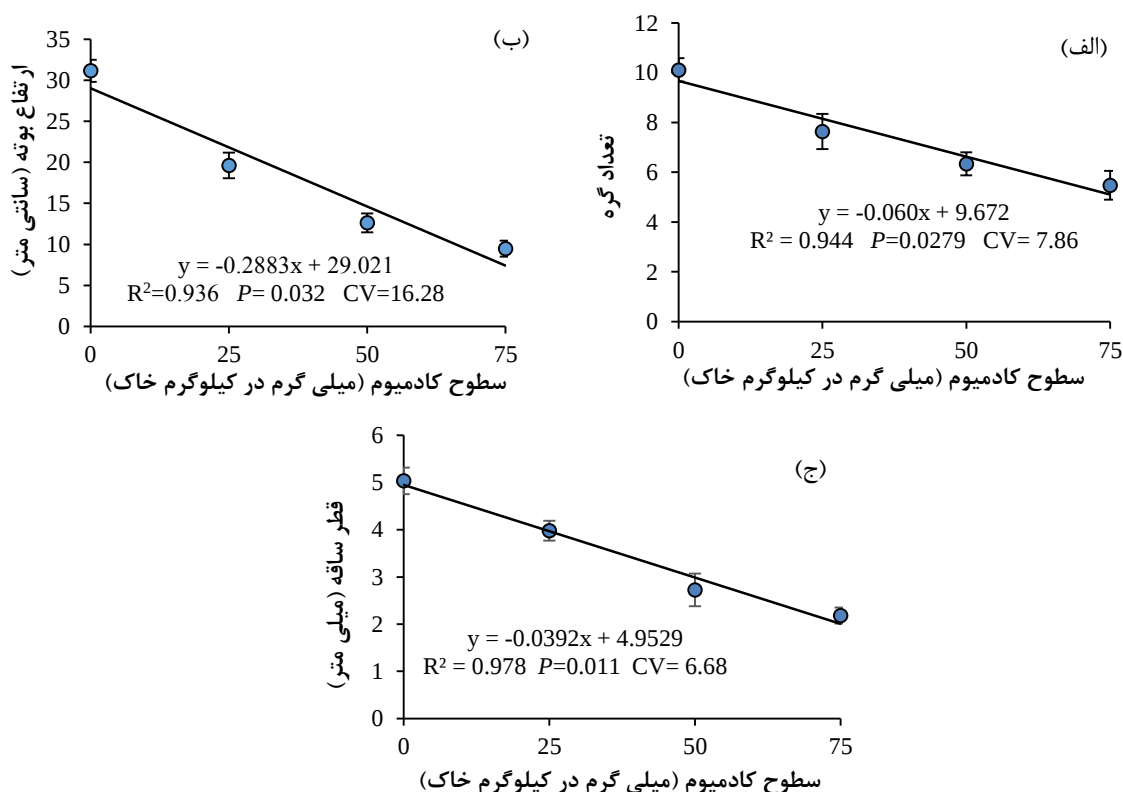
در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۱-۲- روند پاسخ صفات تعداد گره، ارتفاع بوته و قطر ساقه خرفه به غلظت کادمیوم

خاک

آنالیز رگرسیون داده‌های حاصل از آزمایش در این مرحله نشان داد که روند پاسخ تعداد گره و ارتفاع بوته به سطوح مختلف کادمیوم خاک به صورت خطی و به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۴ و ۰/۹۳ بیان شد. با افزایش میزان کادمیوم خاک تعداد گره و ارتفاع بوته به ترتیب با شیب ۰/۰۶- و ۰/۲۸- واحد و

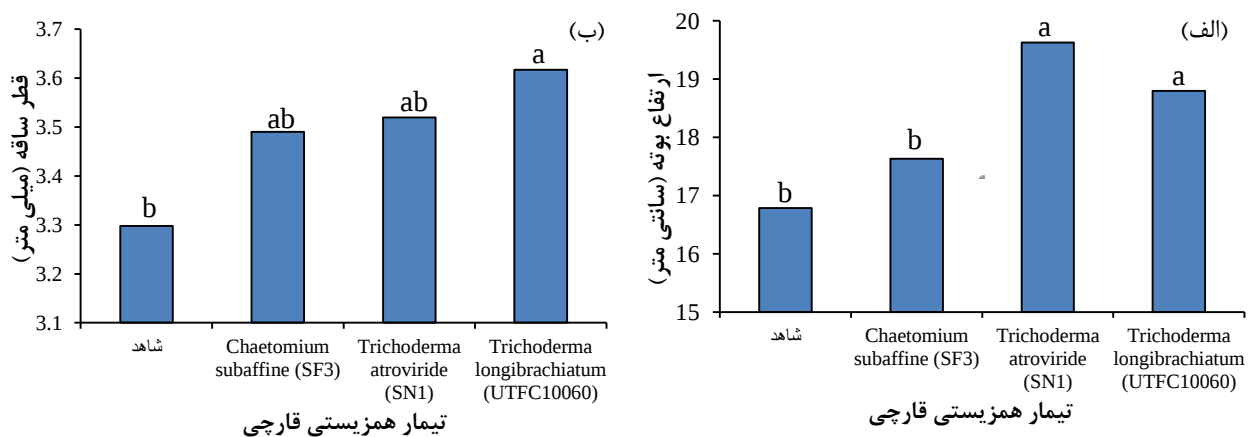
به میزان حدود ۴۶ و ۷۰ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۴-۲۹-الف و ب). روند پاسخ قطر ساقه به افزایش کادمیوم به صورت خطی و با ضریب تبیین ۰/۹۷ نشان داده شد، به طوری که با افزایش کادمیوم خاک، قطر ساقه (با شیب ۰/۰۳۹- واحد) به میزان حدود ۵۷ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۴-۲۹-ج). کادمیوم بر تقسیم و رشد سلول‌های گیاهان اثر می‌گذارد و همچنین آلودگی خاک به عنصر کادمیوم موجب کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه گیاهان، کاهش انبساط سلولی و کاهش جذب آب توسط گیاهان شده و به دنبال آن کاهش تولید مواد فتوسنتزی، سبب کاهش ارتفاع بوته و تعداد شاخه‌های جانبی در گیاه می‌شود (لیاماس و همکاران، ۲۰۰۰). این یافته‌ها با نتایج یعقوبیان و همکاران (۱۳۹۵) در گیاه بادرنجبویه، آیندالپ و مارینوا (۲۰۰۹) در گیاه یونجه و فلاح و سلطانی نژاد (۱۳۹۵) در گیاه خرفه همخوانی داشت.



شکل ۴-۲۹- روند پاسخ صفات تعداد گره (الف)، ارتفاع بوته (ب) و قطر ساقه (ج) خرفه به غلظت کادمیوم خاک

۳-۴-۱-۱-۳- اثر همزیستی قارچی بر ارتفاع بوته و قطر ساقه خرفه

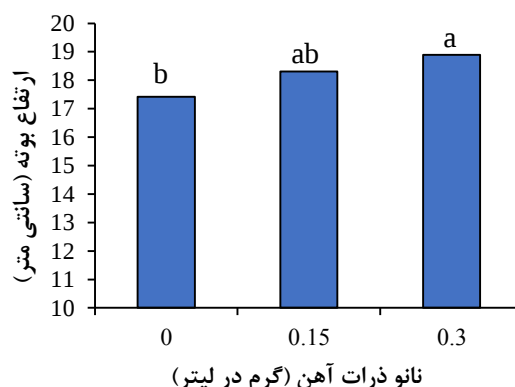
طبق یافته‌ها بیشترین میزان ارتفاع بوته در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) مشاهده شد، اما تفاوت معنی‌داری بین گیاهان تلقیح شده با قارچ *C. subaffine* (SF3) و شاهد وجود نداشت (شکل ۴-۳۰-الف). نتایج حاصل از آزمایش نشان داد، همزیستی قارچی سبب افزایش میزان قطر ساقه در مقایسه با گیاهان شاهد (عدم تلقیح) شد. بیشترین میزان قطر ساقه با حدود ۹ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد به گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) تعلق داشت (شکل ۴-۳۰-ب). ریزجانداران خاک، از جمله قارچ‌های اندوفیت، با برقراری روابط همیاری و همزیستی در تعامل با گیاهان بوده و با انجام فعالیت‌هایی نظیر تولید انواع بیشماری از متابولیت‌ها، تجزیه ترکیبات مختلف آلی، تثبیت نیتروژن جوی، تولید مواد افزایش‌دهنده رشد گیاه و افزایش قابلیت فراهمی عناصر غذایی معدنی برای گیاه به ویژه در شرایط تنش، سبب بهبود رشد گیاه می‌گردند (اولمئولر و همکاران، ۲۰۰۹). فنگ و همکاران (۲۰۰۲) نیز بیان کردند که قارچ‌های همزیست به صورت مستقیم همانند بهبود تغذیه گیاهان از طریق جذب عناصر غذایی و همچنین افزایش جذب آب توسط گیاه و غیرمستقیم همانند کاهش تنش‌های غیرزیستی افزایش رشد گیاه میزبان را سبب می‌شوند. این نتایج با گزارش فقیه عبداللهی و همکاران (۱۳۹۴) در گیاه ریحان و سراج و همکاران (۱۳۹۶) در گیاه گندم مطابقت داشت.



شکل ۴-۳۰- اثر همزیستی قارچی بر ارتفاع بوته (الف) و قطر ساقه (ب) در گیاه خرفه

۴-۳-۱-۱-۴- اثر محلول پاشی نانوذرات آهن بر ارتفاع بوته خرفه

طبق یافته‌ها ارتفاع بوته در گیاه خرفه تحت تأثیر محلول پاشی نانوذرات آهن افزایش یافت. در سطح ۰/۳ گرم بر لیتر با هشت درصد افزایش نسبت به شاهد (عدم محلول پاشی) اختلاف معنی داری داشت، در حالیکه در سطح ۰/۱۵ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن با وجود پنج درصد افزایش نسبت به سطح شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۴-۳۱). از جمله دلایل بهبود ارتفاع بوته‌های خرفه فراهمی مطلوب آهن در مراحل رویشی بوده که نتیجه‌ی آن توسعه‌ی بهتر سطح برگ و بهبود فتوسنتز جاری گزارش شده است (بیبوردی و مامدو، ۲۰۱۰). پژوهشگران مختلفی به تأثیر مثبت کاربرد آهن در مقایسه با عدم کاربرد آن (شاهد) بر ارتفاع بوته گیاهان و به دنبال آن بهبود عملکرد کل اشاره داشتند. برای مثال در کلزا بهبود ارتفاع گیاه و عملکرد کل با کاربرد آهن توسط پورغلام و همکاران (۲۰۱۳)، در بادام زمینی توسط گوهری و نیاکی (۲۰۱۰) و همچنین در سویا توسط قاسمیان و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است.

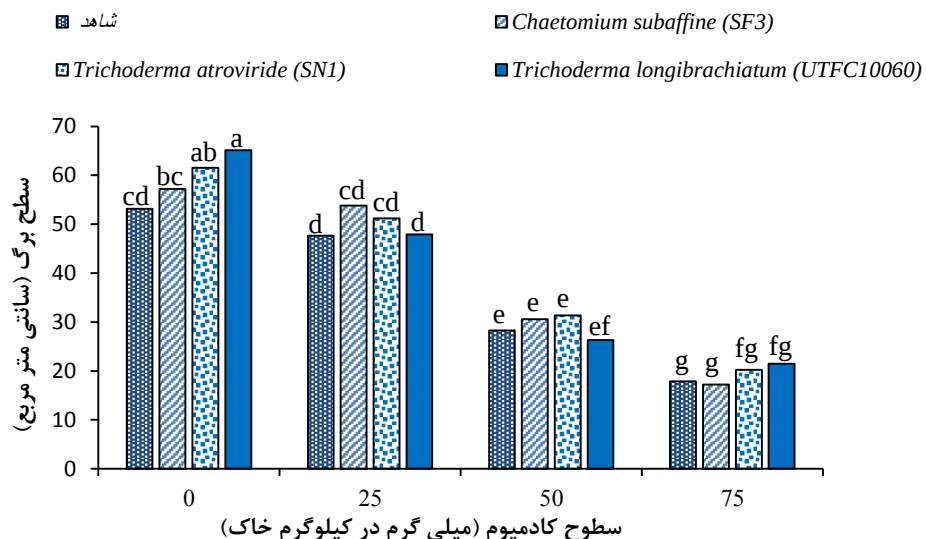


شکل ۴-۳۱- اثر محلول پاشی نانوذرات آهن بر ارتفاع بوته خرفه

۴-۳-۱-۱-۵- اثر همزیستی قارچی بر سطح برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم

برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و تیمار همزیستی قارچی در گیاه خرفه نشان داد که در مجموع میزان سطح برگ با افزایش تنش کادمیوم روند کاهشی داشت. در سطح صفر کادمیوم میزان سطح برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060)، حدود ۱۸ درصد نسبت به گیاهان

شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت. در سطح ۲۵ کادمیوم علی رغم داشتن بیشترین افزایش سطح برگ (حدود ۱۱ درصد) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *C. subaffine* (SF3)، اختلاف معنی داری نسبت به گیاهان شاهد مشاهده نشد. همچنین در غلظت ۵۰ و ۷۵ کادمیوم خاک نیز بیشترین میزان سطح برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) (به ترتیب با حدود ۱۰ و ۱۷ درصد افزایش) بود، اما از نظر آماری در مقایسه با گیاهان شاهد اختلاف معنی داری نداشتند (شکل ۴-۳۲). افزایش سطح برگ در گیاهان تلقیح شده احتمالاً به دلیل تحریک ریشه‌زایی و افزایش قدرت جذب مواد غذایی توسط گیاه در حضور قارچ باشد (محمدی کشکا و همکاران، ۱۳۹۵). اصلانی و همکاران (۱۳۹۰) افزایش معنی دار سطح برگ در گیاهان ریحان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی را به افزایش جذب عناصر غذایی نسبت دادند. دمیر (۲۰۰۴) نیز عنوان کرد که همزیستی با قارچ *Glomus intraradices* در گیاه فلفل سبب افزایش نسبت سطح برگ و میزان آبیگری برگ‌ها شد.



شکل ۴-۳۲- اثر همزیستی قارچی بر سطح برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم.
ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲- اثر قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن بر صفات رویشی گیاه خرفه تحت

تنش کادمیوم

نتایج تجزیه واریانس صفات رویشی در این مرحله از آزمایش نشان داد که اثرات ساده کادمیوم و همچنین همزیستی قارچی بر تمامی صفات رویشی مورد بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اثر ساده نانوذرات آهن بر وزن تر ریشه و وزن خشک ساقه و کل در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر معنی‌داری بر سایر صفات رویشی نداشت. برهمکنش کادمیوم و قارچ بر همه‌ی صفات رویشی به جز وزن خشک ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بین نانوذرات آهن و کادمیوم در صفت وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه و کل در سطح یک درصد و وزن تر ساقه در سطح پنج درصد برهمکنش معنی‌داری مشاهده شد. برهمکنش قارچ و نانوذرات آهن تنها در صفت وزن تر و خشک ریشه معنی‌دار بود. اثر متقابل سه گانه کادمیوم، قارچ و نانوذرات آهن بر وزن تر و خشک ریشه و وزن خشک کل در سطح احتمال یک درصد و وزن تر ساقه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۴-۲۳).

جدول ۴-۲۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات رویشی خرفه

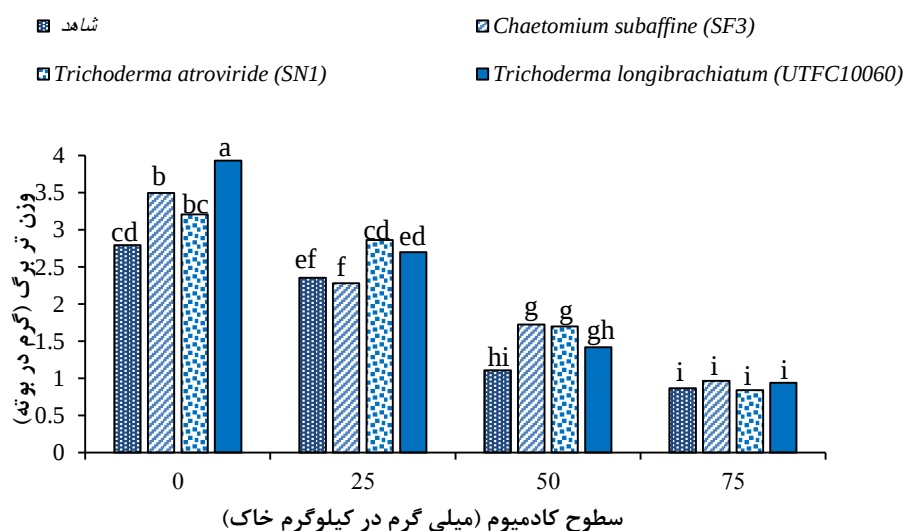
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر				وزن خشک			
		برگ	ساقه	ریشه	کل	برگ	ساقه	ریشه	کل
کادمیوم (A)	۳	۴۳/۰۹**	۱۸۰/۳۲**	۶/۵۹**	۴۹۱/۹۴**	۰/۴۹۴**	۶/۲۹**	۰/۳۶۸**	۱۳/۹۴**
قارچ (B)	۳	۱/۴۸**	۳/۸۸**	۰/۲۶۶**	۱۲/۶۹**	۰/۰۲۳**	۰/۱۷۴**	۰/۰۱۵**	۰/۴۶۳**
نانوذرات آهن (C)	۲	۰/۰۳۸ ^{ns}	۰/۲۹۷ ^{ns}	۰/۶۸۷**	۰/۶۱۷ ^{ns}	۰/۰۰۳۵ ^{ns}	۰/۰۰۲۱ ^{ns}	۰/۰۲۴**	۰/۰۴۷**
A×B	۹	۰/۶۸۹**	۱/۷۰**	۰/۰۵۷**	۳/۸۱**	۰/۰۰۹۹**	۰/۰۶۹۰**	۰/۰۰۵۱ ^{ns}	۰/۱۵۱**
A×C	۶	۰/۰۱۹ ^{ns}	۰/۳۱۷*	۰/۱۴۴**	۰/۴۲۶ ^{ns}	۰/۰۰۲۰ ^{ns}	۰/۰۰۶۴ ^{ns}	۰/۰۱۸۷**	۰/۰۳۰۹**
B×C	۶	۰/۱۰۳ ^{ns}	۰/۱۴۵ ^{ns}	۰/۰۹۵**	۰/۳۵۳ ^{ns}	۰/۰۰۳۸ ^{ns}	۰/۰۰۵۳ ^{ns}	۰/۰۱۱۰**	۰/۰۱۴۲ ^{ns}
A×B×C	۱۸	۰/۲۰۷ ^{ns}	۰/۱۹۰*	۰/۱۵۴**	۰/۵۵۲ ^{ns}	۰/۰۰۳۴ ^{ns}	۰/۰۰۳۱ ^{ns}	۰/۰۱۱۵**	۰/۰۲۴۷**
خطای آزمایش	۹۶	۰/۱۹۸	۰/۱۰۶	۰/۰۱۱	۰/۳۴۶	۰/۰۰۲۱	۰/۰۰۴۵	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۹۲
ضریب تغییرات (درصد)		۲۱/۴۷	۱۳/۹۴	۱۳/۱۳	۱۱/۲۱	۲۳/۲۸	۱۷/۸۲	۱۹/۴۵	۱۰/۹۰

^{ns} و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۳-۱-۲-۱- اثر همزیستی قارچی بر وزن تر برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم

برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و تیمار همزیستی قارچی در گیاه خرفه نشان داد که در مجموع میزان وزن تر برگ با افزایش سمیت کادمیوم روند کاهشی نشان داد. در سطح صفر کادمیوم میزان وزن تر

برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) ، حدود ۲۹ درصد نسبت به گیاهان شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت. در سطح ۲۵ کادمیوم نیز افزایش حدود ۱۸ درصدی در گیاهان تلقیح شده با قارچ *C. subaffine* (SF3) مشاهده شد. بیشترین میزان وزن تر برگ در غلظت ۵۰ کادمیوم خاک هم در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) (به ترتیب با حدود ۳۶ و ۳۵ درصد افزایش نسبت به گیاهان شاهد) بود در حالیکه در سطح ۷۵ کادمیوم تفاوت معنی‌داری بین گیاهان همزیست شده و شاهد وجود نداشت (شکل ۴-۳۳).



شکل ۴-۳۳- اثر همزیستی قارچی بر وزن تر برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم. ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن تر ساقه خرفه تحت

سمیت کادمیوم

بر اساس یافته‌های حاصل از میانگین اثرهای متقابل تیمارهای آزمایشی، گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میزان وزن تر ساقه‌ی بیشتری در تمامی سطوح کادمیوم خاک در مقایسه با گیاهان شاهد (عدم تلقیح) داشتند. همزیستی با قارچ *T. atroviride* (SN1) در سطح صفر کادمیوم سبب افزایش وزن تر ساقه از میزان ۴/۰۵ در گیاهان شاهد به میزان ۶/۴۱ گرم در بوته در گیاهان تلقیح شده گردید. در سطح ۵۰ کادمیوم بیشترین وزن تر ساقه با حدود ۴۰ درصد افزایش در غلظت ۰/۱۵ گرم بر لیتر نانوذرات آهن و

در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) نسبت به سطح شاهد بود. در حالیکه در سطح ۷۵ کادمیوم همزیستی با قارچ *C. subaffine* (SF3) توانست میزان وزن تر ساقه را حدود ۳۶ درصد نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ۴-۲۴).

جدول ۴-۲۴- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن تر ساقه (گرم در بوته) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			شاهد	نانوذرات آهن (گرم در لیتر)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)			
۵/۵۲ ^{bcd}	۶/۴۱ ^a	۶/۳۲ ^a	۴/۰۵ ^e	۰	
۵/۷۱ ^{bc}	۶/۳۹ ^a	۵/۳۷ ^{cd}	۳/۸۶ ^e	۰/۱۵	۰
۶/۰۲ ^{ab}	۵/۸۹ ^{ab}	۵/۰۶ ^d	۴/۱۴ ^e	۰/۳	
۳/۰۶ ^{fg}	۳/۲۰ ^f	۲/۷۶ ^{f-j}	۲/۲۳ ^{jk}	۰	
۲/۲۶ ^{jk}	۲/۴۲ ^{h-k}	۲/۱۳ ^k	۲/۳۶ ^{ijk}	۰/۱۵	۲۵
۲/۶۴ ^{g-k}	۲/۸۶ ^{fgh}	۲/۸۱ ^{f-i}	۲/۲۴ ^{jk}	۰/۳	
۰/۷۹۳ ^{l-r}	۱/۰۳ ^{lm}	۰/۹۲۷ ^{l-p}	۰/۷۳۴ ^{l-s}	۰	
۰/۹۰۹ ^{l-q}	۱/۲۲ ^l	۱/۰۰۶ ^{lmn}	۰/۸۹۸ ^{l-q}	۰/۱۵	۵۰
۰/۷۳۷ ^{l-s}	۰/۹۸۴ ^{l-o}	۰/۹۸۱ ^{l-o}	۰/۶۸۵ ^{m-s}	۰/۳	
۰/۲۶۱ ^s	۰/۴۶۲ ^{o-s}	۰/۶۳۵ ^{m-s}	۰/۴۰۳ ^{p-s}	۰	
۰/۵۰۲ ^{n-s}	۰/۳۶۳ ^{rs}	۰/۶۰۳ ^{m-s}	۰/۴۳۸ ^{p-s}	۰/۱۵	۷۵
۰/۴۷۸ ^{n-s}	۰/۴۳۱ ^{p-s}	۰/۵۰۲ ^{n-s}	۰/۳۸۵ ^{qrs}	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲-۳- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن تر ریشه خرفه تحت

سمیت کادمیوم

برهمکنش سه گانه تیمارهای آزمایشی در این مرحله، اثر مثبت همزیستی قارچی در تمامی غلظت‌های کادمیوم بر وزن تر ریشه را نسبت به گیاهان شاهد (عدم تلقیح) نشان داد. به طوری که در سطح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کادمیوم به ترتیب تلقیح با قارچ‌های *T. longibrachiatum* (UTFC10060)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) سبب افزایش حدود ۴۸، ۵۴ و ۵۵ درصدی وزن تر ساقه شد. بیشترین تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات آهن در سطح ۲۵ کادمیوم، در غلظت ۰/۱۵ و در سطح ۷۵ کادمیوم در غلظت ۰/۳ گرم بر لیتر مشاهده گردید (جدول ۴-۲۵).

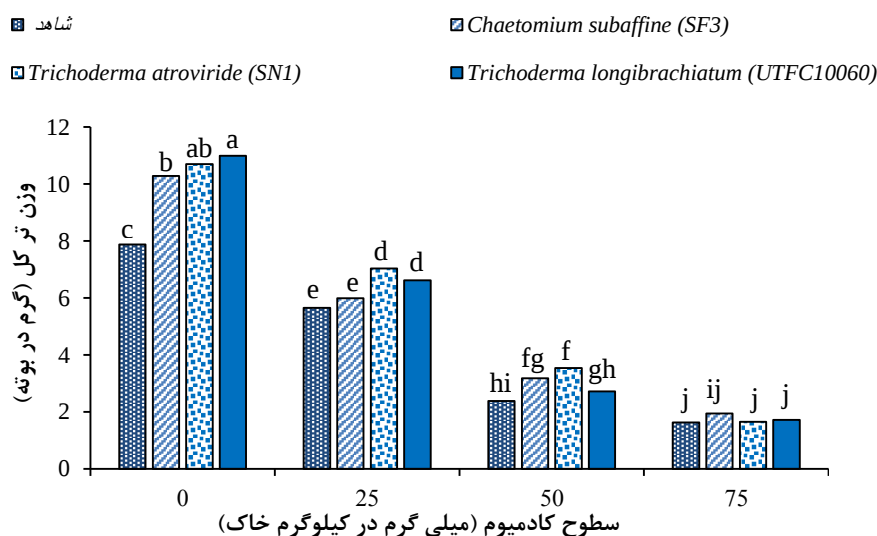
جدول ۴-۲۵- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن تر ریشه (گرم در بوته)
خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۱/۴۰ ^{cd}	۱/۲۴ ^{def}	۱/۴۰ ^{cd}	۰/۹۸۸ ^{hij}	.	
۱/۲۷ ^{def}	۰/۸۲۰ ^{j-m}	۰/۸۷۷ ^{ijk}	۱/۲۰ ^{efg}	۰/۱۵	.
۱/۲۱ ^{efg}	۱/۷۱ ^a	۱/۳۰ ^{de}	۰/۹۶۸ ^{hij}	۰/۳	
۰/۷۸۶ ^{klm}	۱/۳۴ ^{de}	۰/۹۳۱ ^{ijk}	۰/۸۵۰ ^{jkl}	.	
۱/۶۳ ^{ab}	۱/۱۲ ^{fgh}	۰/۹۷۰ ^{hij}	۰/۸۸۸ ^{ijk}	۰/۱۵	۲۵
۱/۳۶ ^{cde}	۱/۵۳ ^{bc}	۱/۵۳ ^{bc}	۱/۳۱ ^{de}	۰/۳	
۰/۳۷۷ ^{q-u}	۱/۰۳ ^{ghi}	۰/۴۴۲ ^{p-s}	۰/۴۷۶ ^{o-s}	.	
۰/۴۳۳ ^{p-t}	۰/۶۹۳ ^{lmn}	۰/۳۰۶ ^{r-v}	۰/۳۸۸ ^{p-u}	۰/۱۵	۵۰
۰/۶۴۸ ^{mno}	۰/۵۳۲ ^{n-q}	۰/۶۸۹ ^{lmn}	۰/۶۴۹ ^{mno}	۰/۳	
۰/۳۷۵ ^{q-u}	۰/۲۶۵ ^{tuv}	۰/۳۰۰ ^{s-v}	۰/۲۵۱ ^{uv}	.	
۰/۱۶۰ ^v	۰/۴۲۲ ^{p-u}	۰/۴۰۶ ^{p-u}	۰/۳۱۹ ^{r-v}	۰/۱۵	۷۵
۰/۵۵۹ ^{nop}	۰/۵۰۶ ^{opq}	۰/۴۷۰ ^{p-s}	۰/۴۷۸ ^{o-r}	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲-۴- اثر همزیستی قارچی بر وزن تر کل خرفه تحت سمیت کادمیوم

برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و تیمار همزیستی قارچی در گیاه خرفه در این مرحله از آزمایش نشان داد که در مجموع با افزایش سمیت کادمیوم وزن تر کل گیاه کاهش یافت. اما میزان این کاهش در گیاهان تلقیح شده به نسبت شاهد به مراتب کمتر بود. به طوری که در سطح صفر کادمیوم بیشترین میزان وزن تر کل در گیاهان همزیست شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) با حدود ۲۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد هر چند از نظر آماری این گیاهان با گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) در یک گروه قرار گرفتند. در سطوح ۲۵ و ۵۰ کادمیوم گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) در سطوح ۲۵ کادمیوم به ترتیب با افزایش حدود ۲۰ و ۱۴ درصدی و در سطوح ۵۰ کادمیوم به ترتیب با افزایش حدود ۲۵ و ۳۲ درصدی بیشترین میزان وزن کل گیاه را داشتند این در حالیست که در سطح ۷۵ از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین گروه‌بندی تیمار همزیستی قارچی مشاهده نشد (شکل ۴-۳۴).

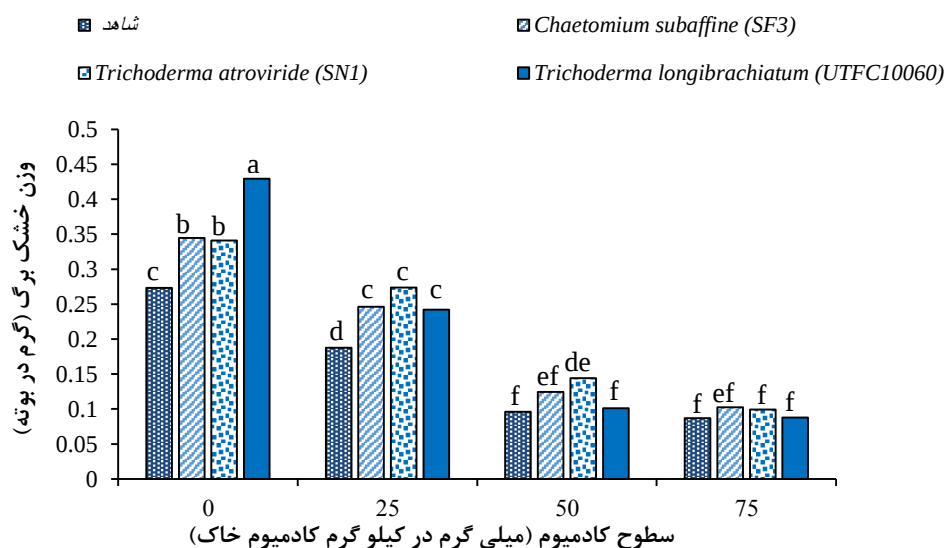


شکل ۴-۳۴- اثر همزیستی قارچی بر وزن تر کل خرفه تحت سمیت کادمیوم

ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲-۵- اثر همزیستی قارچی بر وزن خشک برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم

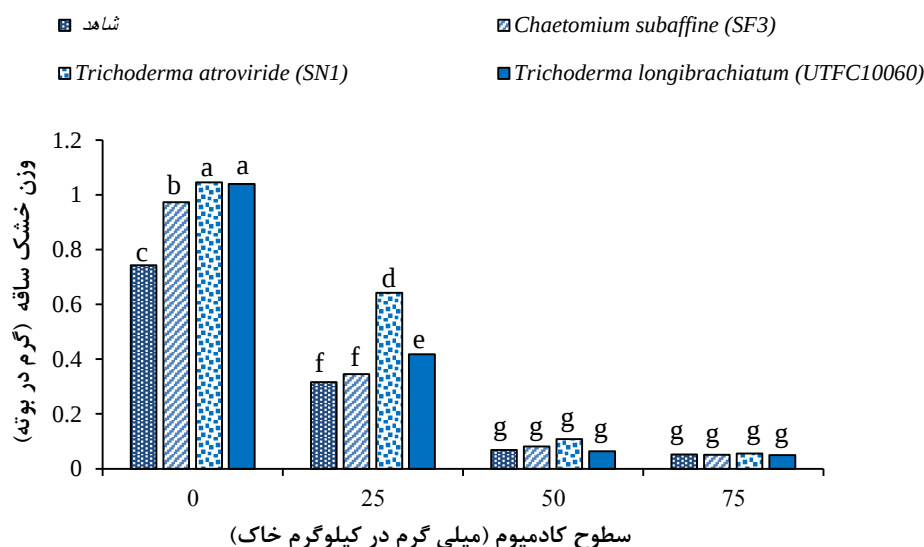
نتایج حاصل از مرحله تکمیلی آزمایش نشان داد روند میزان وزن خشک برگ با افزایش کادمیوم خاک کاهش یافت. اما در همه‌ی سطوح کادمیوم، میزان وزن خشک برگ گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بود. در سطح صفر کادمیوم میزان وزن خشک برگ گیاهان در هر سه تیمار همزیستی قارچی نسبت به شاهد افزایش یافت که در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) با حدود ۳۶ درصد بیشترین افزایش را نشان داد. در سطح ۲۵ کادمیوم هم هر سه تیمار همزیستی قارچی از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند. بیشترین میزان وزن خشک برگ در سطح ۵۰ کادمیوم با ۳۳ درصد افزایش نسبت به شاهد (عدم تلقیح) مربوط به گیاهان همزیست شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) بود در حالیکه اختلاف معنی‌داری بین گیاهان همزیست شده و شاهد در سطح ۷۵ کادمیوم مشاهده نشد (شکل ۴-۳۵).



شکل ۴-۳۵- اثر همزیستی قارچی بر وزن خشک برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم
ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲-۶- اثر همزیستی قارچی بر وزن خشک ساقه خرفه تحت سمیت کادمیوم

بر طبق نتایج میزان وزن خشک ساقه در گیاهان شاهد (عدم تلقیح) با افزایش سطوح کادمیوم به میزان حدود ۹۳ درصد کاهش یافت. همزیستی قارچی در گیاهان موجب افزایش میزان وزن خشک ساقه در سطح صفر و ۲۵ کادمیوم گردید. در سطح صفر کادمیوم همزیستی با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) موجب افزایش به ترتیب حدود ۲۴، ۲۹ و ۲۸ درصدی وزن خشک ساقه نسبت به گیاهان شاهد شد. بیشترین وزن خشک ساقه در غلظت ۲۵ کادمیوم با ۵۰ درصد افزایش نسبت به شاهد در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) مشاهده شد. این در حالیست که در سطوح ۵۰ و ۷۵ کادمیوم هیچ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و از نظر آماری گیاهان همزیست شده و شاهد در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۴-۳۶).



شکل ۴-۳۶- اثر همزیستی قارچی بر وزن خشک ساقه خرفه تحت سمیت کادمیوم
ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲-۷- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن خشک ریشه خرفه

تحت سمیت کادمیوم

بررسی‌ها نشان داد با افزایش تنش عنصر کادمیوم، میزان وزن خشک ریشه در گیاهان شاهد حدود ۳۷ درصد نسبت به سطح صفر کادمیوم کاهش یافت. در حالیکه میزان این کاهش در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) به ترتیب حدود ۲۴، ۳۳ و ۱۳ درصد بود. در سطح صفر کادمیوم، محلول‌پاشی نانوذرات آهن در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر و تلقیح با قارچ *T. atroviride* (SN1) سبب افزایش حدود ۴۸ درصدی وزن خشک ریشه نسبت به سطح شاهد گردید. بیشترین تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات آهن با حدود ۵۲ درصد افزایش نسبت به سطح عدم محلول‌پاشی در گیاهان همزیست شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) مشاهده شد. همچنین در سطح ۵۰ و ۷۵ کادمیوم و گیاهان تلقیح شده با همین قارچ، کاربرد غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن به ترتیب با حدود هفت و ۲۲ درصد افزایش در وزن خشک ریشه نسبت به سطح شاهد بیشترین تأثیر مثبت را نشان دادند (جدول ۴-۲۶).

جدول ۴-۲۶- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن خشک ریشه (گرم در بوته) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			شاهد	نانوذرات آهن (گرم در لیتر)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)			
۰/۴۸۷ ^{bc}	۰/۳۷۶ ^{d-g}	۰/۳۹۵ ^{b-e}	۰/۲۵۴ ^{i-o}	۰	
۰/۳۳۶ ^{e-i}	۰/۴۰۰ ^{b-e}	۰/۳۶۶ ^{d-h}	۰/۳۸۷ ^{c-g}	۰/۱۵	۰
۰/۳۸۳ ^{c-g}	۰/۴۸۷ ^b	۰/۳۸۵ ^{c-g}	۰/۳۸۷ ^{c-f}	۰/۳	
۰/۲۹۸ ^{f-k}	۰/۳۹۵ ^{b-e}	۰/۴۲۳ ^{b-e}	۰/۲۲۵ ^{k-o}	۰	
۰/۳۳۶ ^{e-j}	۰/۴۳۹ ^{bcd}	۰/۳۷۳ ^{d-g}	۰/۳۶۷ ^{d-h}	۰/۱۵	۲۵
۰/۶۱۸ ^a	۰/۴۸۸ ^b	۰/۳۹۷ ^{b-e}	۰/۴۱۱ ^{b-e}	۰/۳	
۰/۱۸۸ ^{nop}	۰/۲۸۹ ^{g-l}	۰/۲۵۱ ^{i-o}	۰/۲۷۱ ^{h-n}	۰	
۰/۱۷۵ ^{nop}	۰/۲۶۷ ⁱ⁻ⁿ	۰/۲۳۸ ^{g-o}	۰/۲۴۱ ^{i-o}	۰/۱۵	۵۰
۰/۲۹۱ ^{f-l}	۰/۱۹۳ ^{m-p}	۰/۲۵۶ ^{i-o}	۰/۲۲۸ ^{k-o}	۰/۳	
۰/۱۲۳ ^p	۰/۲۱۴ ^{k-p}	۰/۱۶۴ ^{op}	۰/۲۱۰ ^{k-p}	۰	
۰/۲۶۸ ⁱ⁻ⁿ	۰/۲۲۷ ^{k-o}	۰/۲۲۳ ^{k-o}	۰/۱۹۸ ^{l-p}	۰/۱۵	۷۵
۰/۲۲۰ ^{k-o}	۰/۱۷۰ ^{op}	۰/۱۹۳ ^{m-p}	۰/۱۶۱ ^{op}	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲-۸- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن خشک کل خرفه تحت سمیت کادمیوم

نتایج حاصل از وزن خشک کل خرفه بیانگر اثر مثبت همزیستی قارچی در شرایط افزایش تنش کادمیوم بود. از طرفی کاربرد نانوذرات آهن به ویژه در سطوح ۰/۱۵ گرم در لیتر موجب بهبود وزن خشک کل گیاه گردید. علی‌رغم اینکه در سطح صفر کادمیوم گیاهان همزیست شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) در عدم کاربرد نانوذرات آهن با حدود ۳۳ درصد افزایش، بیشترین وزن خشک کل را داشتند در سطوح ۲۵ و ۵۰ کادمیوم، کاربرد غلظت ۰/۱۵ نانوذرات موجب افزایش ۵۲ و ۲۸ درصدی وزن خشک کل در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) نسبت به شاهد گردید. در سطح ۷۵ کادمیوم نیز کاربرد غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن بیشترین تأثیر را در بهبود وزن خشک کل در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) (هر دو با حدود ۲۸ درصد افزایش نسبت به شاهد) داشت (جدول ۴-۲۷).

جدول ۴-۲۷- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر وزن خشک کل (گرم در بوته) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			شاهد	نانوذرات آهن (گرم در لیتر)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)			
۱/۹۳ ^a	۱/۷۴ ^{cde}	۱/۷۷ ^{b-d}	۱/۳۰ ^f	.	.
۱/۹۳ ^{ab}	۱/۸۱ ^{a-d}	۱/۶۳ ^e	۱/۳۶ ^f	۰/۱۵	.
۱/۷۴ ^{cde}	۱/۸۳ ^{abc}	۱/۷۰ ^{de}	۱/۴۱ ^f	۰/۳	.
۰/۹۳۴ ^g	۱/۲۹ ^f	۱/۰۰ ^g	۰/۶۷۳ ^h	.	.
۰/۹۸۶ ^g	۱/۴۱ ^f	۰/۹۷۳ ^g	۰/۸۶۲ ^g	۰/۱۵	۲۵
۱/۳۱ ^f	۱/۳۶ ^f	۰/۹۹۵ ^g	۰/۹۷۹ ^g	۰/۳	.
۰/۳۱۹ ^{mno}	۰/۵۴۱ ^{hij}	۰/۴۳۶ ^{i-m}	۰/۴۰۴ ^{j-n}	.	.
۰/۳۴۶ ^{k-o}	۰/۵۶۴ ^{hi}	۰/۴۳۳ ^{i-m}	۰/۳۹۸ ^{j-n}	۰/۱۵	۵۰
۰/۴۸۶ ^{i-l}	۰/۴۰۰ ^{j-n}	۰/۴۹۳ ^{ijk}	۰/۴۳۳ ^{i-m}	۰/۳	.
۰/۲۲۸ ^o	۰/۳۸۱ ^{k-o}	۰/۲۵۹ ^{no}	۰/۳۲۸ ^{mno}	.	.
۰/۴۵۸ ^{i-m}	۰/۳۷۰ ^{k-o}	۰/۴۵۴ ^{i-m}	۰/۳۲۲ ^{mno}	۰/۱۵	۷۵
۰/۳۴۰ ^{k-o}	۰/۳۲۴ ^{mno}	۰/۳۲۹ ^{mno}	۰/۳۳۵ ^{l-o}	۰/۳	.

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

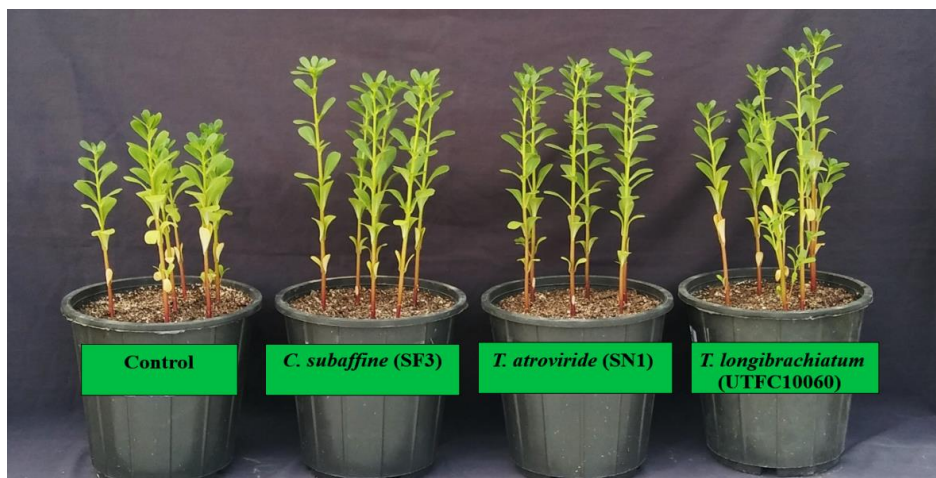
در مجموع در این مرحله از آزمایش افزایش سمیت کادمیوم موجب کاهش تمامی صفات رویشی (وزن تر و خشک برگ، ساقه، ریشه و کل) گردید. انباشته شدن فلزات سنگین با آسیب به ساختارهایی نظیر کلروپلاست، میتوکندری، هسته، دیواره سلولی و غشای سلولی باعث از دست رفتن عملکرد اندام‌ها و در نتیجه اختلال در عملکرد طبیعی صفات فیزیولوژیک شامل فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین، تقسیم سلولی و رشد گیاه می‌شود (سالازار و پیگناتا، ۲۰۱۴). از طرفی مقادیر زیاد یون‌های فلزات سنگین توسط ریشه گیاهان جذب و پس از انتقال به اندام‌های هوایی موجب اختلال در سوخت و ساز گیاه می‌گردد (لی و همکاران، ۲۰۰۹). حضور کادمیوم در محیط رشد گیاه باعث کاهش سرعت تبخیر و تعرق و جذب یون بوسیله گیاه شده و با اختلال در جذب آب و کاهش غلظت سایر یون‌ها مانع از انجام فعالیت‌های طبیعی ریشه می‌گردد (وسلو و همکاران، ۲۰۰۳). کادمیوم همچنین با ایجاد اختلال در فرایندهای مهم گیاه نظیر فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن کاهش جذب و انتشار عناصر غذایی ضروری نظیر کلسیم، منیزیم، آهن و پتاسیم، در نهایت منجر به کاهش رشد و تولید زیست توده در گیاه می‌گردد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۸). در همین زمینه لیو و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که کاربرد

۵۰ میلی گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک، وزن خشک شاخساره دو رقم برنج را کاهش داد. ندجیمی و دایود (۲۰۰۹) نیز در مطالعه خود روی گیاه آتریپلکس کاهش ۵۴ درصدی وزن خشک شاخساره در تیمار کادمیوم با غلظت زیاد در مقایسه با سطح شاهد را گزارش کردند. میلان و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه گوجه فرنگی، کاهش وزن ریشه و اندام هوایی را در اثر تیمار با کادمیوم گزارش کردند. تایریاکیوگلو و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان دادند که افزایش سطح کادمیوم از صفر تا ۱۲۰ میکرومولار در محلول غذایی باعث کاهش وزن ریشه و اندام هوایی در گیاه جو نسبت به تیمار شاهد گردید. تبریزی و همکاران (۱۳۹۴) نیز گزارش کردند افزایش غلظت سرب و کادمیوم موجب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن خشک در گیاه رزماری شد. همچنین کاهش در وزن اندام‌های رویشی با افزایش غلظت کادمیوم در گیاه بادرنجبویه (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۵) نیز مشاهده شده است.

طبق نتایج، همزیستی قارچی توانست رشد رویشی گیاه خرفه را نسبت به گیاهان تلقیح نشده در سطوح کادمیوم بهبود بخشد. قارچ‌های همزیست گیاهان چه در شرایط مطلوب رشدی چه در شرایط تنش‌های محیطی جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهند و باعث افزایش رشد و سازگاری گیاه به شرایط مختلف به ویژه تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده از جمله عناصر سنگین می‌شوند (ژانگ، ۲۰۰۶). گزارش شده است که قارچ‌های همزیست مانند پیریفورموسپورا در فراهمی و متابولیسم عناصر غذایی مورد نیاز گیاه کارایی ویژه داشته و موجب افزایش میزان این عناصر در گیاهان تلقیح شده می‌گردد که این ویژگی برای گیاهان در شرایط تنش از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد (ابو-قلیا و خلفا، ۲۰۰۸). قارچ تریکودرما نیز با افزایش قابلیت دسترسی عناصر، افزایش سطح تماس ریشه با خاک و ظرفیت جذب مواد غذایی توسط گیاه سبب بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه در مواجهه با تنش فلزات سنگین می‌شود (ابوزینا و همکاران، ۲۰۱۳). در همین زمینه سلیمی تملی و همکاران (۱۳۹۸) با پژوهشی روی گیاه استویا نشان دادند که گیاهان تلقیح شده با قارچ اندوفیت *P. indica* فعالیت بهتری را نسبت به گیاهان شاهد در شرایط تنش کادمیوم از خود نشان دادند؛ همچنین عنوان کردند که در گیاهان تلقیح شده پارامترهای مورفولوژیک نسبت به سطح عدم تلقیح افزایش یافت. یعقوبیان (۱۳۹۴) نیز گزارش

کرد که تلقیح گیاهان بادرنجبویه و خرفه با قارچ‌های پیریفورموسپورا و تریکودرما موجب بهبود صفات رویشی گیاه تحت تنش کادمیوم شد. همچنین در مواجهه با فلز سرب همزیستی قارچی موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه جو شد (کریمی شروذانی و همکاران، ۱۳۹۴). شهابی‌وند و علیلو (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند که همزیستی قارچی موجب افزایش قطر ساقه و وزن خشک اندام هوایی در گیاه گندم تحت تنش کادمیوم شد.

محلول‌پاشی نانوذرات آهن نیز در بهبود صفات رویشی تحت سمیت کادمیوم تأثیر مثبتی داشت. فرم نانوذرات آهن صفر ظرفیتی به دلیل انرژی سطحی زیاد و واکنش پذیری بالا از کارایی بالاتری نسبت به ترکیبات موسوم برخوردار هستند. از این رو مصرف مستقیم نانوذرات در ناحیه ریشه و محلول-پاشی آن به شاخ و برگ گیاه به دلیل جذب بهتر و کاهش اثرات منفی یون‌های سمی سبب بهبود طول ریشه و ساقه، زیست توده، فتوسنتز و سایر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان می‌گردند (یاسمین و همکاران، ۲۰۱۷؛ بو و همکاران، ۲۰۱۳). در همین زمینه محققان گزارش کردند که کاربرد سولفات آهن به شکل نانوذرات وزن خشک گیاه آفتابگردان را تا هفت درصد در شرایط تنش شوری افزایش داد (ترابیان و زاهدی، ۱۳۹۲). فتحی و زاهدی (۱۳۹۳) نیز طی پژوهش خود دریافتند که محلول‌پاشی آهن به شکل نانوذرات وزن خشک اندام هوایی ذرت را افزایش داده و همچنین سبب کاهش اثرات شوری در گیاه ذرت شد.



شکل ۴-۳۷- تأثیر قارچ‌های همزیست ریشه بر رشد گیاه خرفه (عکس از نگارنده)

۴-۳-۱-۳- اثر قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن بر صفات فیزیولوژیک گیاه خرفه تحت

تنش کادمیوم

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از صفات فیزیولوژیک نشان داد که اثر ساده کادمیوم بر محتوای کلروفیل a ، b ، $a+b$ ، کاروتنوئید، شاخص سبزی‌نگی برگ، نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما بر نسبت کلروفیل a/b تأثیر معنی‌داری نداشت. اثر ساده قارچ بر محتوای کلروفیل b ، $a+b$ ، a/b ، شاخص سبزی‌نگی برگ و محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود، اما محتوای کلروفیل a و کاروتنوئید به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نگرفت. اثر ساده نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل b ، $a+b$ ، کاروتنوئید، شاخص سبزی‌نگی برگ و نشت الکترولیت در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a و نسبت کلروفیل a/b نداشت. بین کادمیوم و قارچ از نظر محتوای کلروفیل b در سطح احتمال پنج درصد و نسبت کلروفیل a/b در سطح احتمال یک درصد برهمکنش معنی‌داری مشاهده شد. برهمکنش کادمیوم و نانوذرات آهن نیز از نظر محتوای کلروفیل a ، $a+b$ ، کاروتنوئید و شاخص سبزی‌نگی برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بین قارچ و نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل a و $a+b$ در سطح پنج درصد و بر میزان کاروتنوئید در سطح یک درصد برهمکنش معنی‌داری وجود داشت. اثر متقابل سه گانه کادمیوم، قارچ و نانوذرات آهن بر کلروفیل a ، شاخص سبزی‌نگی و محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال پنج درصد و بر نسبت کلروفیل a/b و کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴-۲۸).

جدول ۴-۲۸- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات فیزیولوژیک خرفه

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل				کاروتنوئید	شاخص سبزینگی برگ	نشت الکترولیت	محتوای نسبی آب برگ
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>	<i>a/b</i>				
کادمیوم (A)	۳	۶/۸۶**	۱/۵۳**	۳/۶۷**	۰/۲۸۶ ^{ns}	۰/۷۵۵**	۱۸۹/۹۶**	۵۵۱/۲۴**	۱۰۱۷/۸۷**
قارچ (B)	۳	۰/۱۹۴ ^{ns}	۰/۶۵۳**	۰/۳۲۵**	۱/۹۰**	۰/۰۲۰ ^{ns}	۲۹/۶۳**	۲۵/۵۸ ^{ns}	۱۸۸/۸۹**
نانوذرات آهن (C)	۲	۰/۴۷۳ ^{ns}	۰/۳۸۵**	۰/۴۱۶**	۰/۴۶۷ ^{ns}	۰/۳۲۲**	۶۵/۳۵**	۹۷/۷۵**	۴۷/۴۹ ^{ns}
A×B	۹	۰/۲۶۲ ^{ns}	۰/۱۳۷*	۰/۱۰۱ ^{ns}	۰/۹۱۷**	۰/۰۶۱ ^{ns}	۶/۱۷ ^{ns}	۹/۴۶ ^{ns}	۱۶/۰۵ ^{ns}
A×C	۶	۰/۶۲۸**	۰/۱۰۰۲ ^{ns}	۰/۲۷۷**	۰/۵۴۵ ^{ns}	۰/۱۴۵**	۱۸/۳۶**	۴۰/۰۳ ^{ns}	۴۴/۳۴ ^{ns}
B×C	۶	۰/۴۷۳*	۰/۰۴۵ ^{ns}	۰/۱۷۱*	۰/۴۸۵ ^{ns}	۰/۲۰۸**	۲/۹۳ ^{ns}	۱۵/۱۸ ^{ns}	۳۵/۱۹ ^{ns}
A×B×C	۱۸	۰/۴۵۶*	۰/۰۳۹ ^{ns}	۰/۱۱۶ ^{ns}	۰/۷۲۸**	۰/۰۹۱**	۹/۸۷*	۱۵/۱۰ ^{ns}	۶۳/۴۳*
خطای آزمایش	۹۶	۰/۱۸۵	۰/۰۵۴	۰/۰۷۵	۰/۳۲۱	۰/۰۴۱	۵/۳۶	۴۱/۱۹	۳۳/۳۳
ضریب تغییرات (درصد)		۲۱/۱۳	۲۳/۸۶	۱۸/۱۳	۱۵/۹۹	۲۵/۳۲	۷/۷۵	۱۳/۴۵	۹/۷۶

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۳-۱-۳-۱- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل *a* خرفه

تحت سمیت کادمیوم

بر اساس یافته‌ها، گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌های *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) در سطح صفر کادمیوم، به ترتیب با میانگین ۳/۱۲ و ۲/۸۱ بیشترین محتوای کلروفیل *a* را داشتند. همچنین بیشترین محتوای کلروفیل *a* در غلظت ۲۵ کادمیوم (با حدود ۱۹ درصد افزایش نسبت به سطح عدم تلقیح و عدم محلول‌پاشی) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *C. subaffine* (SF3)، در غلظت ۵۰ کادمیوم (با حدود ۲۴ درصد افزایش) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) و در غلظت ۷۵ کادمیوم (با ۱۰ درصد افزایش) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) مشاهده شد. در مجموع محلول‌پاشی نانوذرات آهن به ویژه در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر سبب افزایش محتوای کلروفیل *a* در تمامی سطوح کادمیوم گردید (جدول ۴-۲۹).

جدول ۴-۲۹- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل *a*
(میکروگرم در میلی لیتر) خرفه تحت سمیت کادمیوم

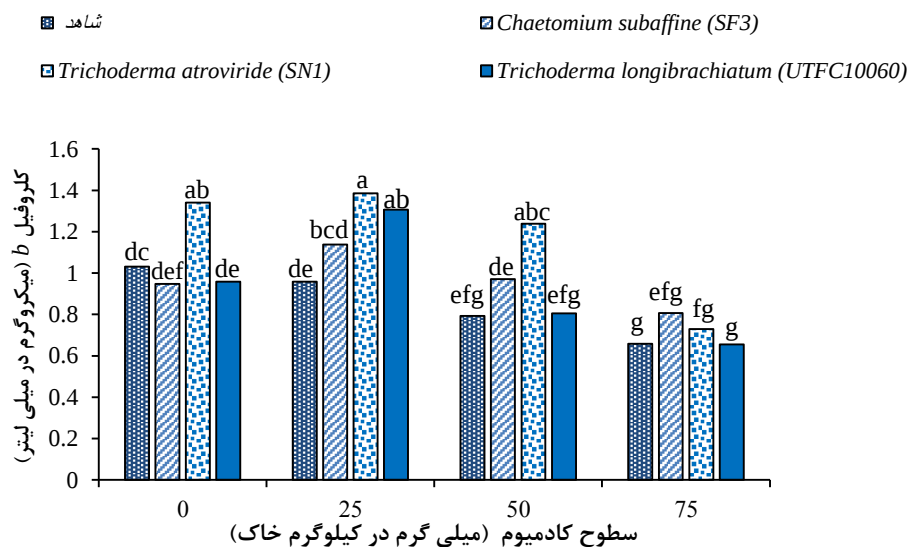
همزیستی قارچی			شاهد	نانوذرات آهن (گرم در لیتر)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTF10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)			
۱/۹۲ ^{g-o}	۱/۸۰ ^{i-o}	۱/۵۰ ^{l-o}	۱/۸۸ ^{h-o}	.	.
۱/۹۷ ^{g-n}	۳/۱۲ ^{ab}	۲/۶۱ ^{b-g}	۲/۵۸ ^{b-h}	۰/۱۵	.
۲/۸۱ ^{a-d}	۱/۵۵ ^{l-o}	۱/۶۴ ^{k-o}	۲/۱۶ ^{d-l}	۰/۳	.
۲/۶۹ ^{a-f}	۱/۸۷ ^{i-o}	۲/۷۲ ^{a-e}	۲/۷۰ ^{a-f}	.	.
۲/۶۷ ^{a-f}	۲/۷۹ ^{a-e}	۳/۳۳ ^a	۲/۳۳ ^{d-k}	۰/۱۵	۲۵
۲/۴۱ ^{c-j}	۳/۰۶ ^{abc}	۲/۴۵ ^{b-i}	۱/۹۵ ^{g-o}	۰/۳	.
۲/۰۱ ^{f-n}	۱/۸۶ ^{i-o}	۱/۸۲ ^{i-o}	۱/۹۲ ^{g-o}	.	.
۲/۵۰ ^{b-i}	۱/۷۰ ^{k-o}	۲/۱۸ ^{d-l}	۱/۶۳ ^{k-o}	۰/۱۵	۵۰
۱/۸۱ ^{l-o}	۲/۱۰ ^{e-m}	۱/۵۰ ^{l-o}	۱/۵۰ ^{l-o}	۰/۳	.
۱/۴۱ ^{mno}	۱/۶۵ ^{k-o}	۱/۴۸ ^{l-o}	۱/۶۹ ^{k-o}	.	.
۱/۴۵ ^{mno}	۱/۵۷ ^{l-o}	۱/۷۲ ^{j-o}	۱/۲۶ ^o	۰/۱۵	۷۵
۱/۳۹ ^{no}	۱/۸۸ ^{h-o}	۱/۵۴ ^{l-o}	۱/۵۱ ^{l-o}	۰/۳	.

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۳-۲- اثر همزیستی قارچی بر محتوای کلروفیل *b* خرفه تحت سمیت کادمیوم

برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و تیمار همزیستی قارچی در گیاه خرفه نشان داد که میزان کلروفیل *b* در گیاهان شاهد (عدم تلقیح) با افزایش سطوح کادمیوم به میزان حدود ۳۶ درصد کاهش یافت اما در تمامی گیاهان تلقیح شده میزان کلروفیل *b* تا سطح ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک افزایش یافت. در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ کادمیوم میزان کلروفیل *b* در گیاهان تلقیح شده کاهش یافت، اما این روند کاهشی به مراتب کمتر از گیاهان شاهد (عدم تلقیح) بود. همچنین نتایج نشان داد، میزان کلروفیل *b* در گیاهان تلقیح شده در سطوح ۰، ۲۵ و ۵۰ کادمیوم بیشتر از گیاهان شاهد (عدم تلقیح) بود و این نشان دهنده‌ی تأثیر مثبت همزیستی قارچی بر افزایش کلروفیل *b* به ویژه در شرایط تنش است (شکل

۴-۳۸).

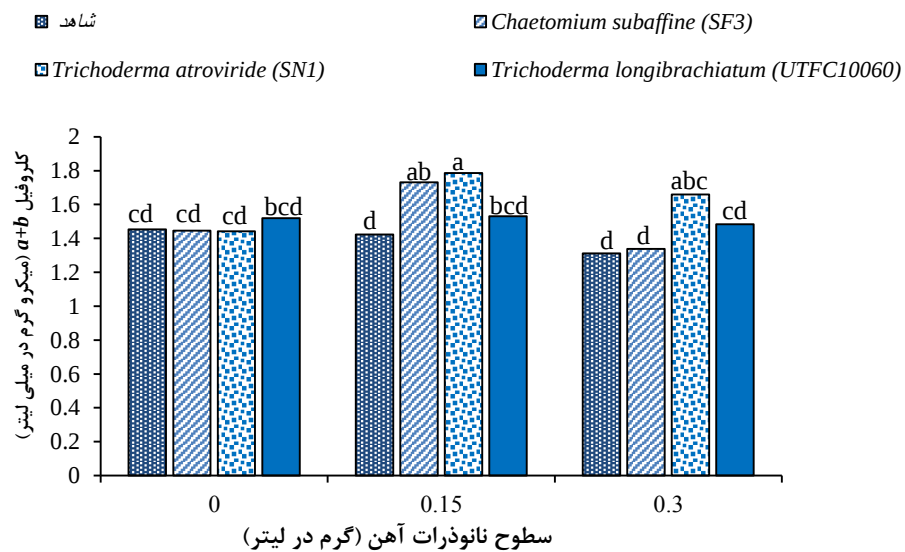


شکل ۴-۳۸- اثر همزیستی قارچی بر محتوای کلروفیل *b* خرفه تحت سمیت کادمیوم
ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۳-۴ اثر همزیستی قارچی و محلول‌پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل کل

خرفه

نتایج برهمکنش سطوح نانوذرات آهن و تیمار همزیستی قارچی در گیاه خرفه بیانگر اثر مثبت محلول-پاشی نانوذرات بر مجموع کلروفیل $a+b$ در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد بود. بر این اساس، بیشترین محتوای کلروفیل a و b در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) در سطح ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن (به ترتیب با ۱۶ و ۱۹ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد) مشاهده شد (شکل ۴-۳۹).

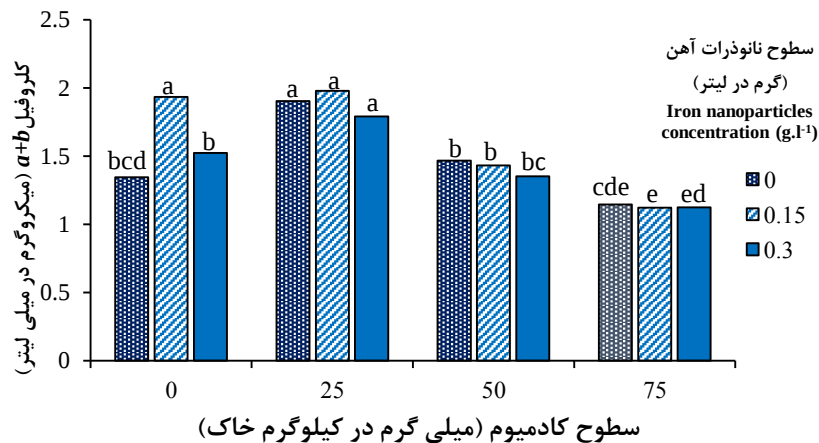


شکل ۴-۳۹- اثر همزیستی قارچی و محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل $a+b$ خرفه
ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۳-۴- اثر محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل کل خرفه تحت سمیت

کادمیوم

بررسی داده‌ها نشان داد محلول پاشی نانوذرات آهن در سطح صفر و ۲۵ کادمیوم سبب افزایش مجموع کلروفیل $a+b$ گردید به طوری که در سطح صفر کادمیوم، غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن موجب افزایش محتوای کل کلروفیل در حدود ۳۰ و ۱۲ درصد نسبت به سطح شاهد شد. در سطح ۵۰ کادمیوم علی‌رغم افزایش محتوای کلروفیل کل در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن، اختلاف معنی‌داری در مقایسه با سطح شاهد نداشت. اما در سطوح ۵۰ و ۷۵ کادمیوم محتوای کلروفیل $a+b$ کاهش یافت. در تمامی غلظت‌های محلول پاشی نانوذرات آهن بیشترین محتوای کلروفیل $a+b$ در سطح ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک مشاهده شد (شکل ۴-۴۰).



شکل ۴-۴- اثر محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل $a+b$ خرفه تحت سمیت کادمیوم
ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۳-۵- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر نسبت کلروفیل a/b

خرفه تحت سمیت کادمیوم

طبق نتایج هر چند با افزایش غلظت کادمیوم نسبت کلروفیل a/b چه در گیاهان تلقیح شده و چه در گیاهان شاهد از روند خاصی تبعیت نکرد، اما در مجموع محلول پاشی نانوذرات آهن سبب افزایش نسبت کلروفیل a/b نسبت به سطح صفر محلول پاشی گردید (جدول ۴-۳۰). بیشترین نسبت کلروفیل a به b در سطح ۵۰ و ۷۵ کادمیوم با حدود ۳۸ و ۲۴ درصد افزایش نسبت به شاهد به ترتیب در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) و *T. atroviride* (SN1) مشاهده شد.

جدول ۴-۳۰- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر نسبت کلروفیل *a/b* خرفه
تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۲/۴۴ ^{c-i}	۱/۵۹ ^{ijk}	۱/۹۲ ^{f-k}	۲/۱۰ ^{d-k}	.	.
۱/۵۷ ^{ijk}	۲/۱۹ ^{d-j}	۲/۴۵ ^{c-i}	۲/۰۸ ^{e-k}	۰/۱۵	.
۳/۷۹ ^a	۱/۲۶ ^k	۱/۷۸ ^{f-k}	۲/۲۴ ^{c-j}	۰/۳	.
۲/۱۱ ^{d-k}	۱/۴۸ ^{jk}	۲/۸۵ ^{b-e}	۳/۰۱ ^{a-d}	.	.
۲/۰۰ ^{e-k}	۱/۸۶ ^{f-k}	۲/۰۲ ^{e-k}	۲/۳۳ ^{c-j}	۰/۱۵	۲۵
۲/۱۵ ^{d-k}	۲/۲۱ ^{d-j}	۲/۷۰ ^{b-f}	۲/۰۷ ^{e-k}	۰/۳	.
۳/۴۸ ^{ab}	۱/۵۷ ^{ijk}	۲/۳۸ ^{c-j}	۲/۱۵ ^{d-k}	.	.
۲/۵۵ ^{c-h}	۱/۴۷ ^{jk}	۱/۸۵ ^{f-k}	۲/۳۳ ^{c-j}	۰/۱۵	۵۰
۲/۱۶ ^{d-k}	۱/۶۳ ^{h-k}	۱/۵۸ ^{ijk}	۱/۹۸ ^{e-k}	۰/۳	.
۱/۹۷ ^{e-k}	۲/۲۳ ^{c-j}	۲/۲۳ ^{c-j}	۲/۳۹ ^{c-j}	.	.
۲/۳۸ ^{c-j}	۲/۰۰ ^{e-k}	۱/۷۵ ^{g-k}	۲/۲۴ ^{c-j}	۰/۱۵	۷۵
۲/۵۹ ^{b-g}	۳/۱۵ ^{abc}	۲/۱۴ ^{d-k}	۲/۲۸ ^{l-o}	۰/۳	.

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۳-۴- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای کاروتنوئید

خرفه تحت سمیت کادمیوم

برهمکنش سه گانه تیمارها در این مرحله از آزمایش نشان داد، محتوای کاروتنوئید در گیاهان تلقیح شده در تمامی سطوح کادمیوم خاک به جز سطح صفر کادمیوم بیشتر از گیاهان شاهد (عدم تلقیح) بود. به علاوه محلول‌پاشی نانوذرات آهن تأثیر مثبتی بر میزان کاروتنوئید داشت به طوری‌که در سطح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کادمیوم بیشترین میزان کاروتنوئید در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن با حدود ۴۴، ۳۳ و سه درصد افزایش نسبت به سطح شاهد به ترتیب در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *T. longibrachiatum* (UTFC10060)، *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) مشاهده شد (جدول ۴-۳۱).

جدول ۴-۳۱- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای کاروتنوئید

(میکروگرم در میلی لیتر) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	(میلی گرم در کیلوگرم خاک)
۰/۷۱۳ ^{g-n}	۰/۵۸۱ ^{j-o}	۰/۵۲۹ ^{l-o}	۰/۸۷۸ ^{b-k}	.	.
۰/۶۶۹ ⁱ⁻ⁿ	۰/۵۸۱ ^{j-o}	۰/۵۲۹ ^{l-o}	۰/۲۷۲ ^o	۰/۱۵	.
۰/۷۱۰ ^{g-n}	۰/۷۳۳ ^{f-n}	۰/۷۵۱ ^{f-n}	۰/۸۲۵ ^{d-m}	۰/۳	.
۰/۹۰۹ ^{b-j}	۰/۶۱۶ ⁱ⁻ⁿ	۰/۶۷۲ ⁱ⁻ⁿ	۰/۶۰۸ ^{j-n}	.	.
۰/۹۰۹ ^{b-j}	۰/۸۲۷ ^{d-m}	۰/۶۷۲ ⁱ⁻ⁿ	۰/۵۷۴ ^{k-o}	۰/۱۵	۲۵
۰/۶۸۵ ^{h-n}	۰/۸۲۷ ^{d-m}	۰/۵۶۷ ^{k-o}	۰/۷۷۴ ^{e-n}	۰/۳	.
۰/۶۵۱ ⁱ⁻ⁿ	۰/۸۹۵ ^{b-k}	۱/۰۰۶ ^{a-h}	۰/۷۰۳ ^{h-n}	.	.
۱/۲۵۸ ^a	۰/۸۲۲ ^{d-m}	۱/۲۵۹ ^a	۰/۶۲۱ ⁱ⁻ⁿ	۰/۱۵	۵۰
۱/۱۹۱ ^{abc}	۱/۰۴۸ ^{a-f}	۱/۰۳۸ ^{a-g}	۰/۹۴۳ ^{a-i}	۰/۳	.
۰/۵۰۸ ^{mno}	۰/۴۸۲ ^{no}	۰/۶۷۳ ⁱ⁻ⁿ	۱/۱۶۹ ^{abc}	.	.
۰/۹۴۱ ^{a-i}	۱/۲۰۶ ^{ab}	۱/۰۸۸ ^{a-e}	۰/۸۰۵ ^{e-n}	۰/۱۵	۷۵
۰/۸۹۱ ^{b-k}	۱/۱۳۸ ^{a-d}	۱/۰۴۲ ^{a-g}	۰/۸۶۱ ^{c-l}	۰/۳	.

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۷- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان شاخص سبزی‌نگی

برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم

شاخص سبزی‌نگی برگ با افزایش غلظت کادمیوم هم در گیاهان تلقیح شده و هم در گیاهان شاهد کاهش یافت، اما به مراتب این کاهش در گیاهان تلقیح شده کمتر از شاهد (عدم تلقیح) بود. در تمامی سطوح کادمیوم استفاده از نانوذرات آهن در گیاهان تلقیح شده سبب بهبود شاخص سبزی‌نگی برگ گردید. در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) میزان شاخص سبزی‌نگی برگ در سطح ۲۵ کادمیوم در غلظت ۰/۱۵ نانوذرات آهن، حدود ۹ درصد و در سطح ۵۰ کادمیوم در غلظت ۰/۳ نانوذرات آهن، حدود ۲۱ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) بیشتر بود. بیشترین شاخص سبزی‌نگی برگ نیز در سطح ۷۵ کادمیوم و در غلظت ۰/۱۵ نانوذرات آهن (با حدود ۳۶ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) مشاهده شد (جدول

۴-۳۲).

جدول ۴-۳۲- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان شاخص سبزینگی برگ خرفه تحت سمیت کادمیوم

<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	همزیستی قارچی		شاهد	نانوذرات آهن (گرم در لیتر)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)			
۳۳/۵ ^a	۳۱/۸ ^{a-d}	۳۱ ^{a-f}	۳۰/۵ ^{a-g}	.	.
۳۲/۹ ^{ab}	۳۲/۰۶ ^{a-d}	۳۲/۰۳ ^{a-d}	۳۲/۹ ^{abc}	۰/۱۵	.
۳۲/۷ ^{abc}	۳۲/۳ ^{abc}	۳۲/۹ ^{ab}	۳۰/۴ ^{a-g}	۰/۳	.
۳۲/۴ ^{abc}	۳۱/۴ ^{a-f}	۳۱/۸ ^{a-d}	۳۰/۲ ^{a-g}	.	.
۳۱/۷ ^{a-e}	۳۳/۱ ^{ab}	۳۱/۷ ^{a-e}	۳۰/۴ ^{a-g}	۰/۱۵	۲۵
۲۹/۸ ^{a-h}	۳۱/۰۶ ^{a-f}	۳۰/۰۳ ^{a-h}	۲۹/۴ ^{b-i}	۰/۳	.
۲۷/۹ ^{e-k}	۲۹/۷ ^{b-h}	۲۵/۴ ^{jkl}	۲۵/۸ ^{g-o}	.	.
۳۰/۸ ^{a-f}	۳۱/۷ ^{a-d}	۳۰/۹ ^{a-f}	۳۱/۱ ^{a-f}	۰/۱۵	۵۰
۲۷/۷ ^{f-k}	۳۲/۷ ^{abc}	۲۹/۵ ^{b-i}	۲۹/۱ ^{c-j}	۰/۳	.
۲۴/۹ ^{kl}	۲۷/۸ ^{f-k}	۲۳/۴ ^{lm}	۲۱/۱ ^m	.	.
۳۲/۹ ^{abc}	۲۸/۴ ^{d-k}	۲۷/۰۳ ^{g-l}	۲۶/۳ ^{h-l}	۰/۱۵	۷۵
۳۱/۰۶ ^{a-f}	۲۷/۷ ^{f-k}	۲۵/۸ ^{i-l}	۲۵/۵ ^{jkl}	۰/۳	.

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

گزارش‌های زیادی مبنی بر کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در حضور کادمیوم وجود دارد. سلطانی و همکاران (۱۳۸۵) نشان دادند که کادمیوم به طور معنی‌داری سبب کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیل *a* و *b* کلزا در غلظت‌های ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار می‌شود. در سویا نیز کاهش میزان کلروفیل و نیز فتوسنتز در اثر افزایش غلظت کادمیوم گزارش شده است (ایکسو و همکاران، ۲۰۱۳). کاظم علیلو و صدقیانی (۱۳۹۱) نیز عنوان کردند که با افزایش غلظت کادمیوم در خاک از غلظت کلروفیل *a* و *b* در برگ‌های گیاه بنگدانه (*Hyoscyamus niger*) به طور معنی‌داری کاسته می‌شود. کادمیوم با آسیب به غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست، ظرفیت فتوسنتزی گیاه را به شدت کاهش داده و باعث توقف رشد در گیاه می‌گردد. کاهش میزان ذخیره کلروفیل در برگ می‌تواند به دلیل مهار سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی توسط کادمیوم از طریق بازدارندگی بر جذب عناصر غذایی ضروری نظیر آهن، منگنز و منیزیم باشد (واسیلو و یوردانو، ۱۹۹۷). جیانپنگ و همکاران (۲۰۱۰) نیز مهار انتقال آهن نشاندار را در اندام‌های گیاهان تحت تیمار با کادمیوم گزارش کردند، علت این امر این است که کادمیوم با عناصر

مغذی ضروری که در سنتز کلروفیل نقش اساسی دارند، در رقابت بوده و با جایگزین شدن در فرایند جذب ریشه‌ای از طریق پروتئین‌های ناقل موجود در غشای سلولی، جای این فلزات را در ساختار مولکول کلروفیل اشغال کرده و مانع سنتز این رنگیزه می‌گردد و یا با جلوگیری از جذب نور، باعث از بین رفتن کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌شود؛ از طرفی کاروتنوئیدها در طی تنش‌های اکسیداتیو القا شده به عنوان یک سیستم حفاظتی عمل کرده و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند. کاهش رنگیزه‌های کاروتنوئیدی به دلیل نقش آن‌ها در سمیت‌زدایی کلروفیل و فرونشانی کلروفیل‌های برانگیخته و ممانعت از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن است که در نهایت باعث از هم پاشیدن ساختار کاروتنوئیدها می‌گردد (سانیتا و گابریلی، ۱۹۹۰). کاهش محتوای کاروتنوئید با افزایش غلظت کادمیوم در مطالعات شی و همکاران (۲۰۱۰) در گیاه گلرنگ، سلطانی و همکاران (۱۳۸۵) در گیاه کلزا و بارنده و کاووسی (۱۳۹۵) در گیاه عدس نیز پیش‌تر گزارش شده است. در این آزمایش همزیستی قارچی موجب افزایش محتوای کلروفیل در گیاه خرفه گردیده است. در همین زمینه، زارع و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ اندوفیت می‌تواند به علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان تلقیح شده باشد. همچنین در شرایط تنش، تلقیح قارچی با تأثیر بر سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی، گونه‌های فعال اکسیژن را جمع‌آوری و از تخریب کلروفیل جلوگیری خواهد کرد (کاپور و همکاران، ۲۰۰۸). خلیقی جمال آباد و خارا (۱۳۸۷) نشان دادند؛ میزان کلروفیل هم در گیاهان میکوریزایی و هم غیرمیکوریزایی کاهش می‌یابد اما این کاهش در گیاهان میکوریزایی پایین‌تر از گیاهان غیرمیکوریزایی است. همچنین دمیر (۲۰۰۴) بیان داشت که محتوای کلروفیل گیاهان فلفل همزیست با قارچ *G. intraradices* در مقایسه با گیاهان کنترل غیرمیکوریزایی بالاتر بود. در این آزمایش با محلول‌پاشی نانوذرات آهن محتوای کلروفیل گیاه افزایش یافت. در این زمینه پیوندی و همکاران (۱۳۹۰ب) نشان دادند در گیاه ریحان کاربرد کلات آهن در غلظت کم و همه‌ی غلظت‌های نانو آهن موجب افزایش در غلظت کلروفیل a می‌شود، همچنین، کاربرد کود نانو آهن در همه غلظت‌ها در افزایش میزان کلروفیل b مؤثرتر از همه غلظت‌های کلات آهن

بود. در تحقیقی دیگر نیز نشان داده شد که محلول پاشی آهن سبب افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید در گیاه پنبه گردید (نوری حسینی، ۱۳۸۴). آهن در فرآیندهای اکسیداسیون و احیا نقش دارد و با تغییر ظرفیت سبب انتقال الکترون می شود که این نقش در متابولیسم گیاهی بسیار مهم است. وجود آهن در سنتز پروتئین لازم است و از آنجایی که نقش عمده آهن در سنتز پروتئین های همراه کلروفیل است کمبود آن ساختار کلروپلاست و میزان فتوسنتز را کاهش می دهد (بریات و همکاران، ۲۰۱۵).

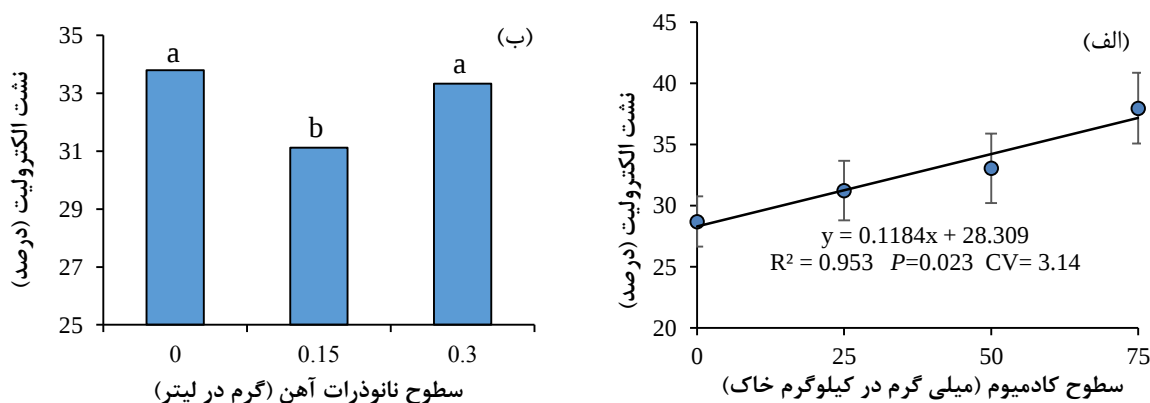
۴-۳-۱-۳-۸- روند پاسخ نشت الکترولیت به سطوح مختلف کادمیوم خاک و محلول پاشی

نانوذرات آهن در خرفه

پاسخ نشت الکترولیت به سطوح کادمیوم خاک به صورت خطی (با ضریب تبیین ۰/۹۵) بود. با افزایش غلظت کادمیوم خاک نشت الکترولیت با شیب ۰/۱۱۸ واحد و به میزان حدود ۲۴ درصد نسبت به سطح شاهد افزایش یافت (شکل ۴-۴۱-الف). کادمیوم همانند فلزات سنگین دیگر با اثر بر پیوندهای محتوی نیتروژن و گوگرد پروتئین ها موجب تخریب کانال های غشایی و نشت یون ها می شود (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۷). نتایج پوراکبر و اشرفی (۱۳۹۰) نشان داد که با افزایش میزان کلرید کادمیوم میزان نشت یونی در گیاه ذرت افزایش پیدا کرد، ولی این افزایش تنها در سطح ۱۰۰ میکرومولار معنی دار بود. دالوند گماری و افتخاری (۱۳۹۷) نیز بیان کردند که در غلظت ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم نشت الکترولیت به میزان ۲۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت.

محلول پاشی نانوذرات آهن در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر سبب کاهش شش درصدی میزان نشت الکترولیت نسبت به سطح شاهد (عدم محلول پاشی) گردید. در سطح ۰/۳ گرم در لیتر میزان نشت الکترولیت نسبت به غلظت ۰/۱۵، حدود پنج درصد افزایش، اما نسبت به سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۴-۴۱-ب). زاگو و اوتیزا (۲۰۰۱) اظهار داشته اند، عنصر آهن از طریق افزایش فعالیت سیستم های آنتی اکسیدانی گیاهان در تعدیل رادیکال های آزاد و اثرات تخریبی آن ها در سیستم های غشایی نقش مهمی را ایفا می کند، بنابراین به نظر می رسد، محلول پاشی نانوذرات آهن با افزایش تحمل گیاه به شرایط

تنش، از طریق افزایش تولید آنزیم‌های حذف کننده رادیکال‌های آزاد، باعث گردید، گیاه دیرتر با شرایط تنش مواجه شود و در نتیجه درصد نشت کمتری داشته باشد. در همین زمینه کاشانی و همکاران (۱۳۹۸) بیان کردند که با افزایش سطح شوری نشت الکترولیت در تیمار محلول پاشی نانوذرات آهن افزایش یافت. اما به دلیل نقش آهن در افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز، طی کاربرد نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایداری شده میزان گونه‌های اکسیژن فعال کاهش یافته و در نتیجه نشت الکترولیت با شیب بسیار ملایم 0.074% واحد افزایش نشان داد. سعیدی ابواسحاقی و همکاران (۱۳۹۳) نیز کاهش نشت الکترولیت برگ‌های لوبیا قرمز در اثر محلول پاشی عناصر آهن و روی را گزارش نموده‌اند.



شکل ۴-۴۱- روند پاسخ نشت الکترولیت به سطوح مختلف کادمیوم خاک (الف) و نانوذرات آهن (ب) در خرفه ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۳-۹- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای نسبی آب برگ

خرفه تحت سمیت کادمیوم

بر اساس یافته‌های حاصل از اثرات سه‌گانه تیمارهای آزمایشی، در غلظت‌های مختلف کادمیوم محتوای نسبی آب برگ در تمامی تیمارهای همزیستی قارچی نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح) بیشتر بود. همچنین در سطح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کادمیوم و تیمارهای قارچی، بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ در غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن مشاهده شد. در سطح ۲۵ و ۵۰

کادمیوم، محتوای نسبی آب برگ در حضور قارچ *T. atroviride* (SN1)، به ترتیب ۱۱ و ۱۶ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و عدم محلول پاشی) افزایش یافت. همچنین تلقیح قارچ *C. subaffine* (SF3) سبب افزایش حدود ۲۴ درصدی محتوای نسبی آب برگ نسبت به گیاهان شاهد در غلظت ۷۵ کادمیوم گردید (جدول ۴-۳۳). بسیاری از فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی آب در گیاهان باعث بسته شدن روزنه‌های برگ می‌شوند و در نتیجه جریان آب را در گیاهان متوقف می‌سازند (شارما و دوبی، ۲۰۰۵). از طرفی سمیت کادمیوم سبب از بین رفتن تعادل آب سلول می‌شود، که به وسیله شاخص محتوای نسبی آب برگ مشخص می‌گردد. کادمیوم با کاهش طول ریشه، کاهش میزان انتقال مواد از ریشه به شاخساره، کاهش قابلیت تراوایی ریشه، کاهش اندازه و تعداد آوندهای چوبی، افزایش چوب پنبه‌ای شدن و لیگنینی شدن ریشه و جلوگیری از تولید ریشه‌های مؤثر موجب ایجاد اختلال در جذب آب و به هم ریختن تعادل آبی در گیاه می‌گردد (بارسلو و پوسچنریدر، ۱۹۹۰). کاهش محتوای نسبی آب برگ با افزایش غلظت کادمیوم خاک در گیاه خرفه (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۷)، بنگدانه (کاظم علیلو و صدیقیانی، ۱۳۹۱)، گل گندم (برین و همکاران، ۱۳۹۴) و کاهو (فرخ و همکاران، ۲۰۱۱) توسط پژوهشگران گزارش شده است. به نظر می‌رسد که قارچ‌های همزیست احتمالاً از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریشه‌های قارچ، میزان آب بیشتری جذب کرده و باعث بهبود روابط آبی گیاهان در شرایط تنش می‌گردند (ایگو و همکاران، ۲۰۱۵). در همین زمینه حاجی نیا و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ *پیریفورموسپورا* ممکن است؛ به دلیل سازوکار قدرتمند آن در تنظیم اسمزی باشد، چرا که بیشترین میزان تجمع کربوهیدرات‌های محلول و پرولین در این تیمار وجود دارد و چون گیاهان تلقیح شده امکان بیشتری برای تداوم فتوسنتز و تولید اسیدهای آلی جهت تأمین ساختارهای کربنی و انرژی برای تنظیم اسمزی داشته‌اند، در نتیجه با محیط اطراف خود سریع‌تر سازگار شده و توانستند جذب آب بهتری را انجام دهند. سراج و همکاران (۱۳۹۶) نیز گزارش کردند که در گیاه گندم تلقیح با قارچ‌های *پیریفورموسپورا* و *تریکودرما* موجب افزایش محتوای

نسبی آب برگ گردید. میرشکاری (۱۳۹۵) با بررسی اثر سویه‌های مختلف قارچ میکوریز تحت تنش کم‌آبی بیان کرد که تنش کمبود آب به طور معنی‌دار باعث کاهش صفت RWC می‌شود. ایشان همچنین اظهار کردند که قارچ میکوریز باعث تقویت میزان درصد RWC می‌شود همچنین از بین گونه‌های قارچی میکوریز مورد استفاده بیشترین تأثیر معنی‌دار روی صفت RWC مربوط به گونه *G. mosseae* بود. از طرفی کاهش محتوای نسبی آب برگ در گیاه بنگدانه تحت تنش کادمیوم (کاظم‌علیلو و رسولی‌صدقیانی، ۱۳۹۱) در تلقیح با قارچ میکوریز و استویا تحت تنش کادمیوم (سلیمی تملی، ۱۳۹۵) در تلقیح با قارچ پیریفورموسیپورا توسط پژوهشگران گزارش شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد. در پژوهش حاضر نیز کاربرد نانوذرات آهن سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد شد. افزایش در محتوای نسبی آب برگ در گیاه لوبیا سبز تحت تأثیر نانوذرات اکسید آهن توسط نوذری‌راد و همکاران (۱۳۹۵) و در گیاه کلزا با کاربرد نانوذرات آهن تحت تنش شوری توسط کاشانی و همکاران (۱۳۹۸) گزارش گردید.

جدول ۴-۳- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر محتوای نسبی آب برگ
(درصد) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			شاهد	نانوذرات آهن (گرم در لیتر)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)			
۵۶/۷۰ ^{f-m}	۶۷/۹۹ ^{ab}	۶۵/۶۳ ^{a-f}	۵۸/۸۲ ^{b-l}	۰	
۷۴/۴۲ ^a	۶۷/۲۹ ^{a-d}	۶۷/۵۵ ^{abc}	۶۰/۴۱ ^{b-k}	۰/۱۵	۰
۶۷/۸۳ ^{ab}	۶۶/۷۶ ^{a-e}	۶۵/۵۶ ^{a-f}	۶۱/۲۴ ^{b-j}	۰/۳	
۵۸/۰۹ ^{d-m}	۶۰/۹۵ ^{b-j}	۶۲/۰۶ ^{b-i}	۵۸/۲۱ ^{c-m}	۰	
۶۲/۴۲ ^{b-i}	۶۳/۰۵ ^{b-h}	۶۲/۹۲ ^{b-i}	۵۷/۴۲ ^{e-m}	۰/۱۵	۲۵
۵۸/۶۴ ^{b-l}	۶۵/۶۰ ^{a-f}	۶۲/۳۷ ^{b-i}	۶۰/۵۰ ^{b-k}	۰/۳	
۵۹/۷۷ ^{b-k}	۵۹/۸۷ ^{b-k}	۵۹/۸۰ ^{b-k}	۵۴/۹۵ ^{h-m}	۰	
۵۶/۹۶ ^{f-m}	۶۵/۴۴ ^{a-g}	۶۳/۰۳ ^{b-h}	۵۱/۷۳ ^{k-n}	۰/۱۵	۵۰
۵۵/۱۵ ^{h-m}	۵۲/۷۰ ^{j-m}	۵۷/۴۸ ^{e-m}	۵۹/۱۴ ^{b-l}	۰/۳	
۵۲/۵۸ ^{j-m}	۵۱/۶۷ ^{k-n}	۶۴/۱۲ ^{b-h}	۴۸/۸۷ ^{mn}	۰	
۵۲/۴۶ ^{j-m}	۵۳/۵۷ ^{i-m}	۴۸/۸۶ ^{mn}	۵۶/۱۸ ^{g-m}	۰/۱۵	۷۵
۵۶/۳۱ ^{f-m}	۵۰/۰۱ ^{lmn}	۵۱/۶۳ ^{k-n}	۴۲/۵۲ ⁿ	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۴- اثر قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن بر صفات بیوشیمیایی گیاه خرفه

تحت تنش کادمیوم

تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی نشان داد که اثر ساده کادمیوم و همزیستی قارچی بر تمام صفات بیوشیمیایی مذکور در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر ساده نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و محتوای مالون دی آلدئید در سطح احتمال پنج درصد و بر فعالیت آنزیم گایامول پراکسیداز و میزان پروتئین محلول و پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. برهمکنش کادمیوم و همزیستی قارچی در تمامی صفات بیوشیمیایی به جز فعالیت کاتالاز و محتوای مالون دی آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بین کادمیوم و نانوذرات آهن نیز در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و پروتئین محلول، پرولین و پراکسید هیدروژن برهمکنش معنی‌داری مشاهده شد. برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن در تمامی صفات مذکور به جز فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و محتوای مالون دی آلدئید معنی‌دار بود. اثر متقابل قارچ و نانوذرات آهن تحت سمیت کادمیوم نیز بر تمام صفات بیوشیمیایی معنی‌دار بود (جدول ۴-۳۴).

جدول ۴-۳۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات بیوشیمیایی خرفه

منابع تغییر	درجه آزادی	آنزیم‌های آنتی اکسیدانی				پرولین	مالون دی آلدئید	پراکسید هیدروژن
		سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز			
کادمیوم (A)	۳	۰/۷۳۵**	۸/۹۹**	۵۲۵/۲**	۵۱۴۷۶/۴**	۳/۳۳**	۰/۰۰۹۵**	۰/۲۶۷**
قارچ (B)	۳	۰/۵۷۸**	۱۳/۰۱**	۵۴۷/۷**	۹۵۳۰/۱**	۱/۵۰**	۰/۰۰۲۸**	۰/۰۵۵**
نانوذرات آهن (C)	۲	۰/۰۲۴*	۰/۳۸۴ ^{ns}	۳۰/۴۴**	۹۳۰/۹۴ ^{ns}	۲/۸۵**	۰/۰۰۰۵**	۰/۰۰۳ ^{ns}
A×B	۹	۰/۰۳۵**	۰/۲۹۴ ^{ns}	۳۰/۵۷**	۱۵۵۳/۵**	۰/۷۰۰**	۰/۰۰۰۲**	۰/۰۰۷**
A×C	۶	۰/۰۱۲ ^{ns}	۲/۲۴**	۲/۸۷ ^{ns}	۸۰۴۸/۶**	۰/۳۷۴*	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰۴*
B×C	۶	۰/۰۴۲**	۲/۳۹**	۱۰/۵۷ ^{ns}	۴۰۱۸/۰۴**	۱/۳۷**	۰/۰۰۰۲**	۰/۰۰۵*
A×B×C	۱۸	۰/۰۳۲**	۱/۵۰**	۱۱/۳۶**	۵۶۲۷/۱۷**	۰/۸۲۸**	۰/۰۰۰۲**	۰/۰۰۳*
خطای آزمایش	۹۶	۰/۰۰۶	۰/۱۹۳	۴/۹۸	۳۹۸/۵۱	۰/۱۶۵	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (درصد)		۵/۰۵	۱۹/۲۳	۱۲/۸۴	۱۱/۵۶	۱۰/۸۳	۱۶/۷۸	۱۴/۳۷
		۱۲/۹۵						

^{ns} و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۳-۱-۴-۱- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم

سوپراکسید دیسموتاز خرفه تحت سمیت کادمیوم

آنالیز فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در این مرحله از آزمایش نشان داد، در مجموع با افزایش سمیت کادمیوم، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت که این میزان در سطح ۷۵ کادمیوم و گیاهان شاهد به حداکثر خود رسید. در سطح صفر کادمیوم میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان شاهد و تلقیح با قارچ‌های *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن به ترتیب با حدود شش، ۲۶ و ۲۰ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و عدم محلول‌پاشی) کاهش یافت. در سطح ۲۵ کادمیوم افزایش غلظت نانوذرات آهن موجب کاهش چهار درصدی فعالیت آنزیمی در گیاهان شاهد و تلقیح با قارچ *Trichoderma atroviride* (SN1) شد. در حالیکه در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) کمترین فعالیت آنزیمی به ترتیب در سطح صفر و ۰/۱۵ گرم بر لیتر نانوذرات آهن بود. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح ۵۰ کادمیوم با افزایش غلظت نانوذرات آهن افزایش یافت. کمترین فعالیت آنزیمی در سطح ۷۵ کادمیوم در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) و عدم کاربرد نانوذرات آهن با حدود ۲۴ درصد کاهش نسبت به شاهد (عدم تلقیح و عدم محلول‌پاشی) به ثبت رسید (جدول ۴-۳۵).

جدول ۴-۳۵- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۱/۳۱۶ ^{n-q}	۱/۲۸۸ ^{opq}	۱/۳۰۱ ^{opq}	۱/۶۲۰ ^{e-i}	۰	۰
۱/۳۳۵ ^{m-p}	۱/۲۳۰ ^{pq}	۱/۴۱۰ ^{l-o}	۱/۷۱۳ ^{b-f}	۰/۱۵	
۱/۲۹۱ ^{opq}	۱/۲۰۰ ^q	۱/۴۹۳ ^{i-l}	۱/۵۲۰ ^{h-l}	۰/۳	
۱/۵۱۳ ^{h-l}	۱/۴۵۲ ^{klm}	۱/۲۸۶ ^{opq}	۱/۷۶۹ ^{bcd}	۰	
۱/۳۰۹ ^{n-q}	۱/۴۰۶ ^{l-o}	۱/۴۳۰ ^{lmn}	۱/۷۶۴ ^{bcd}	۰/۱۵	۲۵
۱/۶۱۶ ^{e-i}	۱/۳۹۲ ^{l-o}	۱/۵۹۶ ^{g-j}	۱/۶۰۶ ^{f-i}	۰/۳	
۱/۶۳۳ ^{e-h}	۱/۴۷۳ ^{ijkl}	۱/۵۹۱ ^{g-j}	۱/۸۲۹ ^{abc}	۰	
۱/۷۶۷ ^{bcd}	۱/۶۶۳ ^{d-g}	۱/۶۱۷ ^{e-i}	۱/۶۷۰ ^{d-g}	۰/۱۵	
۱/۷۷۲ ^{bcd}	۱/۵۰۱ ^{i-l}	۱/۷۴۲ ^{b-e}	۱/۹۴۴ ^a	۰/۳	۵۰
۱/۴۷۴ ^{ijkl}	۱/۶۹۰ ^{d-g}	۱/۵۸۹ ^{g-j}	۱/۹۴۸ ^a	۰	
۱/۵۸۵ ^{g-j}	۱/۶۰۱ ^{g-j}	۱/۸۴۰ ^{ab}	۱/۷۰۷ ^{c-f}	۰/۱۵	
۱/۵۷۱ ^{g-k}	۱/۶۵۰ ^{d-g}	۱/۶۶۱ ^{d-g}	۱/۹۳۳ ^a	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۲- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز

خرفه تحت سمیت کادمیوم

بر طبق نتایج، با افزایش سمیت کادمیوم روند فعالیت آنزیم کاتالاز افزایشی بود، به طوری که در سطح ۷۵ کادمیوم در گیاهان شاهد (عدم تلقیح) و غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن با حدود ۶۱ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و عدم محلول‌پاشی) به حداکثر میزان رسید، در حالیکه در همین سطح از کادمیوم و نانوذرات کمترین میزان فعالیت کادمیوم با ۵۵ درصد کاهش مربوط به گیاهان همزیست شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) بود. بنابراین همزیستی قارچی موجب افزایش کمتری در فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح) گردید. در سطح صفر کادمیوم با افزایش غلظت نانوذرات آهن فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان شاهد ۱۷ درصد افزایش پیدا کرد، اما در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات با هفت و ۶۲ درصد کاهش نسبت به سطح شاهد به کمترین میزان خود رسید. در سطح

۲۵ کادمیوم محلول پاشی نانوذرات از روند خاصی تبعیت نکرد، به طوری که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز با حدود ۴۵ درصد افزایش در گیاهان شاهد و غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات و کمترین میزان فعالیت آنزیم با حدود ۵۵ درصد کاهش در گیاهان همزیست شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) و عدم کاربرد نانوذرات آهن به ثبت رسید. در سطح ۵۰ کادمیوم افزایش غلظت نانوذرات آهن موجب کاهش حدود ۱۶ و ۵۰ درصدی فعالیت آنزیمی نسبت به عدم محلول پاشی در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) شد (جدول ۴-۳۶).

جدول ۴-۳۶- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۹۳۲ ^{uv}	۱/۵۲۶ ^{p-u}	۱/۷۷۴ ^{l-s}	۱/۷۱۳ ^{m-t}	۰	
۱/۱۸۲ ^{s-v}	۰/۶۴۹ ^v	۱/۵۹۱ ^{o-u}	۱/۷۵۷ ^{l-s}	۰/۱۵	۰
۱/۳۲۱ ^{q-v}	۱/۲۵۷ ^{t-v}	۲/۸۰۳ ^{e-h}	۲/۰۶۳ ^{i-p}	۰/۳	
۱/۰۰۰ ^{uv}	۲/۰۹۱ ^{i-p}	۲/۰۵۹ ^{i-p}	۲/۲۲۰ ^{h-p}	۰	
۲/۲۲۶ ^{h-p}	۲/۰۱۲ ^{i-q}	۱/۷۶۹ ^{l-s}	۴/۰۳۶ ^{ab}	۰/۱۵	۲۵
۱/۲۱۴ ^{s-v}	۲/۶۲۵ ^{e-j}	۲/۶۹۸ ^{e-i}	۱/۶۱۱ ^{o-u}	۰/۳	
۲/۰۸۵ ^{i-p}	۳/۲۱۲ ^{c-f}	۲/۶۸۳ ^{e-i}	۳/۶۹۰ ^{bcd}	۰	
۱/۰۸۱ ^{s-v}	۱/۶۳۵ ^{n-u}	۲/۵۷۸ ^{f-j}	۳/۷۸۹ ^{abc}	۰/۱۵	۵۰
۱/۰۴۳ ^{uv}	۲/۳۲۶ ^{g-n}	۲/۲۵۱ ^{h-o}	۳/۳۱۳ ^{cde}	۰/۳	
۲/۴۹۱ ^{g-k}	۳/۰۰۳ ^{d-g}	۴/۱۹۷ ^{ab}	۴/۰۴۲ ^{ab}	۰	
۱/۷۸۳ ^{k-s}	۲/۸۸۳ ^{e-h}	۲/۳۷۸ ^{g-m}	۴/۴۱۵ ^a	۰/۱۵	۷۵
۲/۵۹۵ ^{f-j}	۲/۴۵۹ ^{g-l}	۱/۹۵۱ ^{j-r}	۳/۶۸۲ ^{bcd}	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۳- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم گایاکول

پراکسیداز خرفه تحت سمیت کادمیوم

بر طبق نتایج در تمامی غلظت‌های کادمیوم میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاهان شاهد بیشتر از گیاهان تلقیح شده بود که بیانگر کاهش میزان تنش حاصل از سمیت کادمیوم در گیاهان

همزیست شده است. تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات آهن در سطوح مختلف کادمیوم و قارچ متفاوت است به طوری که در سطح صفر کادمیوم کاربرد غلظت ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن موجب کاهش ۵۱ درصدی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاهان تلقیح شده با قارچ (*T. atroviride* (SN1) نسبت به شاهد گردید. بیشترین تغییرات فعالیت آنزیمی در سطح ۲۵ کادمیوم، در گیاهان شاهد و غلظت ۰/۱۵ گرم بر لیتر نانوذرات آهن (با حدود ۲۵ درصد افزایش نسبت به عدم کاربرد نانوذرات آهن) مشاهده شد. در سطح ۵۰ کادمیوم محلول‌پاشی نانوذرات آهن موجب افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های (*C. subaffine* (SF3) و (*T. atroviride* (SN1) (با حدود ۱۷ و سه درصد افزایش نسبت به عدم کاربرد نانوذرات آهن) و کاهش فعالیت این آنزیم در گیاهان شاهد و همزیست شده با قارچ (*T. longibrachiatum* (UTFC10060) (با حدود پنج و ۲۱ درصد کاهش نسبت به عدم کاربرد نانوذرات آهن) شد. با افزایش غلظت نانوذرات آهن در سطح ۷۵ کادمیوم خاک، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاهان شاهد و همزیست شده با قارچ‌های (*C. subaffine* (SF3) و (*T. longibrachiatum* (UTFC10060) (نسبت به عدم محلول‌پاشی در همین سطح از کادمیوم) کاهش یافت (جدول ۴-۳۷).

جدول ۴-۳۷- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن	
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک) (گرم در لیتر)
۱۲/۹۴ ^{p-v}	۹/۳۴ ^{vw}	۱۳/۸۲ ^{o-t}	۱۷/۶۰ ^{j-m}	۰
۱۰/۹۷ ^{t-w}	۱۲/۵۶ ^{q-v}	۱۳/۴۴ ^{o-u}	۱۳/۶۹ ^{o-t}	۰/۱۵
۹/۸۸ ^{uvw}	۸/۶۰ ^w	۱۴/۹۷ ^{l-r}	۱۷/۹۵ ^{i-l}	۰/۳
۱۳/۹۷ ^{n-s}	۹/۵۸ ^{vw}	۱۶/۸۱ ^{k-o}	۱۷/۸۹ ^{i-l}	۰
۱۴/۰۸ ^{m-s}	۱۳/۳۹ ^{o-u}	۱۶/۲۳ ^{k-p}	۲۳/۷۷ ^{c-f}	۰/۱۵
۱۴/۰۶ ^{m-s}	۱۰/۳۱ ^{t-w}	۱۶/۴۰ ^{k-p}	۲۲/۷۶ ^{c-g}	۰/۳
۲۲/۱۸ ^{e-h}	۱۱/۶۸ ^{r-w}	۱۶/۱۶ ^{k-q}	۲۵/۵۷ ^{a-d}	۰
۲۰/۴۸ ^{f-j}	۱۲/۰۸ ^{r-w}	۱۸/۶۱ ^{h-k}	۲۳/۰۰ ^{c-g}	۰/۱۵
۱۷/۵۵ ^{j-n}	۱۲/۰۱ ^{r-w}	۱۹/۳۹ ^{g-k}	۲۴/۳۹ ^{b-e}	۰/۳
۲۶/۰۱ ^{abc}	۱۶/۷۲ ^{k-o}	۲۳/۳۴ ^{c-f}	۲۸/۰۷ ^a	۰
۲۰/۷۱ ^{f-j}	۱۵/۹۶ ^{k-q}	۲۱/۴۵ ^{e-i}	۲۷/۷۵ ^{ab}	۰/۱۵
۲۲/۷۳ ^{c-g}	۱۸/۹۷ ^{h-k}	۲۰/۹۴ ^{e-j}	۲۳/۲۵ ^{c-f}	۰/۳

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۴- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم آسکوربات

پراکسیداز خرفه تحت سمیت کادمیوم

برهمکنش سه گانه تیمارها در این مرحله از آزمایش نشان داد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش سطوح کادمیوم خاک هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان همزیست شده افزایش یافت، اما میزان افزایش فعالیت این آنزیم در گیاهان همزیست شده به مراتب بیشتر از گیاهان شاهد بود. بیشترین تغییرات فعالیت آنزیمی در سطح ۷۵ کادمیوم و در گیاهان همزیست شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) با حدود ۷۲ درصد افزایش نسبت به سطح صفر کادمیوم و محلول‌پاشی نانوذرات آهن مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنزیمی در سطح صفر کادمیوم با کاربرد غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن در گیاهان شاهد و همزیست شده با قارچ‌های *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) به ترتیب با حدود ۳۶، ۲۰ و ۴۶ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) بود. در سطح ۲۵ کادمیوم با افزایش غلظت نانوذرات آهن فعالیت آنزیمی حدود ۴۱ درصد

در گیاهان شاهد نسبت به عدم کاربرد نانوذرات افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم در سطح ۵۰ کادمیوم در گیاهان همزیست شده با قارچ (*T. longibrachiatum* (UTFC10060) با حدود ۲۱ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد اتفاق افتاد (جدول ۴-۳۸).

جدول ۴-۳۸- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی				نانوذرات آهن	کادمیوم
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	(میلی گرم در کیلوگرم خاک)
۱۱۶/۳۹ ^{q-v}	۱۱۷/۰۵ ^{p-v}	۹۴/۳۳ ^{uv}	۹۹/۶۱ ^{tuv}	۰	۰
۱۸۳/۹۸ ^{e-j}	۱۲۵/۲۸ ^{o-u}	۱۲۸/۵۸ ^{n-t}	۱۵۶/۱۸ ^{j-o}	۰/۱۵	۰
۱۳۰/۵۴ ^{n-t}	۱۱۶/۴۴ ^{p-v}	۱۵۶/۶۵ ^{j-o}	۱۰۵/۸۷ ^{s-v}	۰/۳	۰
۱۵۹/۶۲ ⁱ⁻ⁿ	۱۷۰/۲۷ ^{h-m}	۱۸۳/۷۰ ^{e-j}	۱۱۴/۱۷ ^{r-v}	۰	۰
۱۹۱/۳۲ ^{e-i}	۹۲/۴۱ ^v	۲۱۰/۶۹ ^{c-f}	۱۴۳/۸۷ ^{m-r}	۰/۱۵	۲۵
۱۲۸/۹۶ ^{n-t}	۱۴۹/۴۸ ^{k-o}	۱۳۸/۰۹ ^{m-s}	۱۹۳/۶۷ ^{e-h}	۰/۳	۰
۱۸۰/۰۰ ^{f-k}	۱۷۰/۲۸ ^{h-m}	۱۹۴/۳۲ ^{e-h}	۲۰۶/۹۱ ^{d-g}	۰	۰
۱۴۸/۸۵ ^{k-p}	۲۵۳/۴۶ ^b	۲۳۴/۷۰ ^{bcd}	۲۰۰/۳۷ ^{e-h}	۰/۱۵	۵۰
۲۶۱/۴۵ ^b	۱۴۴/۲۰ ^{m-r}	۲۱۵/۶۹ ^{cde}	۱۴۲/۶۹ ^{m-r}	۰/۳	۰
۲۰۲/۱۴ ^{e-h}	۲۱۰/۰۷ ^{d-g}	۲۴۲/۹۴ ^{bc}	۱۴۷/۳۸ ^{l-q}	۰	۰
۱۷۷/۸۰ ^{g-l}	۱۵۶/۱۵ ^{k-o}	۱۹۱/۵۷ ^{e-i}	۲۰۹/۶۷ ^{d-g}	۰/۱۵	۷۵
۳۵۳/۴۰ ^a	۱۹۰/۸۹ ^{e-i}	۲۵۵/۹۰ ^b	۱۹۴/۸۷ ^{e-h}	۰/۳	۰

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

نتایج حاصل از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این مرحله از آزمایش نشان داد با افزایش تنش کادمیوم فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان همزیست شده افزایش یافت، اما افزایش فعالیت این آنزیم‌ها به مراتب در گیاهان تلقیح شده کمتر از گیاهان شاهد بود؛ در صورتی که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهان تلقیح شده بیشتر از گیاهان شاهد بود. افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک پاسخ عمومی به مقادیر سمی فلزات سنگین می‌باشد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم‌ترین ترکیبات در جلوگیری از تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌باشند. افزایش مشابهی در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در

پاسخ به کادمیوم در برگ و ریشه گیاه *Phragmites australis* گزارش شده است (آینلی و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین افزایش کادمیوم سبب القاء فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در چاودار (لو و همکاران، ۲۰۱۱) و لوبیا (احمدوند و همکاران، ۱۳۹۲) شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تنش کادمیوم در عدس (بارنده و کاووسی، ۱۳۹۵) و نیز *Lemna polyrrhiza* (جوهن و همکاران، ۲۰۰۸) گزارش شده است. فروزوش و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که تحت تنش کادمیوم فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و همچنین سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ‌های نخود افزایش یافت؛ از طرفی کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند در نتیجه تجمع ترکیبات ROS که بطور مستقیم یا غیر مستقیم به وسیله کادمیوم القاء می‌شوند، نیز باشد. تجمع ترکیبات ROS در خلال انفجار اکسیداتیو سبب افزایش بیش از حد سوبسترای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان خواهد شد که این امر غیر فعال شدن آن‌ها را در پی خواهد داشت. کاهش در فعالیت آنزیمی در غلظت‌های بالای فلز ممکن است با غیر فعال شدن آنزیم بواسطه اتصال فلز به گروه سولفیدریل آنزیم نیز مرتبط باشد. دیگر مطالعات نیز حاکی از این است که دناتوره شدن و غیر فعال شدن پروتئین نیز یک جزء مهم پاسخ‌های مرتبط با سمیت یون‌های فلزی است (چامسدین و همکاران، ۲۰۰۹)؛ در همین زمینه یعقوبیان (۱۳۹۴) بیان کرد در تنش کادمیوم فعالیت آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز ابتدا افزایش و سپس با افزایش غلظت کادمیوم روند کاهشی داشت.

میزان افزایش فعالیت آنزیمی در گیاهان همزیست شده به جز آنزیم آسکوربات پراکسیداز کمتر از گیاهان شاهد بود، می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً در گیاهان همزیست شده میزان آسیب ناشی از تنش کادمیوم کمتر از گیاهان شاهد بود. کاهش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز گیاه برنج در گیاهان تلقیح شده با دو جدایه‌ی *تریکودرما* نسبت به عدم تلقیح توسط نانجمیدم و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شده است. در همین زمینه پژوهشگران بیان کردند، قارچ‌های میکوریزا می‌توانند در شرایط تنش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در برگ گیاهان میزبان نسبت به گیاهان غیر میزبان کاهش دهند. گیاهان تلقیح شده با استفاده از روابط آبی و تغذیه بهتر نسبت به گیاهان تلقیح نشده می‌توانند تا

حدودی از تنش فرار کنند و کمتر دچار آسیب شوند (پورسل و رویز-لوزانو، ۲۰۰۴). طبق گزارش نوری آکندی و همکاران (۱۳۹۵) میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز گیاه استویا در گیاهان تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا تحت تنش شوری کمتر از گیاهان شاهد بود که با نتایج سلیمی تملی (۱۳۹۵) نیز بر روی گیاه استویا تحت سمیت کادمیوم مطابقت داشت؛ در این رابطه پژوهشگران بیان کردند که سازوکار اثر قارچ پیریفورموسپورا بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان تلقیح شده تحت شرایط تنش شناخته شده نیست، اما می‌توان اظهار داشت که این قارچ به‌طور مستقیم موجب خنثی شدن فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه می‌گردد (سان و همکاران، ۲۰۱۰). طبق گزارش نورا و همکاران (۱۳۹۷) در حضور قارچ پیریفورموسپورا فعالیت سه آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه شابیزک (*Atropa belladonna* L.) نسبت به عدم تلقیح کاهش یافت، اما در ریشه گیاهان تلقیح شده فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یافت؛ بنابراین احتمالاً تلقیح با قارچ‌های همزیست از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های دیگر و یا سازوکارهای مختلفی موجب کاهش تنش اکسیداتیو در گیاه گردد.

تأثیر نانوذرات آهن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سطوح سمیت کادمیوم و همزیستی قارچی متفاوت بود و در مجموع می‌توان گفت که محلول‌پاشی نانوذرات آهن بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تأثیر مثبتی داشت. آهن به عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشارکت داشته و سبب افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز می‌گردد (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰ الف). سین‌ها و ساکژنا (۲۰۰۶) بیان کردند که کاربرد آهن موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه دارویی *Bocopa monnieri* شد؛ همچنین، بابایی و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که کاربرد نانواکسید آهن موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در گیاه گندم به ترتیب به میزان ۹۵ و ۱۶ درصد در بالاترین سطح تنش نسبت به شاهد شد. این پژوهشگران دلیل این امر را القا شدن بیان ژن کاتالاز و پراکسیداز با استفاده از آهن عنوان کردند که با نتایج پیوندی و همکاران (۱۳۹۰ الف و ب) در گیاهان ریحان و مرزه مطابقت داشت.

۴-۳-۱-۴-۵- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پروتئین محلول

خرفه تحت سمیت کادمیوم

بررسی میزان پروتئین محلول گیاه خرفه نشان داد با افزایش سطوح عنصر سنگین کادمیوم مقدار پروتئین در گیاهان شاهد (عدم تلقیح) با حدود ۱۱ درصد نسبت به سطح صفر کادمیوم کاهش یافت. در سطح صفر کادمیوم بیشترین میزان پروتئین محلول در تمامی تیمارهای همزیستی قارچی با کاربرد غلظت ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن مشاهده شد. با افزایش سطوح کادمیوم از صفر به ۲۵ علی رغم کاهش میزان پروتئین، در گیاهان همزیست شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) میزان پروتئین محلول با حدود ۴۰ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و محلول پاشی) افزایش یافت. بیشترین تغییرات پروتئین در سطح ۵۰ کادمیوم مربوط به گیاهان همزیست شده با قارچ *C. subaffine* (SF3) و غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات با ۲۴ درصد افزایش نسبت به عدم تلقیح و عدم کاربرد نانوذرات آهن بود. محلول پاشی نانوذرات آهن در سطح ۷۵ کادمیوم تأثیر مثبتی بر افزایش میزان پروتئین نداشت (جدول ۴-۳۹).

نتایج این مطالعه با نتایج تحقیقات بهاردواج و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه لوبیا، ایرفان و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه نخود ایرانی و بارنده و کاووسی (۱۳۹۵) در گیاه عدس مبنی بر کاهش محتوای پروتئین محلول برگ با کاربرد فلز کادمیوم همخوانی دارد. تنش فلزات سنگین با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین داشته و سبب اکسید شدن آن‌ها می‌شوند (خودسر و همکاران، ۲۰۰۱). همزیستی قارچی موجب افزایش میزان پروتئین گیاهان تلقیح شده نسبت به عدم تلقیح در هر سطح کادمیوم شد. پژوهشگران بیان کردند که این افزایش می‌تواند به دلیل وجود پروتئین‌های محلول قارچی در گیاه و یا سنتز پروتئین‌های تعدیل‌کننده آلودگی در گیاه میزبان باشد (ایران‌خواه و همکاران، ۱۳۹۵). تأثیر مثبت همزیستی قارچی بر افزایش میزان پروتئین گیاهان توسط ایران‌خواه و همکاران (۱۳۹۵) در گیاه شنبلیله نیز گزارش شده است؛ همچنین این افزایش در تلقیح با قارچ *پیریفورموسپورا* در گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) تحت تنش کم‌آبی (امانی‌فر و همکاران، ۱۳۹۸) گزارش شد. سراج و

همکاران (۱۳۹۸) نیز بیان کردند همزیستی قارچی در گیاه استویا میزان پروتئین محلول را به ترتیب حدود ۴۲ و ۴۳ درصد تحت تنش شوری و خشکی بهبود بخشید. محلول پاشی نانوذرات آهن بر افزایش پروتئین محلول برگ تحت سمیت کادمیوم اثر مثبتی داشت. عنصر آهن، یکی از مهم‌ترین عناصری است که در متابولیسم نیتروژن نقش دارد و می‌تواند سبب افزایش سطح برگ گیاه نیز گردد (تواری و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین می‌توان انتظار داشت که با کاربرد نانوذرات آهن در گیاهان پروتئین سازی افزایش یابد. این نتایج با گزارش کاشانی (۱۳۹۷) مطابقت دارد که بیان کرد کاربرد نانوذرات آهن در گیاه کلزا میزان پروتئین برگ را تحت تنش شوری افزایش داد.

جدول ۴-۳۹- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پروتئین محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۳/۱۶۵ ^{n-s}	۳/۸۵۷ ^{f-m}	۴/۲۸۹ ^{b-g}	۳/۲۵۲ ^{m-s}	۰	
۳/۶۶۲ ^{g-p}	۳/۹۴۷ ^{e-l}	۴/۲۷۵ ^{c-h}	۳/۸۸۲ ^{f-m}	۰/۱۵	۰
۴/۹۴۱ ^{ab}	۴/۴۳۳ ^{b-f}	۴/۲۹۴ ^{b-g}	۴/۶۹۸ ^{bcd}	۰/۳	
۳/۱۵۱ ^{o-s}	۴/۱۴۶ ^{c-j}	۳/۹۳۹ ^{e-l}	۳/۴۵۲ ^{k-q}	۰	
۴/۵۶۲ ^{b-e}	۵/۴۱۱ ^a	۳/۶۲۵ ^{h-p}	۳/۵۳۸ ^{j-q}	۰/۱۵	۲۵
۳/۲۶۸ ^{m-s}	۴/۸۰۴ ^{abc}	۴/۱۰۴ ^{d-k}	۳/۸۲۰ ^{f-n}	۰/۳	
۴/۲۰۳ ^{c-i}	۳/۴۰۱ ^{l-r}	۳/۶۲۰ ^{h-p}	۳/۲۹۲ ^{l-s}	۰	
۴/۰۷۲ ^{d-k}	۳/۶۵۴ ^{g-p}	۴/۳۳۹ ^{b-f}	۳/۴۷۰ ^{k-q}	۰/۱۵	۵۰
۳/۸۰۴ ^{f-o}	۴/۱۶۹ ^{c-j}	۳/۶۴۲ ^{g-p}	۳/۵۲۳ ^{j-q}	۰/۳	
۳/۶۲۱ ^{h-p}	۳/۸۵۸ ^{f-m}	۳/۰۵۷ ^{p-s}	۲/۳۴۰ ^t	۰	
۳/۶۱۹ ^{h-p}	۳/۳۱۹ ^{l-r}	۳/۵۶۰ ^{i-q}	۲/۶۵۱ st	۰/۱۵	۷۵
۳/۲۲۵ ^{m-s}	۳/۳۵۲ ^{l-r}	۲/۷۶۱ ^{rst}	۲/۹۰۲ ^{q-t}	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۴- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پرولین خرفه

تحت سمیت کادمیوم

نتایج نشان داد، افزایش سطوح کادمیوم تا ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک موجب افزایش حدود ۵۹ درصدی میزان پرولین در گیاهان شاهد (عدم تلقیح) شد، در حالیکه در گیاهان همزیست شده با

قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) میزان پرولین نسبت به عدم تلقیح افزایش بیشتری نشان داد. در این میان کاربرد غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن در گیاهان شاهد در هر سطح از کادمیوم کمترین میزان پرولین را داشتند. در سطح ۷۵ کادمیوم تلقیح با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) و کاربرد غلظت ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات در گیاهان موجب افزایش به ترتیب حدود ۱۷، ۳۲ و ۱۳ درصدی پرولین نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و محلول پاشی) گردید (جدول ۴-۴۰). در تنش‌های گوناگون، تجمع پرولین در گیاه پاسخی در برابر القا تنش می‌باشد و تولید بالای این اسیدآمین می‌تواند سبب تحمل گیاه در مقابل تنش شود (تریپان و همکاران، ۲۰۱۱). این اسیدآمین به عنوان یک ماده اسمزی، برای خنثی کردن اثر تنش (از جمله تنش فلزات سنگین) در گیاه تجمع می‌یابد. در گونه‌های گیاهی مختلف که تحت تنش فلزات سنگین قرار گرفته‌اند، تجمع اسیدآمین پرولین مشاهده می‌شود. برای مثال کادمیوم سبب افزایش میزان پرولین در نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) (الحکیمی، ۲۰۰۷)، جیوه، سرب و کادمیوم سبب افزایش محتوای پرولین در برگ لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) (زنگین و مونزوروگلو، ۲۰۰۵) و نیترات نقره در گیاه عدسک آبی (*Spirodela polyrhiza*) شد (جیانگ و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین غلظت‌های ۵ و ۷ میکرومول بر لیتر نیترات سرب موجب افزایش میزان پرولین چغندر شد (نادری و همکاران، ۲۰۱۳b). در این پژوهش همزیستی قارچی موجب افزایش میزان پرولین در گیاهان گردید که با نتایج کاظم‌علیلو و رسولی‌صدقیانی (۱۳۹۱) در گیاهان بنگدانه تحت تنش کادمیوم در تلقیح با قارچ‌های میکوریز و همچنین یعقوبیان (۱۳۹۴) در گیاهان خرفه و بادرنجبویه تلقیح شده با قارچ *پیریفورموسپورا* تحت تنش کادمیوم مطابقت داشت. همچنین محلول پاشی نانوذرات آهن نیز موجب افزایش پرولین در گیاهان گردید. افزایش میزان پرولین با کاربرد نانوذرات آهن در گیاهان گندم (بابایی و همکاران، ۲۰۱۷) و نعنای فلفلی (عسگری و همکاران، ۲۰۱۷) تحت تنش شوری گزارش شده است. پرولین در تعدیل تنش‌های

محیطی از جمله فلزات سنگین نقش مهمی دارد و احتمالاً در سلول‌های تحت تنش نقش آنتی‌اکسیدانی را ایفا می‌کند (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰).

جدول ۴-۴۰- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پرولین (میلی گرم بر وزن تر) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۰۲۷۷ ^{n-s}	۰/۰۲۲۱ ^{rst}	۰/۰۳۸۶ ^{k-o}	۰/۰۲۴۶ ^{q-t}	۰	
۰/۰۲۵۴ ^{p-s}	۰/۰۳۵۳ ^{k-q}	۰/۰۳۴۷ ^{k-r}	۰/۰۱۲۴ ^t	۰/۱۵	۰
۰/۰۲۰۱ st	۰/۰۳۰۳ ^{m-s}	۰/۰۳۳۲ ^{l-r}	۰/۰۳۰۷ ^{l-s}	۰/۳	
۰/۰۳۲۱ ^{l-s}	۰/۰۳۱۴ ^{l-s}	۰/۰۲۶۱ ^{o-s}	۰/۰۲۶۴ ^{o-s}	۰	
۰/۰۳۹۶ ^{k-n}	۰/۰۳۷۷ ^{k-p}	۰/۰۵۳۲ ^{g-j}	۰/۰۲۹۲ ^{m-s}	۰/۱۵	۲۵
۰/۰۳۵۱ ^{k-q}	۰/۰۵۶۳ ^{gh}	۰/۰۵۷۵ ^{fgh}	۰/۰۳۵۰ ^{k-q}	۰/۳	
۰/۰۵۴۷ ^{ghi}	۰/۰۴۱۸ ^{j-m}	۰/۰۷۵۶ ^{abc}	۰/۰۲۸۰ ^{n-s}	۰	
۰/۰۶۳۰ ^{c-g}	۰/۰۵۸۹ ^{e-h}	۰/۰۶۰۴ ^{d-g}	۰/۰۲۷۴ ^{n-s}	۰/۱۵	۵۰
۰/۰۵۹۰ ^{efg}	۰/۰۵۳۶ ^{g-j}	۰/۰۷۰۷ ^{b-e}	۰/۰۴۶۳ ^{h-k}	۰/۳	
۰/۰۶۵۰ ^{c-g}	۰/۰۵۵۹ ^{ghi}	۰/۰۷۲۲ ^{bcd}	۰/۰۶۰۳ ^{d-g}	۰	
۰/۰۶۵۰ ^{c-g}	۰/۰۵۸۶ ^{e-h}	۰/۰۷۷۷ ^{ab}	۰/۰۴۳۳ ^{i-l}	۰/۱۵	۷۵
۰/۰۶۹۶ ^{b-f}	۰/۰۷۵۰ ^{abc}	۰/۰۸۵۵ ^a	۰/۰۶۰۸ ^{d-g}	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ۴-۳-۱-۴- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان مالون دی آلدئید

خرفه تحت سمیت کادمیوم

برهمکنش سه گانه تیمارها در این مرحله از آزمایش نشان داد، همزیستی قارچی در تمامی سطوح کادمیوم خاک موجب کاهش محتوای مالون دی آلدئید در گیاه خرفه به نسبت گیاهان شاهد شد. با افزایش تنش کادمیوم در گیاهان شاهد (عدم تلقیح) میزان مالون دی آلدئید در سطح ۷۵ کادمیوم و غلظت ۰/۳ گرم بر لیتر نانوذرات آهن با حدود ۴۸ درصد افزایش نسبت به سطح صفر کادمیوم به حداکثر میزان خود رسید، در حالیکه در همین سطح از کادمیوم همزیستی با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) محتوای مالون دی آلدئید به ترتیب حدود ۲۳، ۲۵ و ۱۵ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) کاهش یافت. در سطوح

۲۵ و ۵۰ کادمیوم کمترین میزان مالون دی آلدئید در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) با کاربرد غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن مشاهده شد. میزان این کاهش در سطح ۲۵ کادمیوم به ترتیب حدود ۱۷، ۳۷ و ۳۰ درصد و در سطح ۵۰ کادمیوم به ترتیب حدود پنج، ۱۳ و ۱۵ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) بود (جدول ۴-۴۱). مالون دی آلدئید یک محصول سمی سلولی ناشی از پروکسیداسیون چربی‌ها و نشان دهنده میزان تولید رادیکال‌های آزاد و بافت‌های تخریب شده است (مظفری و بابایی، ۱۳۹۱). در پژوهش‌های بسیاری نشان داده شد که با افزایش کادمیوم میزان مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به گیاه پریوش (مرادی‌پور و همکاران، ۱۳۹۵) گیاه کلزا، یونجه و ماشک (مظفری و بابایی، ۱۳۹۱) اشاره کرد. ژائو و همکاران (۲۰۱۱) نیز بیان کردند که میزان ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم سبب افزایش چشمگیر در محتوی مالون دی آلدئید در گیاهان گندم و ذرت گردید. از طرفی همزیستی قارچی بر کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و میزان مالون دی آلدئید مؤثر بوده است. گزارش‌هایی در همین رابطه نشان داد که تلقیح گیاه خرفه و بادرنجبویه با قارچ *پیریفورموسپورا* و *تریکودرما* سبب کاهش مالون دی آلدئید در تنش کادمیوم گردید (یعقوبیان، ۱۳۹۴). همچنین خماری و داوودی (۲۰۱۷) گزارش کردند که در گیاهان تلقیح شده با قارچ *تریکودرما* میزان مالون دی آلدئید تحت تنش شوری کاهش یافت. کاهش میزان مالون دی آلدئید در گیاهان همزیست شده با قارچ *پیریفورموسپورا* در گیاه استویا تحت تنش شوری توسط نوری آکندی و همکاران (۱۳۹۵) و گیاه کلم چینی تحت تنش خشکی توسط سان و همکاران (۲۰۱۰) نیز پیش‌تر گزارش شده بود.

کاربرد نانوذرات آهن به ویژه غلظت ۰/۱۵ گرم بر لیتر در سطوح ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک موجب کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاء گردید؛ که با نتایج ارزانی و همکاران (۱۳۹۱) در بررسی تغذیه برگ‌ی نانو ذرات آهن بر پاسخ گندم و ذرت به تنش شوری مطابقت داشت اما با نتایج فراهانی و همکاران (۱۳۹۴) در گیاه بادرنجبویه همخوانی نداشت. این پژوهشگران افزایش میزان مالون

دی آلدئید را احتمالاً به دلیل اثرات سمی آهن در غلظت‌های بالا بیان کردند که با ایجاد رادیکال‌های آزاد واکنش پذیر، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب شده و مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد. امیری نژاد و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که محلول پاشی آهن و روی در شرایط تنش‌های ملایم و شدید خشکی به ترتیب سبب کاهش ۴۹ و ۶۳ درصدی مقدار مالون دی آلدئید برگ زیره سبز شد. همچنین طبق گزارش فتحی امیرخیز و همکاران (۱۳۹۰ الف) سطوح مختلف محلول پاشی و کاربرد خاکی کلات آهن در شرایط تنش رطوبتی موجب کاهش ۲۴ درصدی مالون دی آلدئید در گیاه گلرنگ شد و توانست تأثیرات تنش رطوبتی را جبران کند. به نظر می‌رسد عنصر آهن با فعال کردن ترکیبات آنتی اکسیدان و حفظ اسیدهای چرب غیراشباع از تأثیر منفی رادیکال‌های آزاد می‌کاهد (هانگ و جی-یان، ۲۰۰۷).

جدول ۴-۴۱- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان مالون دی آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۲۹۸ ^{qrs}	۰/۲۸۰ ^{qrs}	۰/۳۶۳ ^{m-r}	۰/۳۷۸ ^{k-q}	۰	
۰/۲۲۳ ^s	۰/۳۰۸ ^{p-s}	۰/۲۹۰ ^{qrs}	۰/۲۷۴ ^{rs}	۰/۱۵	۰
۰/۳۰۵ ^{p-s}	۰/۳۴۸ ^{n-r}	۰/۳۱۰ ^{p-s}	۰/۳۶۹ ^{m-r}	۰/۳	
۰/۳۷۴ ^{l-r}	۰/۳۴۴ ^{n-r}	۰/۴۳۹ ^{h-n}	۰/۴۴۵ ^{h-n}	۰	
۰/۳۱۱ ^{o-s}	۰/۲۷۹ ^{qrs}	۰/۳۶۹ ^{m-r}	۰/۵۱۱ ^{d-j}	۰/۱۵	۲۵
۰/۴۰۶ ^{k-p}	۰/۴۳۹ ^{h-n}	۰/۴۳۴ ^{h-n}	۰/۴۸۱ ^{e-k}	۰/۳	
۰/۵۲۶ ^{c-h}	۰/۴۳۷ ^{h-n}	۰/۵۵۶ ^{b-g}	۰/۴۷۸ ^{e-k}	۰	
۰/۴۰۸ ^{j-p}	۰/۴۱۵ ^{i-o}	۰/۴۵۵ ^{g-m}	۰/۶۴۹ ^{ab}	۰/۱۵	۵۰
۰/۵۱۲ ^{c-i}	۰/۴۶۱ ^{f-m}	۰/۵۲۶ ^{c-h}	۰/۵۷۰ ^{b-e}	۰/۳	
۰/۶۰۸ ^{bcd}	۰/۵۶۷ ^{b-e}	۰/۴۷۷ ^{e-l}	۰/۶۱۶ ^{bc}	۰	
۰/۵۲۹ ^{c-h}	۰/۴۶۲ ^{f-m}	۰/۵۵۳ ^{b-g}	۰/۶۰۶ ^{bcd}	۰/۱۵	۷۵
۰/۵۲۶ ^{c-h}	۰/۴۸۰ ^{e-k}	۰/۵۶۱ ^{b-f}	۰/۷۲۱ ^a	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۱-۴-۸- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان

پراکسید هیدروژن خرفه تحت سمیت کادمیوم

طبق نتایج با افزایش تنش کادمیوم میزان پراکسید هیدروژن هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان همزیست شده افزایش یافت، اما میزان این افزایش در گیاهان همزیست شده به مراتب کمتر از گیاهان شاهد بود. به طوری که در سطح ۷۵ کادمیوم در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) میزان پراکسید هیدروژن به ترتیب حدود ۲۷، ۱۷ و ۱۳ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) کاهش یافت. در همین سطح از کادمیوم کاربرد نانوذرات آهن میزان پراکسید هیدروژن در گیاهان همزیست شده را کاهش داد که بیانگر تأثیر مثبت محلول‌پاشی می‌باشد. به نظر می‌رسد عنصر آهن با فعال کردن ترکیبات آنتی-اکسیدان و حفظ اسیدهای چرب غیراشباع از تأثیر منفی رادیکال‌های آزاد می‌کاهد (هانگ و جی-یان، ۲۰۰۷). در مجموع کمترین و بیشترین میزان پراکسید هیدروژن به ترتیب در گیاهان همزیست شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) و شاهد در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن مشاهده گردید (جدول ۴-۴۲). مسمومیت با فلزات سنگین تنش اکسیداتیو را القا می‌کند زیرا افزایش غلظت فلزات سنگین به وسیله‌ی چندین مکانیسم مختلف در تولید گونه‌های فعال اکسیژن دخالت می‌کند (گیل، ۲۰۱۰). صدمات تنش اکسیداتیو در اثر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن و سایر رادیکال‌های آزاد می‌باشد که به وسیله‌ی احیای متوالی اکسیژن تولید می‌شود. در تحقیقات بسیاری از جمله کرامت و همکاران (۱۳۹۳) در گیاه گندم و ولیزاده کامران و همکاران (۱۳۹۶) در گیاه اسفناج افزایش تولید پراکسید هیدروژن در طی تنش کادمیوم گزارش شده است. همزیستی قارچی موجب کاهش پراکسید هیدروژن نسبت به گیاهان عدم تلقیح شد. مطالعات گذشته نشان داد، همزیستی قارچی تجمع آسکوربات در سلول‌های ریشه گیاه میزبان را تحریک می‌کند. اسید آسکوربیک به عنوان ماده اولیه در چرخه آسکوربات گلوکاتایون برای سم‌زدایی H_2O_2 عمل می‌کند. به علاوه، به طور مستقیم رادیکال‌های آزاد اکسیژن را خنثی می‌کند (بالتروشات و همکاران، ۲۰۰۸). در همین زمینه پهلوان و

همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که تلقیح با قارچ *تریکودرما* میزان پراکسید هیدروژن را در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش خشکی کاهش داد. همچنین کاهش میزان پراکسید هیدروژن در تلقیح با قارچ *پیریفورموسپورا* تحت تنش شوری (نوری آکندی و همکاران، ۱۳۹۵) و تنش مس (رمضانپور احمدچالی، ۱۳۹۵) در گیاه استویا گزارش شده است.

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان پراکسید هیدروژن (نانومول بر گرم وزن تر) خرفه تحت سمیت کادمیوم

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۲۵۴ ^{s-w}	۰/۲۰۶ ^{vwX}	۰/۳۰۲ ^{o-s}	۰/۳۲۲ ^{l-s}	۰	
۰/۱۹۲ ^{wX}	۰/۲۳۹ ^{t-w}	۰/۲۳۶ ^{t-w}	۰/۲۸۵ ^{q-u}	۰/۱۵	۰
۰/۲۲۰ ^{uvw}	۰/۱۳۶ ^x	۰/۲۱۴ ^{uvw}	۰/۳۶۴ ^{h-o}	۰/۳	
۰/۲۸۷ ^{p-u}	۰/۲۸۲ ^{q-u}	۰/۳۱۶ ^{m-s}	۰/۳۹۱ ^{f-l}	۰	
۰/۳۲۵ ^{l-s}	۰/۲۷۴ ^{r-v}	۰/۳۷۹ ^{g-n}	۰/۴۰۴ ^{d-j}	۰/۱۵	۲۵
۰/۳۰۷ ^{n-t}	۰/۲۴۲ ^{t-w}	۰/۳۱۸ ^{l-s}	۰/۳۳۰ ^{k-r}	۰/۳	
۰/۳۷۹ ^{g-n}	۰/۳۹۹ ^{e-k}	۰/۳۷۶ ^{g-n}	۰/۵۱۲ ^{ab}	۰	
۰/۳۹۰ ^{g-m}	۰/۴۶۵ ^{b-f}	۰/۳۷۹ ^{g-n}	۰/۴۲۲ ^{c-j}	۰/۱۵	۵۰
۰/۴۳۴ ^{c-h}	۰/۴۰۸ ^{d-j}	۰/۳۶۴ ^{h-o}	۰/۴۶۸ ^{a-e}	۰/۳	
۰/۴۷۴ ^{a-d}	۰/۴۳۹ ^{b-g}	۰/۴۲۴ ^{c-j}	۰/۴۸۸ ^{abc}	۰	
۰/۴۲۴ ^{c-j}	۰/۴۲۳ ^{c-j}	۰/۳۵۴ ^{j-q}	۰/۴۱۸ ^{c-j}	۰/۱۵	۷۵
۰/۴۳۰ ^{c-i}	۰/۴۰۶ ^{d-j}	۰/۳۵۹ ^{i-p}	۰/۵۴۲ ^a	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۲- اثر قارچ‌های اندوفیت و نانوذرات آهن بر گیاه‌پالایی خرفه نسبت به

سمیت کادمیوم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر ساده کادمیوم و همزیستی قارچی بر تمام صفات مذکور در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر ساده نانوذرات آهن بر تمامی صفات به جز فاکتور انتقال در سطح احتمال یک درصد و بر فاکتور انتقال در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. بین کادمیوم و همزیستی قارچی بر میزان کادمیوم ریشه در سطح احتمال پنج درصد و بر مابقی صفات در سطح احتمال یک

درصد برهمکنش معنی داری وجود داشت. بر همکنش کادمیوم و نانوذرات آهن و قارچ و نانوذرات آهن نیز بر تمامی صفات مذکور در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۴-۴۳).

جدول ۴-۴۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت عنصر سنگین کادمیوم در گیاه خرفه

منابع تغییر	درجه آزادی	خاک	ریشه	اندام هوایی	جذب زیستی ریشه	فاکتور انتقال	ضریب انتقال
کادمیوم (A)	۳	۲۲۷۷/۷**	۵۲۲۹/۳**	۵۱۱۶/۲**	۱۱۱/۴۰**	۷/۵۷**	۸۸/۵۸**
قارچ (B)	۳	۴۱/۷۹**	۶۰/۶۴**	۲۶۶/۲۷**	۱/۵۶**	۰/۳۵۰**	۶/۷۳**
نانوذرات آهن (C)	۲	۱۲/۵۲**	۱۸۹/۱۶**	۲۱۰/۰۵**	۳/۵۵**	۰/۰۳۲*	۵/۰۴**
A×B	۹	۱۱/۰۵**	۱۸/۲۵*	۶۵/۴۶**	۰/۳۷۱**	۰/۰۷۵**	۱/۰۸**
A×C	۶	۳/۵۸*	۱۰۳/۵۷**	۶۵/۸۶**	۳/۰۰۲**	۰/۰۴۲**	۱/۴۷**
B×C	۶	۴/۰۹*	۴۳/۶۷**	۶۸/۹۴**	۱/۵۸**	۰/۱۱۱**	۱/۷۵**
A×B×C	۱۸	۴/۰۴**	۱۹/۵۱**	۴۳/۷۴**	۰/۶۴۷**	۰/۰۸۴**	۰/۹۹۳**
خطای آزمایش	۹۶	۰/۱۶۹	۱/۳۱	۰/۹۶۲	۰/۰۳۸	۰/۰۰۲۱	۰/۰۲۶
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۷۱	۷/۲۰	۷/۳۳	۶/۹۸	۷/۶۸	۱۰/۴۹

ns. * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۴-۳-۲-۱- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان کادمیوم قابل

جذب خاک بعد از کشت گیاه خرفه

نتایج نشان داد با افزایش سمیت کادمیوم میزان کادمیوم قابل جذب پس از کشت گیاه خرفه افزایش یافت. این افزایش هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان همزیست شده مشاهده شد، اما باقی مانده‌ی کادمیوم خاک در گیاهان همزیست شده کمتر از گیاهان شاهد بود، به طوریکه در سطح ۲۵ کادمیوم و غلظت ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن میزان باقی مانده کادمیوم خاک در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) به ترتیب حدود ۱۷، ۱۹ و ۲۳ درصد از گیاهان شاهد (عدم تلقیح و محلول پاشی) کمتر بود. بیشترین میزان باقی مانده کادمیوم خاک در سطح ۵۰ و ۷۵ کادمیوم (میزان ۱۵/۱۲ و ۲۲/۲۰) در گیاهان شاهد و در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن مشاهده شد (۴-۴۴).

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر میزان کادمیوم قابل جذب خاک (میلی گرم در کیلوگرم خاک) بعد از کشت گیاه خرفه

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۰۰۱۳ ^w	۰/۰۰۱۳ ^w	۰/۰۰۱۳ ^w	۰/۰۰۲۳ ^w	۰	
۰/۰۰۱۵ ^w	۰/۰۰۲۲ ^w	۰/۰۰۱۳ ^w	۰/۰۰۲۳ ^w	۰/۱۵	۰
۰/۰۰۳۰ ^w	۰/۰۰۲۴ ^w	۰/۰۰۱۵ ^w	۰/۰۰۲۲ ^w	۰/۳	
۳/۹۴ ^v	۴/۰۱ ^v	۴/۲۳ ^{uv}	۶/۵۳ ^p	۰	
۴/۸۱ ^{stu}	۴/۹۷ ^{rst}	۴/۳۵ ^{tuv}	۵/۵۳ ^{qr}	۰/۱۵	۲۵
۵/۰۳ ^{rs}	۵/۳۰ ^{qrs}	۵/۴۰ ^{qrs}	۵/۷۵ ^q	۰/۳	
۱۱/۸۴ ^{mn}	۱۰/۸۵ ^o	۹/۱۷ ^{qrs}	۱۳/۶۹ ^j	۰	
۱۰/۸۳ ^o	۱۱/۴۶ ^{no}	۱۱/۱۴ ^o	۱۲/۴۴ ^{lm}	۰/۱۵	۵۰
۱۰/۸۲ ^o	۱۳/۱۱ ^{jk}	۱۲/۶۰ ^{kl}	۱۵/۱۲ ⁱ	۰/۳	
۱۵/۹۰ ^{gh}	۱۷/۸۹ ^{cd}	۱۷/۰۸ ^{ef}	۲۱/۲۵ ^b	۰	
۱۵/۲۸ ^{hi}	۱۶/۵۴ ^{fg}	۱۸/۰۴ ^{cd}	۲۲/۲۰ ^a	۰/۱۵	۷۵
۱۸/۰۵ ^{cd}	۱۷/۶۱ ^{de}	۱۸/۴۹ ^c	۲۱/۱۳ ^b	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۲- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر غلظت کادمیوم در

ریشه خرفه

بررسی میزان کادمیوم جذب شده در ریشه گیاهان خرفه نشان داد که همزیستی قارچی موجب افزایش جذب توسط ریشه‌ی گیاهان شده است، هر چند که در گیاهان شاهد نیز با افزایش سمیت کادمیوم میزان جذب توسط ریشه افزایش یافته است. افزایش غلظت نانوذرات آهن از ۰/۱۵ به ۰/۳ نیز تأثیر معنی‌داری بر میزان کادمیوم جذب شده توسط ریشه گذاشته است. در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کادمیوم بیشترین میزان کادمیوم ریشه در گیاهان همزیست شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) و با کاربرد غلظت ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن (با حدود به ترتیب ۱۷، ۶۴ و ۳۹ درصد افزایش نسبت به گیاهان شاهد) به ثبت رسید (جدول ۴-۴).

جدول ۴-۴۵- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر غلظت کادمیوم در ریشه (میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک) خرفه

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۰۰۷۵ ^q	۰/۰۰۵۱ ^q	۰/۰۰۸۱ ^q	۰/۰۰۵۷ ^q	۰	
۰/۰۰۶۳ ^q	۰/۰۰۶۰ ^q	۰/۰۰۷۹ ^q	۰/۰۰۵۶ ^q	۰/۱۵	۰
۰/۰۰۷۵ ^q	۰/۰۰۸۱ ^q	۰/۰۰۳۲ ^q	۰/۰۰۷۴ ^q	۰/۳	
۲۰/۳۳ ^{ijk}	۱۳/۴۱ ^{no}	۱۶/۰۰ ^{lm}	۱۳/۹۶ ^{no}	۰	
۱۳/۱۴ ^{nop}	۱۱/۴۲ ^p	۱۳/۶۹ ^{no}	۱۴/۵۴ ^{mn}	۰/۱۵	۲۵
۱۲/۱۱ ^{op}	۱۶/۷۶ ^l	۱۶/۱۱ ^{lm}	۱۲/۵۷ ^{op}	۰/۳	
۱۷/۰۶ ^l	۱۲/۹۸ ^{nop}	۱۹/۴۲ ^{jk}	۱۱/۳۱ ^p	۰	
۲۴/۰۴ ^{fg}	۱۸/۹۹ ^k	۲۴/۲۲ ^{fg}	۲۰/۹۲ ^{hij}	۰/۱۵	۵۰
۲۱/۴۶ ^{hi}	۳۱/۲۳ ^c	۲۳/۶۴ ^g	۲۱/۲۳ ^{hij}	۰/۳	
۲۳/۹۳ ^{fg}	۲۲/۷۸ ^{gh}	۲۷/۸۵ ^e	۲۳/۴۹ ^g	۰	
۲۸/۴۲ ^e	۳۱/۷۵ ^c	۲۹/۳۶ ^{de}	۲۳/۸۵ ^g	۰/۱۵	۷۵
۳۵/۵۷ ^b	۳۸/۵۲ ^a	۳۱/۱۲ ^{cd}	۲۸/۷۴ ^f	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۲-۳- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر غلظت کادمیوم در

اندام هوایی خرفه

نتایج نشان داد با افزایش تنش کادمیوم تجمع این عنصر در اندام هوایی گیاهان افزایش یافت به طوری که از سطح ۲۵ به ۷۵ کادمیوم میزان این عنصر در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) به ترتیب حدود ۸۳، ۸۴ و ۸۵ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) افزایش یافت، اما این افزایش در گیاهان شاهد حدود ۷۳ درصد بود، بنابراین همزیستی قارچی موجب تجمع بیشتر کادمیوم در اندام هوایی گیاهان شد. از طرفی محلول‌پاشی نانوذرات آهن نیز تأثیر بسزایی در جذب کادمیوم توسط اندام هوایی داشت. بیشترین میزان کادمیوم در گیاهان همزیست شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC10060) در سطح ۷۵ کادمیوم و غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات با حدود ۴۵ درصد افزایش نسبت به شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) در همین سطح کادمیوم مشاهده شد (جدول ۴-۴۶).

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر غلظت کادمیوم در اندام هوایی (میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک) خرفه

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۰۰۲۳ ^u	۰/۰۰۴۸ ^u	۰/۰۰۱۳ ^u	۰/۰۰۱۴ ^u	۰	
۰/۰۰۱۱ ^u	۰/۰۰۳۷ ^u	۰/۰۰۱۷ ^u	۰/۰۰۱۳ ^u	۰/۱۵	۰
۰/۰۰۱۱ ^u	۰/۰۰۲۳ ^u	۰/۰۰۱۷ ^u	۰/۰۰۱۷ ^u	۰/۳	
۸/۰۳ ^{pqr}	۵/۹۷ st	۶/۶۸ ^{rs}	۵/۴۶ st	۰	
۸/۵۴ ^{pq}	۶/۰۸ st	۷/۷۸ ^{qr}	۵/۶۵ st	۰/۱۵	۲۵
۹/۱۲ ^{pq}	۹/۴۸ ^p	۷/۸۸ ^{qr}	۴/۵۸ ^t	۰/۳	
۲۲/۰۸ ^{ij}	۱۶/۴۹ ^m	۱۱/۴۳ ^o	۱۱/۹۶ ^o	۰	
۲۷/۰۰ ^{ef}	۱۸/۸۰ ^l	۳۲/۰۰ ^{cd}	۱۶/۸۴ ^m	۰/۱۵	۵۰
۲۴/۷۷ ^{gh}	۲۸/۴۶ ^e	۱۴/۵۶ ⁿ	۲۰/۲۷ ^{kl}	۰/۳	
۳۰/۹۹ ^d	۲۱/۳۴ ^{jk}	۱۴/۶۲ ⁿ	۲۰/۴۹ ^k	۰	
۳۶/۹۷ ^a	۲۳/۲۴ ^{hi}	۲۶/۲۷ ^{fg}	۱۹/۸۰ ^{kl}	۰/۱۵	۷۵
۳۴/۰۰ ^b	۳۳/۸۴ ^b	۳۳/۰۵ ^{bc}	۱۷/۱۸ ^m	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۲-۴- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فاکتور جذب زیستی

کادمیوم در ریشه خرفه

بر اساس نتایج در گیاهان شاهد با افزایش سمیت کادمیوم از ۲۵ به ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک فاکتور جذب زیستی ریشه ۱۲ درصد کاهش یافت. اما در مجموع فاکتور جذب زیستی ریشه در گیاهان همزیست شده بیشتر بود با این وجود در تمامی سطوح کادمیوم میزان فاکتور جذب زیستی بالای یک بود. در سطح ۲۵ کادمیوم بیشترین میزان فاکتور جذب زیستی ریشه در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T.longibrachiatum* (UTFC10060) و در عدم کاربرد نانوذرات آهن با حدود ۳۱ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) مشاهده شد. همچنین بیشترین فاکتور جذب زیستی در سطح ۵۰ و ۷۵ کادمیوم، در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T.atroviride* (SN1) و کاربرد غلظت ۰/۳ گرم بر لیتر نانوذرات آهن به ترتیب با حدود ۶۴ و ۳۹ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) مشاهده شد (جدول ۴-۴۷).

جدول ۴-۴۷- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فاکتور جذب زیستی کادمیوم در ریشه خرفه

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۲۳۵ ^u	۰/۱۵۴ ^u	۰/۲۵۲ ^u	۰/۱۷۸ ^u	۰	
۰/۱۹۵ ^u	۰/۱۸۹ ^u	۰/۲۴۵ ^u	۰/۱۷۶ ^u	۰/۱۵	۰
۰/۲۳۴ ^u	۰/۲۵۲ ^u	۰/۰۹۹ ^u	۰/۲۳۰ ^u	۰/۳	
۵/۵۵ ^a	۳/۶۶ ^{h-l}	۴/۳۷ ^{cde}	۳/۸۱ ^{g-j}	۰	
۳/۵۹ ^{i-m}	۳/۱۲ ^{p-s}	۳/۷۴ ^{h-k}	۳/۹۷ ^{fgh}	۰/۱۵	۲۵
۳/۳۰ ^{m-q}	۴/۵۸ ^c	۴/۴۰ ^{cd}	۳/۴۳ ^{k-p}	۰/۳	
۲/۸۰ ^s	۲/۱۳ ^t	۳/۱۹ ^{n-r}	۱/۸۶ ^t	۰	
۳/۹۵ ^{fgh}	۳/۱۲ ^{o-s}	۳/۹۸ ^{fgh}	۳/۴۴ ^{k-o}	۰/۱۵	۵۰
۳/۵۲ ^{j-m}	۵/۱۳ ^b	۳/۸۸ ^{f-i}	۳/۴۹ ^{k-n}	۰/۳	
۳/۱۲ ^{o-s}	۲/۹۷ ^{rs}	۳/۶۳ ^{i-l}	۳/۰۶ ^{qrs}	۰	
۳/۷۱ ^{h-k}	۴/۱۴ ^{def}	۳/۸۴ ^{f-j}	۳/۱۱ ^{qrs}	۰/۱۵	۷۵
۴/۶۴ ^c	۵/۰۲ ^b	۴/۰۶ ^{efg}	۳/۳۶ ^{l-q}	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۲-۵- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فاکتور انتقال

کادمیوم در خرفه

در این آزمایش با افزایش سطوح کادمیوم از صفر به ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک فاکتور انتقال این عنصر در خرفه روند افزایشی نشان داد. همچنین در گیاهان همزیست شده فاکتور انتقال به نسبت گیاهان شاهد افزایش یافت، در صورتی که محلول‌پاشی نانوذرات آهن روند خاصی نشان نداد، به طوریکه بیشترین فاکتور انتقال در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کادمیوم هر سه در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) به ترتیب در غلظت‌های ۰/۳ و ۰ و ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن با حدود ۵۳، ۱۸ و ۳۳ درصد افزایش نسبت به شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) در هر سطح کادمیوم مشاهده گردید (جدول ۴-۴۸).

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر فاکتور انتقال کادمیوم در خرفه

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن	
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
۰/۰۰۳ ^t	۰/۰۰۹ ^t	۰/۰۰۹ ^t	۰/۰۰۲ ^t	۰
۰/۰۰۱۸ ^t	۰/۰۰۶ ^t	۰/۰۰۲ ^t	۰/۰۰۲ ^t	۰/۱۵
۰/۰۰۱۴ ^t	۰/۰۰۲۸ ^t	۰/۰۰۱۶ ^t	۰/۰۰۲ ^t	۰/۳
۰/۳۹۴ ^{rs}	۰/۴۴۹ ^{qr}	۰/۴۱۸ ^{qrs}	۰/۳۹۲ ^{rs}	۰
۰/۶۵۳ ^{lm}	۰/۵۳۴ ^{op}	۰/۵۶۹ ^{no}	۰/۳۹۰ ^{rs}	۰/۱۵
۰/۷۵۴ ^j	۰/۵۶۶ ^{no}	۰/۴۹۰ ^{pq}	۰/۳۶۵ ^s	۰/۳
۱/۲۹ ^a	۱/۲۷ ^a	۰/۵۸۸ ^{mno}	۱/۰۶ ^{cd}	۰
۱/۱۲ ^{bc}	۰/۹۸۹ ^{de}	۱/۳۲ ^a	۰/۸۰۴ ^{ij}	۰/۱۵
۱/۱۵ ^b	۰/۹۱۱ ^{fgh}	۰/۶۱۵ ^{lmn}	۰/۹۵۸ ^{ef}	۰/۳
۱/۲۹ ^a	۰/۹۳۵ ^{efg}	۰/۵۲۵ ^{op}	۰/۸۷۳ ^{ghi}	۰
۱/۳۰ ^a	۰/۷۳۰ ^{jk}	۰/۸۹۷ ^{fgh}	۰/۸۳۶ ^{hi}	۰/۱۵
۰/۹۵۶ ^{ef}	۰/۸۷۸ ^{ghi}	۱/۰۶ ^{cd}	۰/۶۶۶ ^{kl}	۰/۳

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

۴-۳-۲-۶- تأثیر برهمکنش همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر ضریب انتقال

کادمیوم در خرفه

نتایج نشان داد با افزایش تنش کادمیوم ضریب انتقال کادمیوم به شاخساره گیاه خرفه افزایش یافت این روند افزایشی هم در گیاهان شاهد (عدم تلقیح) و هم در گیاهان همزیست شده مشاهده گردید با این تفاوت که در حضور قارچ‌ها ضریب انتقال کادمیوم در گیاه به نسبت گیاهان شاهد بیشتر بود. بیشترین ضریب انتقال کادمیوم در سطوح ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک با کاربرد غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) با به ترتیب حدود ۶۳ و ۴۵ درصد افزایش نسبت به شاهد (عدم تلقیح و محلول‌پاشی) مشاهده شد. در حالیکه در سطح ۲۵ کادمیوم کاربرد غلظت ۰/۳ گرم در لیتر موجب افزایش ۴۳ درصدی ضریب انتقال کادمیوم در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN1) نسبت به شاهد شد (جدول ۴-۴۹).

جدول ۴-۴۹- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچی و نانوذرات آهن بر ضریب انتقال کادمیوم در خرفه

همزیستی قارچی			نانوذرات آهن		کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (UTFC10060)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN1)	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF3)	شاهد	(گرم در لیتر)	
۰/۰۷۱ ^z	۰/۱۵۰ ^z	۰/۰۴۱ ^z	۰/۰۴۳ ^z	۰	
۰/۰۳۵ ^z	۰/۱۱۵ ^z	۰/۰۵۲ ^z	۰/۰۴۱ ^z	۰/۱۵	۰
۰/۰۳۳ ^z	۰/۰۷۱ ^z	۰/۰۵۴ ^z	۰/۰۵۲ ^z	۰/۳	
۲/۱۹ ^{pqr}	۱/۶۳ ^{wx}	۱/۸۲ ^{uvw}	۱/۴۹ ^{xy}	۰	
۲/۳۳ ^{n-q}	۱/۶۶ ^{vwx}	۲/۱۲ ^{q-t}	۱/۵۴ ^x	۰/۱۵	۲۵
۲/۴۹ ^{mno}	۲/۵۹ ^{lmn}	۲/۱۵ ^{p-s}	۱/۲۵ ^y	۰/۳	
۳/۶۳ ^g	۲/۷۱ ^{lm}	۱/۸۸ ^{t-w}	۱/۹۶ ^{r-u}	۰	
۴/۴۴ ^{cd}	۳/۰۹ ^{ij}	۵/۲۶ ^a	۲/۷۷ ^{kl}	۰/۱۵	۵۰
۴/۰۷ ^{ef}	۴/۶۸ ^{bc}	۲/۳۹ ^{nop}	۳/۳۳ ^{hi}	۰/۳	
۴/۰۴ ^f	۲/۷۸ ^{kl}	۱/۹۰ ^{s-v}	۲/۶۷ ^{lm}	۰	
۴/۸۲ ^a	۳/۰۳ ^{jk}	۳/۴۲ ^{gh}	۲/۵۸ ^{lmn}	۰/۱۵	۷۵
۴/۴۳ ^{cd}	۴/۴۱ ^{cd}	۴/۳۱ ^{de}	۲/۲۴ ^{opq}	۰/۳	

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

در مجموع یافته‌های این بخش بیانگر افزایش میزان کادمیوم خاک، ریشه و اندام هوایی خرفه با افزایش غلظت کادمیوم بود. به کارگیری قارچ‌های اندوفیت *T. atroviride* (SN1)، *C. subaffine* (SF3) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) میزان باقی مانده کادمیوم را در خاک کاهش و در ریشه و اندام هوایی افزایش داد. محلول‌پاشی نانوذرات آهن نیز بر افزایش میزان جذب کادمیوم تأثیر مثبتی داشت. بررسی شاخص‌های زیستی شامل فاکتور جذب زیستی ریشه، فاکتور انتقال و ضریب انتقال در گیاه خرفه هر چند با افزایش سطوح کادمیوم در تیمار عدم تلقیح افزایش یافت، اما همزیستی قارچی میزان این شاخص‌ها را در گیاهان تلقیح شده بیشتر کرد. در این زمینه کواکیک و همکاران (۲۰۰۶) اثر صفر، سه، ۶۰ و ۱۲۰ میکرومولار کادمیوم را بر میزان تجمع این عنصر در بخش‌های مختلف گیاهچه‌های بابونه بررسی و گزارش کردند که با افزایش مقدار کادمیوم در محیط رشد، تجمع این عنصر در ریشه و بخش هوایی افزایش یافت، ولی همیشه مقدار کادمیوم در ریشه بیشتر از بخش هوایی بود. چایارات و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند با افزایش سطوح مختلف کادمیوم و روی، غلظت فلزات در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه به طور معنی‌داری افزایش یافت به طوریکه انباشت کادمیوم و روی در ریشه بیشتر از

اندام‌های هوایی بود. در پژوهش‌های مختلف مشاهده شد که افزایش تنش کادمیوم موجب افزایش میزان آن در ریشه و گل خرفه (تایواری و همکاران، ۲۰۰۸)، برگ و اندام هوایی گیاه اسطوخودوس (آنگلوا و همکاران، ۲۰۱۵) و ریشه و اندام هوایی کلزا (خسروی و همکاران، ۱۳۸۸) گردید. همچنین در بررسی گیاه جذبی کادمیوم در سه گیاه مختلف زراعی و غیر زراعی (یونجه، آفتابگردان و تاج خروس) گزارش گردید با افزایش غلظت کادمیوم در خاک غلظت این عنصر در ریشه و اندام هوایی گیاهان نیز افزایش یافت (متشارزاده و همکاران، ۲۰۱۰). بیشترین غلظت کادمیوم در اندام هوایی در بین سه گیاه در آفتابگردان و بیشترین میزان فاکتور انتقال نیز در تاج خروس گزارش گردید. پریگویی و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی تأثیر ریزوسفر و عوامل گیاهی بر جذب کادمیوم در ذرت گزارش دادند که انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی بستگی به غلظت کادمیوم ریشه و شرایط ریزوسفری موثر در جذب کادمیوم دارد. در آزمایشی دیگر بر روی گیاه خردل نشان داده شد که با افزایش سطح آلودگی، شاخص جذب کادمیوم افزایش یافت و این افزایش مربوط به قدرت و توانایی گیاه در جذب این عنصر بود (کریمی و همکاران، ۲۰۱۲). در مورد تأثیر همزیستی قارچی مطالعه‌ای در همین زمینه نشان داد که حضور ریزموجودات در ریزوسفر می‌تواند به جذب عناصر توسط گیاه کمک نموده و سبب افزایش پتانسیل استخراج گیاهی شود. همچنین، این موجودات با ترشح مواد آلی، ضمن افزایش توانایی و سهولت در جذب عناصر ضروری و غیرضروری مثل کادمیوم، به طور مستقیم در حلالیت عناصر و افزایش جذب آن توسط گیاه نقش دارند (لیست، ۲۰۰۲). در این راستا، نتایج مشابهی توسط کائو و همکاران (۲۰۰۸) مبنی بر بهبود استخراج گیاهی کادمیوم در گیاه کلزا در زمان تلقیح با *T. atroviride* و افزایش کادمیوم گزارش شده است. جراح و همکاران (۱۳۸۹) نیز در بررسی تأثیر تلقیح قارچ *گلوبوموس* بر پالایش یک خاک آهکی آلوده به سطوح مختلف نیکل توسط آفتاب گردان گزارش دادند که با تلقیح قارچ میزان جذب نیکل در اندام هوایی آفتابگردان افزایش یافت. در بالاترین سطح نیکل با تلقیح قارچ کارایی جذب و استخراج آفتابگردان افزایش، اما کارایی انتقال آفتابگردان کاهش یافت. با همزیستی قارچ‌های *تریکودرما* و *پیریفورموسپورا* نیز افزایش جذب کادمیوم در دو گیاه خرفه و بادرنجبویه مشاهده

شد (یعقوبیان، ۱۳۹۴). طبق پژوهش شکری و همکاران (۱۳۹۵) تلقیح گل جعفری با میکوریز/ سبب انتقال بیش تر عناصر مانند فسفر به اندام هوایی گیاه شد، همچنین سبب تثبیت و تجمع بیش تر عنصر کادمیوم در بخش ریشه‌ای گیاه گردید. محکمی و همکاران (۱۳۹۷) نیز بیان کردند که قارچ‌های میکوریز/ می‌تواند در افزایش کارایی گیاه‌پالایی گیاه دارویی آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak.) در خاک آلوده به کادمیوم و سرب مؤثر باشد به طوری که این قارچ‌ها تجمع کادمیوم و سرب ریشه و شاخساره را افزایش می‌دهند.

۴-۴- نتیجه‌گیری نهایی

۴-۴-۱- آزمایش مقدماتی (مرحله اول)

در این مرحله نتایج بیانگر کاهش تمامی صفات مورفولوژیک، رویشی و فیزیولوژیک گیاه خرفه با افزایش سمیت کادمیوم خاک بود. بیشترین کاهش در بین صفات مورفولوژیک مربوط به ارتفاع بوته و سطح برگ (حدود ۵۰ و ۴۵ درصد) و کمترین کاهش مربوط به تعداد برگ و قطر ساقه (حدود ۲۵ و ۲۹ درصد) بود. وزن تر ساقه با بیش از سه برابر کاهش بیشترین حساسیت و وزن خشک ریشه با ۵۵ درصد کاهش کمترین حساسیت را در بین صفات رویشی نشان دادند. همچنین در بین صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی با افزایش سمیت کادمیوم خاک محتوای نسبی آب برگ (۴۵ درصد) و پروتئین (۲۵ درصد) روند کاهشی نشان دادند در حالیکه میزان نشت الکترولیت (حدود ۲۵ درصد)، پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید افزایش یافت. در بین صفات مورفولوژیک بیشترین تأثیر مثبت محلول‌پاشی نانوذرات آهن در غلظت ۰/۲۵ گرم در لیتر بر ارتفاع بوته و سطح برگ گیاه خرفه مشاهده شد. همچنین در همین غلظت نانوذرات محتوای نسبی آب برگ ۱۴ درصد افزایش یافت. غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن موجب بهبود وزن خشک برگ و ریشه و همچنین محتوای کلروفیل‌ها در سطوح پایین سیمت کادمیوم گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز تا غلظت ۰/۳ گرم در لیتر محلول‌پاشی نانوذرات افزایش یافت. بیشترین تغییرات در پارامترهای اندازه‌گیری شده برای کادمیوم خاک به طور میانگین در سطوح ۰ تا ۷۵ اتفاق افتاد. بنابراین با توجه به نتیجه این مرحله، سطح ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک برای مرحله دوم مقدماتی و آزمایش تکمیلی انتخاب گردید، تا هم در سطوح بالای کادمیوم روند تغییرات صفات مورد بررسی مربوط به تحمل و گیاه‌پالایی در خرفه تحت تیمارهای دیگر به‌وضوح مشاهده شود و هم سطوح بالاتر از ۷۵ کادمیوم، به دلیل کاهش بسیار زیاد مقدار نمونه گیاهی، انتخاب نشد تا مقدار کافی نمونه برای اندازه‌گیری‌های بعدی وجود داشته باشد. از طرفی با توجه به اینکه در بیشتر صفات اندازه‌گیری شده غلظت‌های پایین نانوذرات آهن تأثیر مثبتی نشان داد برای

بررسی دقیق تر و بهتر اثرگذاری نانوذرات غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر برای مرحله آزمایش تکمیلی انتخاب گردید.

۴-۲-۴- آزمایش مقدماتی (مرحله دوم)

بررسی نتایج تجزیه کلاستر و گروه‌بندی ۱۳ جدایه قارچی استخراج شده از ریشه گیاهان مناطق تحت تنش عناصر سنگین شهر ساری (مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی) و گیاهان بومی مازندران و منطقه تحت تنش خشکی شهر شاهرود استان سمنان و دو قارچ شاهد *P. indica* و *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) در هر سطح کادمیوم نشان داد جدایه‌های قارچی *Chaetomium subaffine* (SF3) و *Trichoderma atroviride* (SN1) در تمام سطوح کادمیوم در بهترین گروه از نظر صفات مورفولوژیک، رویشی و همچنین صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی قرار داشت. در گروه‌های این قارچ‌ها، گیاهان کمترین میزان نشت الکترولیت و بیشترین محتوای نسبی آب برگ را در هر سطح داشتند. در این گروه بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فعالیت کمتری داشتند. از طرفی میزان پروتئین بیشتر و مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن کمتری در این تیمارهای قارچی مشاهده شد. با توجه به عملکرد بهتر قارچ *تری‌کودرما* در سطوح صفر، ۲۵ و ۷۵ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک نسبت به قارچ *پیریفورموسپورا*، بنابراین از بین دو قارچ این قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) برای مرحله‌ی تکمیلی آزمایش به عنوان قارچ شاهد انتخاب گردید. نتیجه‌ی رنگ‌آمیزی ریشه گیاه خرفه در تیمارهای مختلف، همزیستی دو جدایه قارچی *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) را نیز تأیید کرد. بنابراین سه قارچ *T. longibrachiatum* (UTFC 10060)، *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) برای مرحله آزمایش تکمیلی انتخاب شدند.

۴-۳-۴- آزمایش تکمیلی

در نهایت نتایج مرحله آزمایش تکمیلی نشان داد مطابق مراحل آزمایش مقدماتی افزایش سمیت کادمیوم خاک موجب کاهش تمامی صفات رشدی و مورفولوژیک گیاه خرفه گردید. همچنین سبب افزایش میزان پراکسید هیدروژن، نشت الکترولیت، پراکسیداسیون لیپیدی غشا، کاهش محتوای نسبی آب برگ و همچنین محتوای کلروفیل و در نتیجه کاهش فتوسنتز و رشد گردید. در صورتی که همزیستی با قارچ‌های *C. subaffine* (SF3)، *T. atroviride* (SN1) و *T. longibrachiatum* (UTFC10060) میزان صفات رویشی، مورفولوژیک و فیزیولوژیک را بهبود بخشید. گیاهان تلقیح شده، ارتفاع بوته، تعداد و سطح برگ، قطر ساقه و همچنین مجموع وزن تر و خشک برگ بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند. همچنین این قارچ‌ها از طریق کاهش میزان نشت الکترولیت، پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید و افزایش محتوای نسبی آب برگ و پرولین موجب کاهش اثرات منفی سمیت کادمیوم در گیاه شدند که در پی آن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نیز در این گیاهان کاهش یافت. کاربرد غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر نانوذرات آهن نیز با کاهش تنش اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، میزان پرولین و محتوای نسبی آب برگ و بهبود شرایط فتوسنتزی تأثیر مثبتی بر رشد گیاه خرفه داشت. با افزایش غلظت کادمیوم خاک میزان آن در ریشه و شاخساره خرفه افزایش یافت، همچنین موجب افزایش شاخص‌های زیستی در این گیاه گردید، مقادیر عددی شاخص‌های زیستی نشانگر توانایی خرفه در گیاه‌پالایی می‌باشد. از طرفی تلقیح قارچی نیز موجب افزایش توانایی گیاه‌پالایی خرفه نسبت به عدم تلقیح شد. به‌طوری‌که در گیاهان تلقیح شده میزان جذب کادمیوم قابل جذب از خاک افزایش یافت در نتیجه مقدار باقی‌مانده آن در خاک کمتر شد. همچنین میزان کادمیوم هم در ریشه و هم انتقال آن به اندام هوایی افزایش یافت که در نهایت باعث افزایش فاکتورهای زیستی گردید. کاربرد نانوذرات آهن نیز با بهبود شرایط تغذیه‌ای و رشدی گیاه تحت تنش کادمیوم سبب افزایش جذب کادمیوم و در نتیجه افزایش شاخص‌های زیستی شدند. به طور کل در این آزمایش جدایه‌های قارچی *C. subaffine* (SF3) و *T. atroviride* (SN1) که برای اولین بار در ایران از

گیاهان اناریجه و علف چشمه جداسازی شده‌اند را می‌توان به عنوان قارچ‌های اندوفیت و همزیست ریشه معرفی کرد که در گیاه خرفه موجب بهبود رشد و فرآیند گیاه‌پالایی و کاهش تنش اکسیداتیو تحت تنش کادمیوم شدند. همچنین نانوذرات آهن به عنوان تیمار بهبود دهنده در شرایط سمیت کادمیوم تأثیر مثبتی بر رشد گیاهان داشت.

۴-۳- پیشنهادها

۱. پیشنهاد می‌شود این آزمایش در شرایط مزرعه‌ای ادامه یابد.
۲. آزمایش‌های تکمیلی جهت شناسایی متابولیت‌های ثانویه و سایر سازوکارهای این جدایه‌های قارچی و تأثیر آن بر گیاهان انجام شود.
۳. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در قسمت‌های دیگر خرفه از جمله ریشه در تلقیح با این قارچ‌ها اندازه‌گیری شود.
۴. سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله گلوکاتاتیون اس- ترانسفراز و آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله فلاونوئیدها مورد سنجش و بررسی قرار گیرند.
۵. تأثیر حضور سایر عناصر غذایی از قبیل روی و کلسیم که می‌توانند با نقش کادمیوم رقابت نمایند، بر جذب و انتقال کادمیوم در خرفه مورد مطالعه قرار بگیرد.

مراجع

اثنی عشری ا. و انتشاری ش، (۱۳۹۷) "مقایسه اثرات کلرید آهن، کلات آهن و نانو آهن بر مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی اکسیدانی گیاه بادرنجبویه تحت تیمار آلومینیوم" **مجله فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۷، دوره ۲۳: ص ۱۹۴-۲۰۴.

احمدوند س. بهمنی ر. حبیبی د. و فروزش پ، (۱۳۹۲) "بررسی اثر کلرید کادمیوم بر پارامترهای رشد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در گیاهچه‌های لوبیا (*Phaseolus Vulgaris* L.)" **مجله زراعت و اصلاح نباتات**، شماره ۸: ص ۱۶۷-۱۸۲.

اختیاری ر. و مراقبی ف، (۱۳۹۰) "بررسی اثرات ذرات نانو نقره بر تحمل به شوری گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.)" **مجله گیاه و زیست بوم**، دوره ۲۵: ص ۹۹-۱۰۷.

ارزانی ا. خوش گفتار منش ا. و زاهدی م، (۱۳۹۱) "تأثیر تغذیه برگ‌ی نانو ذرات آهن و روی بر پاسخ گندم و ذرت به تنش شوری" **نشریه پژوهش‌های زراعی ایران**، شماره ۱۲، دوره ۱: ص ۱۱۷-۱۱۰. ارشاد ج، (۱۳۹۷) "**جنس‌های قارچ‌ها و شبه قارچ‌های ایران**" جلد اول، چاپ اول، انتشارات مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، ص ۹۷۷.

اصلانی ز. حسنی ا. رسولی صدقیانی م. سفیدکن ف. و بارین م، (۱۳۹۰) "تأثیر دو گونه قارچ آربوسکولار مایکوریزا (*Glomus intraradices* و *Glomus mosseae*) بر رشد، مقادیر کلروفیل و جذب فسفر در ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش خشکی" **مجله گیاهان دارویی و معطر ایران**، شماره ۲۷، دوره ۳: ص ۴۷۱-۴۸۶.

افتخار ن. فلاح س. عباسی سورکی، ع. خداوردی لو ح. و رحیمی لو ا، (۱۳۹۸) "اثر پیش تیمار اسید سالیسیلیک و نیترات پتاسیم بر افزایش بردباری آفتابگردان در خاک‌های آلوده به کادمیم" **مجله علوم و تحقیقات بذر ایران**، شماره ۶، دوره ۲: ص ۱۷۵-۱۶۱.

امانی‌فر، س. وطن‌خواه ا. طغرانگار ز. و اکبری واحد س، (۱۳۹۸) "تأثیر قارچ شبه‌مایکوریز *Piriformospora indica* بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) تحت تنش کم‌آبی" **نشریه دانش آب و خاک**، شماره ۲۹، دوره ۱: ص ۳۶۳-۳۵۰.

امیری‌نژاد م. اکبری غ. ع. باقی‌زاده ا. شهبازی م. و نعیمی م، (۱۳۹۴) "اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی آهن و روی بر برخی صفات بیوشیمیایی گیاه دارویی زیره سبز" **به‌زراعی کشاورزی**، شماره ۱۷، دوره ۴: ص ۸۵۵-۸۶۶.

ایران‌خواه س. گنجعلی ع. لاهوتی م. و مشرقی م، (۱۳۹۵) "بررسی تأثیر باکتری *Pseudomonas putida* و قارچ *Glomus intraradices* بر برخی صفات مورفولوژی و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله

(*Trigonella foenum-graecum* L.) "نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، شماره

۳۰، دوره ۱: ص ۱۱۲-۱۲۱.

بارنده ف. و کاووسی ح، (۱۳۹۵) "اثر کلرید کادمیوم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای پرولین، میزان پروتئین‌های محلول و برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاهچه عدس" **مجله فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۵، دوره ۱۶: ص ۱۱۷-۱۳۳.

برین م. رسولی صدیقیانی م.ج. و خداوردیلو ح، (۱۳۹۳) "بررسی تأثیر مایه‌زنی میکروبی در خصوصیات کمی و کیفی گیاه گل گندم (*Centaurea cyanus*) در یک خاک آلوده به کادمیوم" **نشریه زیست شناسی خاک**، شماره ۳، دوره ۲: ص ۱۵۰-۱۳۷.

بهتاش ف. طباطبایی س.ج. ملکوتی م.ج. سرورالدین م.ج. و اوستان ش، (۱۳۸۹) "اثر روی و کادمیم بر رشد، مقدار کلروفیل، فتوسنتز و غلظت کادمیم در چغندر لبویی" **مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)**، شماره ۱: ص ۳۱-۴۱.

بیاتی ف. آینه‌بند ا. و فاتح ا، (۱۳۹۳) "بررسی تأثیر مقادیر و زمان‌های کاربرد کود آهن نانو بر عملکرد و اجزای عملکرد کلزا (*Brassica napus* L.)" **نشریه پژوهش‌های زراعی ایران**، شماره ۱۲، دوره ۴: ص ۸۱۲-۸۰۵.

پارسادوست، ف. بحرینی نژاد ب. صفری سنجانی، ع.ا. و کابلی م.م، (۱۳۸۶) "گیاه‌پالایی عنصر سرب توسط گیاهان مرتعی و بومی در خاک‌های آلوده منطقه ایران کوه (اصفهان)" **مجله پژوهش و سازندگی**، شماره ۷۵: ص ۶۳-۵۴.

پنام ز. آستارایی ع. و لکزیان ا، (۱۳۹۵) "تأثیر اکسید روی (نانو و معمولی) و قارچ *Glomus intraradices* بر اجزای عملکرد و غلظت عناصر کم مصرف در گیاه لوبیا سبز" **مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای**، شماره ۷، دوره ۲۶: ص ۸۲-۷۱.

پوراکبر ل. و ابراهیم‌زاده ن، (۱۳۹۲) "اثر نیکل و مس بر بیومس، محتوای رنگیزه‌های و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی گیاه ذرت" **نشریه علوم دانشگاه خوارزمی**، شماره ۱۳، دوره ۱: ص ۷۰۱-۷۱۲.

پوراکبر ل. و اشرفی ر، (۱۳۹۰) "اثر کادمیوم بر میزان تولید هیدروژن پراکسید و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه ذرت" **نشریه علوم دانشگاه تربیت مدرس**، شماره ۹: ص ۴۸۴-۴۷۳.

پوراکبر ل، (۱۳۹۱) "اثرات کادمیوم بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه ذرت" **نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم**، شماره ۱۰، دوره ۴: ص ۹۷۶-۹۵۹.

پیرزاد ع.ل. طوسی پ. و درویش زاده ر، (۱۳۹۲) "اثر محلول پاشی عناصر آهن و روی بر صفات گیاهی و میزان اسانس آنیسون" **مجله علوم زراعی ایران**، شماره ۱۵، دوره ۱: ص ۲۳-۱۲.

پیوندی م. کمالی جامکانی ز. و میرزا م، (۱۳۹۰ الف) "تأثیر نانوکلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مرزه (*Satureja hortensis*)" **مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی**، شماره ۲، دوره ۵: ص ۳۲-۲۵.

پیوندی م. پرنده ه. و میرزا م، (۱۳۹۰ ب) "مقایسه تأثیر نانوکلات آهن با کلات آهن بر پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ریحان (*Basilicum Ocimum*)" **تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی**، شماره ۱، دوره ۴: ص ۸۹-۱۰۱.

تبریزی ل. محمدی س. دلشاد م. و متشعزاده ب، (۱۳۹۴) "تأثیر قارچ میکوریزا بر رشد و عملکرد گیاه دارویی رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) در شرایط تنش سرب و کادمیوم" **فصلنامه علوم محیطی**، شماره ۱۳، دوره ۲: ص ۳۷-۴۸.

تراپیان ش. و زاهدی م، (۱۳۹۲) "تأثیر تغذیه برگ‌ی سولفات آهن به دو شکل معمول و نانو ذرات بر رشد ارقام آفتابگردان تحت تنش شوری" **مجله علوم گیاهان زراعی ایران**، شماره ۴۴، دوره ۱: ص ۱۱۸-۱۰۹.

تفویضی م. متشعزاده ب. و ثواقبی غ، (۱۳۹۳) "بررسی اثر محلول پاشی آهن و آلودگی سرب بر برخی صفات فیزیولوژی دو هیبرید ذرت علوفه‌ای در یک خاک آهکی" **نشریه علوم گیاهان زراعی ایران**، شماره ۴۵، دوره ۲: ص ۲۲۶-۲۱۳.

تقوی قاسمخیلی ف. پیردشتی ه. تاجیک قنبری م.ع. و بهمنیار م.ع، (۱۳۹۳) "تأثیر قارچ تریکودرما هارزیانوم (*Trichoderma harzianum*) و کادمیوم بر شاخص تحمل و عملکرد جو (*Hordeum vulgare* L.)" **نشریه علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی**، شماره ۸، دوره ۴: ص ۴۸۲-۴۶۵.

تقوی قاسمخیلی ف. پیردشتی ه. تاجیک قنبری م.ع. و بهمنیار م.ع، (۱۳۹۴) "بررسی تأثیر قارچ تریکودرما و نیترا کادمیوم بر قابلیت جذب، انتقال و تجمع کادمیوم در گندم (*Triticum aestivum* L.)" **نشریه تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی**، شماره ۲، دوره ۱: ص ۱۶-۱.

تقی نسب درزی م، (۱۳۹۱) "تأثیر برخی جدایه‌های *Trichoderma spp.* بر افزایش رشد گیاهچه‌های خیار در شرایط گلخانه‌ای" **مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای**، شماره ۳، دوره ۱۱: ص ۹۱-۸۵.

تن‌زاده ج. شارق‌فر م. و پناهنده م، (۱۳۹۵) "استفاده از میکروارگانیزم‌ها در پاکسازی زیستی فلزات سنگین موجود در خاک" **مجله پژوهش و فناوری محیط زیست**، شماره ۱: ص ۶-۱.

جبارزاده ج. کاویانی م.ج. قاسمی ن. مهندسی ار. و صفریان س، (۱۳۸۹) "بررسی اثر قارچ (*Trichoderma harzianum* T22) بر کاهش خسارت بیماری‌های خاکزاد و بهبود عملکرد و کیفیت گوجه فرنگی گلخانه‌های منطقه تهران"، خلاصه مقالات نوزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، ص ۸۲۳، تهران

جراح م. قاسمی ر. و مایل س، (۱۳۸۹) "کارایی قارچ‌های میکوریز/ و EDTA بر پالایش خاک‌های آهکی آلوده شده به نیکل توسط آفتابگردان"، اولین کنفرانس ملی گیاه‌شناسی، مرکز بین‌المللی علوم و فناوری محیط زیست. ایران، ص ۱۵۶-۱۵۲، کرمان

جوادزین ا. متشرع زاده ب. و احمدی ع، (۱۳۹۵) "ارزیابی فعالیت بعضی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت سمیت کادمیوم در دو رقم گندم" **نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار**، شماره ۶، دوره ۴: ص ۳۱-۲۱.

حاجی‌نیا س. زارع م.ج. محمدی گل‌تپه ا. و رجالی ف، (۱۳۹۰) "بررسی سودمندی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum sp.* در افزایش تحمل گندم رقم سرداری (*Triticum aestivum*) به تنش شوری" **مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی**، شماره ۴، دوره ۱: ص ۳۱-۲۱.

حسین قمری ح. شفق کلوانق ج. صباغپور س.ح. و دباغ محمدی نسب ع، (۱۳۹۴) "اثرات کودهای زیستی و شیمیایی بر برخی از شاخص‌های رشد خرفه (*Portulaca oleracea* L.) و بالنگوی شهری (*Lallemantia iberica* Fischer) در کشت خالص و مخلوط" **نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار**، شماره ۲۵، دوره ۴: ص ۴۵-۲۵.

حقیقی م. و کافی م، (۱۳۹۰) "اثر سمیت کادمیم بر تغییر میزان شاخص‌های پرولین و آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهو (*Lactuca sativa* L.)" **نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)**، شماره ۲۷، دوره ۴: ص ۳۶۶-۳۵۹.

حیدری م. گلیج م. قربانی ه. و برادران‌فیروزآبادی م، (۱۳۹۴) "تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی نانوآکسید آهن بر عملکرد دانه، محتوای یونی و رنگدانه‌های نورساختی کنگد" **مجله علوم گیاهان زراعی ایران**، شماره ۴۶، دوره ۴: ص ۶۲۸-۶۱۹.

خسروی ف. ثوابقی فیروزآبادی غ. و فرحبخش ح، (۱۳۸۸) "اثر کلرید پتاسیم بر جذب کادمیوم توسط کلزا و آفتابگردان در یک خاک آلوده" نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، شماره ۲۳، دوره ۳: ص ۲۸-۳۵.

خلیقی جمال آباد ا. و خارا ج، (۱۳۸۷) "تأثیر قارچ میکوریزای آربوسکولار *Glomus intraradices* بر روی تنش اکسیداتیو و برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی در گیاه گندم رقم آذر ۲ تحت سمیت کادمیوم" **مجله زیست شناسی ایران**، شماره ۲۱، دوره ۵: ص ۱۵-۱. خوش منظر ا. علی اصغر زاد ن. ارزنلو م. نیشابوری م. و خوشرو ب، (۱۳۹۸) "تأثیر گونه‌های تریکودرما بر رشد و جذب عناصر غذایی در گوجه فرنگی تحت تنش کم آبی" **نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار**، شماره ۲۹، دوره ۲۲: ص ۱۲۰-۱۰۷.

دالوندگماری ک. و افتخاری س.ع، (۱۳۹۷) "تأثیر کادمیوم بر صفات رویشی، شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تربچه نقلی (*Raphanus sativus* L)" **نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)**، شماره ۳۲، دوره ۳: ص ۵۲۹ - ۵۱۷.

دهبوید ز. تاجیک‌قنبری م.ع. رحیمیان ح. و ارزنلو م. (۱۳۹۲) "معرفی گونه‌های جدید از راسته *Mucorales* برای میکوبیوتای ایران" **نشریه رستنی‌ها**، شماره ۱۴، دوره ۲: ص ۱۰۸-۱۲۳. رحیمی ط. و رونقی ع، (۱۳۹۱) "اثر کاربرد منابع مختلف روی بر غلظت کادمیوم و برخی عناصر کم مصرف در گیاه اسفناج در یک خاک آهکی" **مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای**، شماره ۳، دوره ۱۰: ص ۱۱۱-۱۰۱.

رستمی م. کرمیان ر. و جولایی ز، (۱۳۹۴) "بررسی اثر فلزات سنگین مختلف بر صفات فیزیولوژیک گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.)" **نشریه زراعت و فناوری زعفران**، شماره ۳، دوره ۲: ص ۹۶-۸۳.

رضایی ر. حسینی س.م. شعبانعلی فمی ح. و صفال، (۱۳۸۸) "شناسایی و تحلیل موانع توسعه‌ی فناوری نانو در بخش کشاورزی ایران از دیدگاه محققان" **فصلنامه علمی-پژوهشی سیاست علم و فناوری**، شماره ۲، دوره (۱): ص ۲۶-۱۷.

رفعتی م. خراسانی ن. مراقبتی ف. و شیروانی ا، (۱۳۹۱) "توانایی پونه‌های توت سفید (*Morus aba*) و سپیدار (*Populus alba*) در تثبیت و برداشت فلزات سنگین" **نشریه محیط‌زیست طبیعی (مجله منابع طبیعی ایران)**، شماره ۶۵، دوره ۲: ص ۱۸۱-۱۹۱.

رفیعی م. مداح حسینی ش. حمیدپور م. و محمدی میریک ع.ا، (۱۳۹۷) "برهمکنش کلرید سدیم و کادمیوم بر برخی صفات فیزیولوژیک و محتوای سدیم و کادمیوم ریشه و اندام هوایی خرفه (*Portulaca oleracea*)" **نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار**، شماره ۸، دوره ۴: ص ۴۳-۶۰.

رمضانپور احمدچالی ا. (۱۳۹۵)، پایان نامه ارشد: "اثر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر تحمل گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) به سمیت مس تحت شرایط کنترل شده"، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،

رئیزی زاده س.ی. و جهانبخش گده کهریز س، (۱۳۹۵) "تأثیر کلرید کادمیوم و جیوه بر میزان قند محلول، پروتئین کل، اسید آمینه‌های پرولین، لیزین، متیونین و برخی آنزیم‌ها در دو رقم گندم نان (*Triticum aestivum* L.)" **مجله فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۵، دوره ۱۶: ص ۱۴۳-۱۵۶.

سالاری میری ف. رحیمی ا. علایی ح. و محمدی ع، (۱۳۹۵) "تأثیر خشکی و قارچ تریکودرما بر برخی شاخص‌های رشدی زنیان"، سومین همایش یافته‌های نوین در محیط‌زیست و اکوسیستم‌های کشاورزی، ص ۶۵۳۵، دانشگاه تهران

سپهری م. صالح‌راستین ن. حسینی‌سالکده ص. و خیام‌نکویی م، (۱۳۸۸) "بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) به تنش شوری" **مجله علمی پژوهشی مرتع**، شماره ۳، دوره ۳: ص ۵۰۸-۵۱۸.

سراج ف. پیردشتی ه. یعقوبیان ی. و قاسمی عمران و، (۱۳۹۸) "اثر قارچ *Piriformospora indica* بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و کارکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی استویا تحت تنش شوری و خشکی" **مجله فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۸، دوره ۲۹: ص ۳۱-۴۲.

سراج ف. سلیمی تملی ن. پیردشتی ه. و یعقوبیان ی، (۱۳۹۶) "پاسخ مؤلفه‌های رویشی و فیزیولوژیکی گیاه گندم به شوری و تأثیر پیش تیمار زیستی بذر با قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma virens* در بهبود سازگاری گیاه به تنش شوری" **نشریه علوم و فناوری بذر ایران**، شماره ۶، دوره ۲: ص ۷۷-۹۰.

سعیدی ابواسحاقی ر. یدای ع. موحدی دهنوی م. و بلوچی ح.ر، (۱۳۹۳) "اثر دور آبیاری و محلول‌پاشی آهن و روی بر برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک لوبیا قرمز (*Phaseolous vulgaris* L.)" **مجله فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۳، دوره ۷: ص ۲۸-۴۱.

سلطانی ف. قربانلی م. و منوچهری کلانتری خ، (۱۳۸۵) "اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندها و مالون دی‌آلدئید در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)" **مجله زیست‌شناسی ایران**، شماره ۲: ص ۱۳۶-۱۴۵.

سلیمی تملی ن. پیردشتی ه. یعقوبیان ی. و قاسمی عمران و، (۱۳۹۸) "پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیک و سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* B.) به تلقیح قارچ *Piriformospora indica* تحت تنش کادمیوم" **مجله فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۸، دوره ۲۳: ص ۸۵-۱۰۰.

سلیمی تملی ن، (۱۳۹۵)، پایان نامه ارشد: "اثر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر تحمل گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) به سمیت کادمیوم تحت شرایط کنترل‌شده" دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،

سماوات س، بایوردی ا، ملکوتی م.ج، و طهرانی م، (۱۳۸۴) "حد مجاز کادمیوم در کودهای شیمیایی، محصولات زراعی و باغی" نشریه شماره ۴۳۷، موسسه تحقیقات آب و خاک، انتشارات سنا، تهران، ۲۰ ص.

سید رحمانی ر. و معالی‌امیری ر، (۱۳۹۳) "مسیر سیگنال‌دهی ROS و نقش آن در تنش‌های محیطی" **ژنتیک در هزاره سوم**، شماره ۱۲، دوره ۲: ص ۲۶۰۳-۳۵۸۸.

سیم‌چی ع، (۱۳۸۷) "آشنایی با نانو ذرات" جلد اول، چاپ سوم، مؤسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ۲۸۰ ص.

شاه‌حسینی م.ج، و سید رضای تهرانی س.م، (۱۳۸۰) "واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)" جلد اول، چاپ اول، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ۱۶۶ ص.

شفیعی ا. و میرغفاری ن، (۱۳۹۱) "پراکنش کادمیوم در مناطق شهری اصفهان" **مجله محیط زیست و توسعه**، شماره ۳، دوره ۵: ص ۲۵-۳۰.

شکاری ل. کامل منش م.م. و صادقی ف، (۱۳۹۳) "اثرات غلظت کادمیوم در آب آبیاری بر عملکرد و برخی صفات رشدی و مورفولوژیکی گیاه فلفل (*capsicum Frutescens*)" **نشریه پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)**، شماره ۲۸، دوره ۴: ص ۶۳۵-۶۴۶.

شکری ز. برومند ن. سرچشمه پور م. و عزیزاده ح، (۱۳۹۵) "تأثیر قارچ میکوریزا-آربوسکولار بر گیاه-پالایی کادمیوم توسط گل جعفری زینتی (*Tagetes erecta*)" **نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار**، شماره ۶، دوره ۱: ص ۱۹۱-۲۰۴.

صابری م. طویلی ع. جعفری م. و حیدری م، (۱۳۸۹) "تأثیر سطوح مختلف عناصر سنگین بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های *Atriplex lentiformis*" **مجله علمی پژوهشی مرتع**، شماره ۴، دوره ۱: ص ۱۱۲-۱۲۰.

صالحی م. تمسکنی ف. احسانی م. و عارفی م، (۱۳۸۸) "تأثیر پرایمینگ بر جوانه زنی و رشد گیاهچه کلزا در مقایسه با نانوسیلور تحت تنش شوری" فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، شماره ۴: ص ۵۲-۵۷.

صدوری م. و قرچه ن، (۱۳۹۲) "نقش قارچ‌های همزیست ریشه در احیای زمین‌های آلوده در احیای زمین‌های آلوده به مواد سمی" دانش بیماری شناسی گیاهی، شماره ۲، دوره ۲: ص ۴۵-۶۰.

طالعی د. شریفی ر. و پیرصالحی س.م، (۱۳۹۷) "مطالعه واکنش‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) به متیل جاسمونات تحت تنش شوری" مجله به زراعی کشاورزی، شماره ۲۰، دور ۳: ص ۶۶۷-۶۶۸.

طهماسبی شامنصوری م. عنایتی ضمیر ن. راهنما قهفرخی ا. و چرم م، (۱۳۸۶) "تأثیر قارچ *Trichoderma virens* و سیلیسیم بر برخی ویژگی‌های گندم در شرایط شور" نشریه دانش آب و خاک، شماره ۲۷، دوره ۴: ص ۱۵۹-۱۷۱.

عراقی م.م، (۱۳۹۰) "نقش گونه‌های *Trichoderma* در افزایش رشد گیاهان" مجله دانش بیماری‌شناسی گیاهی، شماره ۱، دوره ۱: ص ۳۴-۴۲.

عرب ر. یدوی ع. بلوچی ح. و خادم حمزه ح، (۱۳۹۷) "اثر دور آبیاری و محلول‌پاشی عناصر آهن و روی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و عملکرد آفتاب‌گردان" نشریه تولید گیاهان زراعی، شماره ۱۱، دوره ۲: ص ۷۷-۹۰.

عسکری م. امیرجانی م. و صابری ط، (۱۳۹۳) "بررسی اثرات نانو کود آهن بر رشد برگ، مقدار کربوهیدرات و آنتی اکسیدان‌های پریوش" فرآیند و کارکرد گیاهی، شماره ۷، دوره ۳: ص ۴۳-۵۵.

علی‌زاده فروتن م. پیردشتی ه. و یعقوبیان ی، (۱۳۹۳) "اثر تیمارهای بیولوژیکی بذر بر مقاومت گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) به تنش عنصر سنگین مس در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای" نشریه تحقیقات بذر، شماره ۴، دوره ۲: ص ۱-۱۲.

غفاری ز. داودی م.ج. و شهبازی ک، (۱۳۹۱)، "اصلاح آب‌های آلوده به کادمیوم با استفاده از نانوذرات آهن صفر"، اولین کنفرانس ملی نانو فناوری و کاربردهای آن در کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی تهران، کرج،

غلامی ا. عباسپور ح. گرامی م. و قربانی ا، (۱۳۹۵) "تأثیر محلول‌پاشی نانوکلات آهن بر ویژگی‌های رشد و فیزیولوژیک ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش شوری" مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، شماره ۸، دوره ۲: ص ۱۱۷-۱۳۳.

فاطمی ح. اسماعیلپور ب. اشرف سلطانی طولارود ع. و نعمت‌اله زاده ع، (۱۳۹۶) "تأثیر محلول‌پاشی نانو ذرات سیلیسیم بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) در شرایط تنش فلز سنگین سرب" **دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، شماره ۳۳، دوره ۵: ص ۸۷۰-۸۵۳.

فتاحی کیاسری ا. فتوت ا. آستارایی ع.ر. و حق نیا غ، (۱۳۸۹) "اثر اسید سولفوریک و EDTA بر گیاه پالایی سرب در خاک توسط سه گیاه آفتابگردان، ذرت و پنبه" **مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک**، شماره ۱۴، دوره ۵۱: ص ۶۸-۵۷.

فتحی امیرخیز ک. امینی دهقی م. مدرس ثانوی س.ع.م. و حیمتی س، (۱۳۹۰الف) "اثر کاربرد خاکی و برگ‌گی عنصر آهن (Fe) بر برخی خصوصیات بیوشیمایی گلرنگ (*Caethamus tinctorius* L.) تحت دو رژیم رطوبتی" **علوم گیاهان زراعی ایران**، شماره ۴۲، دوره ۳: ص ۵۱۸-۵۰۹.

فتحی امیرخیز ک. امینی دهقی م. مدرس ثانوی س.ع.م. رضازاده ع. و حشمتی س. (۱۳۹۰ب) "اثر مصرف آهن بر فعالیت آنزیمی، عملکرد دانه و میزان روغن دانه گلرنگ در شرایط کمبود آب" **مجله علوم زراعی ایران**، شماره ۱۳، دوره ۳: ص ۴۶۵-۴۵۲.

فتحی ع.ر. و زاهدی م، (۱۳۹۳) "تأثیر محلول‌پاشی نانو ذرات اکسیدآهن و روی بر رشد و محتوای یونی دو ژنوتیپ ذرت (*Zea mays*) در شوری‌های متفاوت خاک" **نشریه پژوهش‌های زراعی ایران**، شماره ۱۲، دوره ۱: ص ۱۱۷-۱۱۰.

فراهانی ف، سرتیپ‌نیا ن، و طالعی د، (۱۳۹۴)، "بررسی تأثیر تیمار نانو کود آهن بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) اولین همایش ملی تخصصی علوم کشاورزی و محیط زیست ایران، ص ۱۰۷۰، اردبیل،

فرزنامی سپهر م. و هانی ع، (۱۳۹۵) "گیاه‌پالایی دست آوردی سبز برای پالایش سیاهی (مقاله مروری)" **نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی**، شماره ۱۱، دوره ۴۴: ص ۱۰۰-۸۸.

فصیحی م.م. شمشیری ح. کریمی ح.ر. و روستا ح.ر، (۱۳۹۳) "اثر قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus moseae*) بر رشد رویشی گیاه خیار گلخانه‌ای رقم ناهید (NIZ51484) در سطوح مختلف بیکربنات سدیم آب آبیاری" **علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای**، شماره ۵، دوره ۱۷: ص ۶۲-۵۳.

فقیه‌عبداللهی ل. پیردشتی ه. یعقوبیان ی. و علوی س.م، (۱۳۹۴) "پیامد کاربرد قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma tomentosum* بر رشد گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در سطوح مختلف نیترات مس" **نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار**، شماره ۵، دوره ۱: ص ۱۱۳-۱۲۷.

فلاح س. و سلطانی‌نژاد ف، (۱۳۹۵) "برهمکنش کادمیم و سطوح مختلف نیتروژن آلی و معدنی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea*)" **مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ایی**، شماره ۷، دوره ۲۶: ص ۱۶۳-۱۷۸.

قاسم نژاد ع. و بابایی‌زاد و، (۱۳۹۰) "رشد رویشی و میزان کافئیک اسید برگ کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) تحت تأثیر قارچ میکوریز *Priformospora indica*" **مجله پژوهش‌های تولید گیاهی**، شماره ۱۸، دوره ۱: ص ۱۴۰-۱۳۳.

قبولی م. شهریار ف. سپهری م. مرعشی ح. و حسینی سالکده ق، (۱۳۹۰) "تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی خصوصیات جو (*Hordeum vulgare* L.) در شرایط تنش خشکی" **نشریه بوم‌شناسی کشاورزی**، شماره ۳، دوره ۳: ص ۳۲۸-۳۳۶.

قدسی م. کمالی م. چایچی م. و مظاهری د، (۱۳۸۳) "ارزیابی حساسیت مراحل نمو گندم و همبستگی بین صفات مرتبط با عملکرد در شرایط تنش رطوبتی"، هشتمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، ص ۱۳۶۷، دانشگاه گیلان،

قربانعلی م. و کیاپور ع، (۱۳۹۱) "بررسی اثر غلظت‌های مختلف مس بر رنگیزه‌ها و فعالیت سیستم‌های دفاعی غیرآنزیمی و آنزیمی در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.)" **فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، شماره ۲: ص ۲۴۷-۲۳۵.

قربانی‌جاوید م. مرادی ف. اکبری ق. الله‌دادی ا، (۱۳۸۵) "نقش برخی متابولیت‌ها در ساز و کار تنظیم اسمزی در یونجه یکساله برگ بریده [*Medicago laciniata* (L.) Mill] در تنش خشکی" **مجله علوم زراعی ایران**، شماره ۸، دوره ۲: ص ۱۰۵-۹۰.

کاشانی آ. (۱۳۹۷)، پایان نامه دکتری: "تأثیر کاربرد نانوذرات آهن و مس صفر ظرفیتی بر عملکرد، میزان روغن و پروتئین بذر کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش شوری"، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،

کاشانی آ. پردشتی ه. بی پروا پ. و عمادی س.م، (۱۳۹۸) "پاسخ صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کلزا (*Brassica napus* L.) به کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده تحت تنش شوری" **مجله فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۸، دوره ۲۹: ص ۱۱۳-۹۵.

کاظم علیلو س. رسولی صدقیانی م، (۱۳۹۱) "اثر آلودگی کادمیومی خاک بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه بنگدانه (*Hyoscyamus niger* L.) در حضور و عدم حضور ریزجانداران محرک رشد گیاه" **نشریه آب و خاک**، شماره ۲۲، دوره ۴: ص ۳۰-۱۸.

کافی م، برزویی ا، صالحی م، معصومی ع و نباتی ج، (۱۳۸۸) "فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان" انتشارات جهاد دانشگاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، ص ۵۰۴.

کریمی شروانی ف. سپهری م. افیونی م. و حاج عباسی م.ع، (۱۳۹۴) "اثر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر افزایش مقاومت گیاه جو به فلز سرب" **مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی (علوم آب و خاک)**، شماره ۱۹، دوره ۷۱: ص ۳۱۱-۳۲۰.

کمری ا. و فرشادفر م، (۱۳۹۱) "فناوری نوین گیاه پالایی برای ایجاد محیط‌زیست پایدار" **مجله ایمنی زیستی**، شماره ۵، دوره ۲: ص ۱۰۷-۱۲۱.

کوچکی ا و خواجه حسینی م، (۱۳۸۷) "زراعت نوین" انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ص ۷۱۲.

کرامت ب. دریایی ف. و آروین، م.ج، (۱۳۹۳) "بررسی اثرات متقابل سلنیوم و کادمیوم بر محتوای آلدئیدها، پراکسیدهایروژن و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه گندم رقم کویر" **مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)**، شماره ۲۷، دوره ۳: ص ۵۰۰-۴۹۰.

متقیان آ. پیردشتی ه. بهمنیار م.ع. و متقیان ب، (۱۳۹۴) "تأثیر کاربرد هم زمان کمپوست زباله شهری و سه گونه قارچ تریکودرما (*Trichoderma spp*) بر خصوصیات رشدی و جذب عناصر غذایی در گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.)" **نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار**، شماره ۵، دوره ۴: ص ۲۱-۴۰.

محکمی ز. بیدرنامنی ف. غفاری مقدم ز. و فروزنده م، (۱۳۹۷) "تأثیر قارچ‌های میکوریزا بر گیاه‌پالایی سرب و کادمیوم توسط گیاه دارویی آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak.)" **نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک**، شماره ۲۵، دوره ۴: ص ۲۴۲-۲۲۵.

محمدزاده آ، (۱۳۹۰)، "تأثیر نانو کود کلاته آهن بر محتوای آهن، رنگیزه‌های فتوسنتزی و شاخص سطح برگ لوبیا چیتی"، دومین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران، یزد

محمدی ا و گوهرزاد ف، (۱۳۹۴) "کاربرد عملی مبانی PCR" انتشارات آبیژ، تهران، ص ۲۱۶.

محمدی کشکا ف. پیردشتی ه. و یعقوبیان ی، (۱۳۹۶) "مایه‌زنی قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma virens* جهت بهبود صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مرتبط با عملکرد برنج در مقادیر مختلف کود فسفر" **نشریه علمی-پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی**، شماره ۱۱، دوره ۴۴: ص ۸۷۴-۸۵۷.

محمدی کشکا ف. پیردشتی ه. یعقوبیان ی. و بخشنده ا، (۱۳۹۵) "ارزیابی صفات رشدی و پایداری عملکرد گندم با کاربرد تریکودرما و اینتروباکتر" نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، شماره ۲۶، دوره ۴: ص ۱-۱۵.

محمودزاده م. رسولی صدیقیانی م.ح. و عسگری لجایر ح، (۱۳۹۴) "تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا بر خصوصیات ریخت‌شناسی و غلظت عناصر پرمصرف گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط گلخانه" **مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای**، شماره ۶، دوره ۲۴: ص ۱۶۷-۱۵۵.

مرادی ل. و احسان زاده پ، (۱۳۹۲) "اثر کادمیوم بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ تحت شرایط آب‌کشت" **علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای**، شماره ۵، دوره ۱۸: ص ۱۶۵-۱۵۵.

مرادی پور ه. آبنوسی م.ح. امیرجانی م.ر. و مهدیه م، (۱۳۹۵) "تأثیر فلز کادمیوم بر توانایی زیستی و فعالیت برخی آنزیم‌های پاداکسندگی در پینه گیاه پرپوش (*Catharanthus roseus*)" **مجله علوم باغبانی ایران**، شماره ۴۷، دوره ۱: ص ۳۱-۲۱.

مشایخی ح.ر بقائی ا.ح. و گماریان م، (۱۳۹۳)، "اثر کادمیوم بر برخی پارامترهای مورفولوژیکی گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis*)"، دومین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، ص ۱۲، همدان

مظفری ا. حبیبی د. ملکی ع. و بابایی ف، (۱۳۹۱) "ارزیابی توان چند گونه زراعی در کاهش آلودگی خاک به فلز سنگین کادمیوم" **مجله زراعت و اصلاح نباتات**، شماره ۸، دوره ۳: ص ۱۴-۱.

مظلومی لیلی آ. علیزاده ح. برومند ن. و اعظمی ساردوئی ذ، (۱۳۹۴) "بررسی پایداری قارچ تریکودرما در خاک‌های مختلف و تأثیر آن بر بهبود رشد گیاه خیار" **مجله کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی**، شماره ۴، دوره ۲: ص ۱۰۸-۹۹.

مؤیدی گ. و مستوفی‌زاده قلم‌فرسا ر، (۱۳۹۱) "معرفی روش‌های جداسازی و شناسایی هشت شبه گونه *Trichoderma*" **مجله دانش بیماری‌شناسی گیاهی**، شماره ۱، دوره ۲: ص ۳۱-۳۹.

میرشکاری ب، (۱۳۹۵) "اثر سویه‌های میکوریز تحت تنش آبی بر عملکرد و اسانس دو توده بومی رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.)" **نشریه علمی - پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی**، شماره ۳، دوره ۳۹: ص ۶۸۲-۶۶۹.

نادری م. دانش شهرکی ع. و نادری ر، (۱۳۹۱) "مروری بر گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین" **فصلنامه انسان و محیط زیست**، شماره ۲۳: ص ۴۹-۳۵.

نجات‌زاده ف. و غلامی بروجنی ف، (۱۳۹۶) "بررسی کارایی گیاه‌پالایی (Phytoremediation) لولیوم، تاج خروس وحشی و سورگوم در پاکسازی خاک‌های آلوده در منطقه ارومیه" **مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی**، شماره ۷، دوره ۲۶: ص ۸۱-۹۱.

نظران م.ح، خلج ح، لبافی حسن آبادی م.ر، شمس آبادی م و رزازی ع، (۱۳۸۸)، "بررسی اثر زمان محلول‌پاشی نانو کود آلی کلات آهن بر خصوصیات کمی و کیفی گندم دیم"، دومین همایش ملی کاربرد نانو تکنولوژی در کشاورزی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه‌ی نهال و بذر، کرج

نظری م، (۱۳۹۱)، پایان نامه ارشد: "تأثیر محلول‌پاشی متانول و کود نانوکلات آهن بر کیفیت عملکرد ریحان"، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج،

نعمتی ا. گلچین ا. و بشارتی ح، (۱۳۹۴) "بررسی اثرات کودهای زیستی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی در یک خاک آلوده به کادمیوم" **نشریه پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)**، شماره ۲۹، دوره ۱: ص ۲۳-۳۶.

نعیمی ش. اخوت س.م. جوان نیکخواه م. کردیچ ل. و خسروی و، (۱۳۸۸) "مطالعه فراوانی و پراکنش شبه گونه‌های *Trichoderma* مزارع برنج استان مازندران" **مجله دانش گیاهپزشکی ایران**، شماره ۴۰، دوره ۲: ص ۷۹-۹۱.

نوذری‌راد د. برادران فیروزآبادی م. مکاریان ح. فرخی ن. و غلامی ا، (۱۳۹۵) "تأثیر محلول‌پاشی میکرو و نانو ذرات اکسید آهن به همراه مواد افزودنی ADJUVANT G.D و RCP5 بر برخی صفات فیزیولوژیکی لوبیا سبز (*vulgaris Phaseolus*)" **نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران**، شماره ۷: ص ۱۶۱-۱۷۳.

نورا ه. شهابی‌وند ص. و آقایی ا، (۱۳۹۷) "بررسی اثر قارچ *Piriformospora indica* بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه شایبک در شرایط درون شیشه" **مجله فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۷، دوره ۲۳: ص ۵۷-۶۹.

نورا ه. شهابی‌وند ص. کریمی ف. آقایی ا. و درویشی ف، (۱۳۹۶) "بهینه سازی رشد و تولید زیست توده قارچ اندوفیت *Piriformospora indica*" **مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران)**، شماره ۳۰، دوره ۳: ص ۳۰۴-۳۱۲.

نورانی آزاد ح. و کفیل زاده ف، (۱۳۹۰) "تأثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌ها در گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*)" **مجله زیست شناسی ایران**، شماره ۲۴، دوره ۶: ص ۸۵۸-۸۶۷.

نوری آکندی ز. پیردشتی ه. یعقوبیان ی. و قاسمی عمران و، (۱۳۹۵) "بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا در واکنش به تلقیح قارچ *Piriformospora indica* تحت تنش شوری" **مجله به‌زراعی کشاورزی**، شماره ۱۸، دوره ۳: ص ۶۳۹-۶۵۳.

نوری حسینی م، (۱۳۸۴)، "اثرات محلول‌پاشی و مصرف خاکی عناصر آهن و روی بر عملکرد و اجزاء عملکرد پنبه"، نهمین کنگره علوم خاک، مرکز تحقیقات حفاظت خاک و آبخیزداری کشور، ایران، ص ۹۸، تهران

ولیزاده کامران ر. وجودی مهربانی ل. و حسن‌پور اقدم م.ب، (۱۳۹۶) "بررسی اثر سرب و کادمیوم بر رشد و فعالیت برخی آنزیم‌های اسفناج در شرایط کشت درون شیشه‌ای" **مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی**، شماره ۶، دوره ۲: ص ۲۶۷-۲۵۷.

الهبخش ا. سیروس مهر ع. ابراهیمی ا. و شهرکی ن، (۱۳۹۷) "اندوزش و تحمل آلودگی کادمیومی و تأثیر تیمار سیلیسیم بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)" **مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)**، شماره ۳۱، دوره ۲: ص ۱۳-۱.

یزدانی م. پیردشتی ه. تاجیک م.ع. و بهمنیار م.ع، (۱۳۸۷) "تأثیر تریکودرما (*Trichoderma spp.*) و انواع مختلف کودهای آلی بر رشد و نمو سویا (*Glycine max L.*)" **مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی**، شماره ۱، دوره ۳: ص ۶۵-۸۲.

یعقوبیان ی. پیردشتی ه. محمدی گل‌تپه ا. فیضی اصل و. و اسفندیاری ع، (۱۳۹۱) "ارزیابی واکنش گندم دیم (*Triticum aestivum L.*) رقم آذر ۲ به همزیستی با قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار و شبه‌میکوریزا در سطوح مختلف تنش خشکی" **نشریه بوم‌شناسی کشاورزی**، شماره ۴، دوره ۱: ص ۶۳-۷۳.

یعقوبیان ی. سیادت س.ع.ا. مرادی تلاوت م.ر. و پیردشتی ه، (۱۳۹۵) "کمی‌سازی پاسخ رشد رویشی و مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) به غلظت کادمیوم در خاک" **نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی**، شماره ۲۳، دوره ۲: ص ۱۶۵-۱۸۵.

یعقوبیان ی، (۱۳۹۴)، پایان نامه دکتري: "اثر قارچ *Piriformospora indica* و *Trichoderma spp.* در تحمل به سمیت کادمیوم در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) و خرفه (*Portulaca oleracea L.*)" دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان،

یوسف‌زاده س. نقدی بادی ه. صباغ‌نیا ن. و جانمحمدي م، (۱۳۹۵) "تأثیر محلول‌پاشی نانوکلات آهن بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica L.*)" **فصلنامه گیاهان دارویی**، شماره ۱۵، دوره ۴: ص ۱۶۰-۱۵۲.

- Abdzaad Gohari A. and Noorhosseini Niyaki A. (2010) "Effects of iron and nitrogen fertilizers on yield and yield components of peanut (*Arachis hypogaea* L.) in Astaneh Ashrafiyeh Iran" **Am.-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.**, **9**, **3**, pp 256-262.
- Abo-Ghaila H.H. and Khalafallah A.A. (2008) "Responses of wheat plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi to short-term water stress followed by recovery at three growth stages" **J. Appl. Sci. Res.**, **4**, **5**, pp 570-580.
- Abo-Kassem E. Sharaf-El-Din A. Rozema J. and Foda E. (1995) "Synergistic effects of cadmium and NaCl on the growth, photosynthesis, and ion content in wheat plants" **Biol. Plant.**, **37**, **2**, pp 241-249.
- Abouzina H.F. Saber M. Hoballah E. El-Ashry S. and Zaghloul A.M. (2013) "Yield attributes and oil safety in the hyperaccumulator canola plant grown in a bioremediated sewage soil" **J. Agric. Sci. Technol.**, **3**, **1**, pp 1010-1016.
- Adriano DC. (2001), "Trace elements in terrestrial environments", Springer, pp. 263-314.
- Aebi H. (1984) "Catalase in vitro" **Methods Enzymol.**, **105**, pp 121-126.
- Aggarwal A. Sharma I. Tripathi B.N. Munjal A.K. Baunthiyal M. and Sharma V. (2011), "Photosynthesis: Overviews on Recent Progress and Future Perspective. Metal Toxicity andm Photosynthesis", New Delhi: IK International Publishing House.
- Agrawal S.B. and Mishra S. (2009) "Effects of supplemental ultraviolet-B and cadmium on growth, antioxidants and yield of *Pisum sativum* L." **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, **72**, pp 610-618.
- Aishwarya S. Venkateswarlu N. Chandra mouli K. and Vijaya T. (2014) "Role of endophytic fungi in restoration of heavy metal contaminated soils" **Indo Am. J. Pharm. Res.**, **4**,**11**, pp 5427-5436.
- Akhtar K. Akhtar M.W. and Khalid A.M. (2007) "Removal and recovery of uranium from aqueous solutions by *Trichoderma harzianum*" **Water Res.**, **41**, pp 1366-1378.
- Al-Hakimi A.M.A. (2007) "Modification of cadmium toxicity in pea seedlings by kinetin" **Plant, Soil Environ.**, **53**, **3**, pp 129-135.
- Ali A. Deng X. Hu X. Gill R.A. Ali S. Wang S. and Zhou W. (2015) "Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seeds of *Brassica Napus* L" **J. Agric. Sci. Technol.**, **17**, pp 63-74.
- Ali khan M.A. (2012) "Effect of cadmium on growth and metabolism of phaseolus mungo" **J. Environ. Biol.**, **33**, pp 173-179.
- Ali T. Mahmood S. Khan M.Y. Aslam A. Hussain M.B. Asghar H.N. (2013) "Phytoremediation of cadmium contaminated soil by auxin assisted bacterial inoculation" **Asian J. Agric. Biol.**, **1**, **2**, pp 79-84.
- Altinas S. and Bal U. (2005) "Application of *Trichoderma harzianum* increases yield in cucumber (*Cucumis sativus*) grown in an unheated glasshouse" **J. Appl. Hort.**, **7**, pp 25-28.
- Angelova V.R. Grekov D.F. Kisyov V.K. and Ivanov K.I. (2015) "Potential of lavender (*Lavandula vera* L.) for phytoremediation of soils contaminated with heavy metals" **Int. J. Biol. Biomol. Agric. Food Biotechnol. Eng.**, **9**, **5**, pp 479-486.

- Asada K. (1999) "the water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons" **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, **50**, pp 601-639.
- Asada K. (2000) "The water-water cycle as alternative photon and electron sinks" **Philos. Trans. R. Soc. London.**, **355**, pp 1419-1431.
- Asada K. (2006) "Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions" **Plant Physiol.**, **141**, pp 391-396.
- Askary M. Talebi S.M. Amini F. and Bangam A.D.B. (2017) "Effects on ironnanoparticles on *Mentha piperita* L. under salinity stress" **Biologia.**, **63**, pp 65-75.
- Asli S. Neumann P.M. (2009) "Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport" **Plant, Cell Environ.**, **32**, pp 577-584.
- Auge R.M. Toler H.D. and Saxton A.M. (2015) "Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis" **Mycorrhiza.**, **25**, **1**, pp 13-24.
- Aydinalp C. and Marinova S. (2009) "The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa (*Medicago sativa*) plant" **Bulg. J. Agric. Sci.**, **15**, pp 347-350.
- Azevedo R. and Hadwin A.F. (2005) "Scaffolding self-regulated learning and metacognition: Implications for the design of computer-based scaffolds" **Instructional Sci.**, **33**, pp 367-379.
- Azmat R. and Khan N. (2011) "Nitrogen metabolism as a bio indicator of Cu stress in *Vigna radiata*" **Pak. J. Bot.**, **43**, **1**, pp 515-520.
- Babaei K. Sharifi S.R. Pirzad A. and Khalilzadeh R. (2017) "Effects of bio fertilizer and nano Zn-Fe oxide on physiological traits, antioxidant enzymes activity and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress" **J. Plant Interact.**, **12**, **1**, pp 381-389.
- Bagdat R. and Eid E.M. (2007) "Phytoremediation behavior of some medicinal and aromatic plants to various pollutants" **J. Field Crops Cent. Res. Inst. (Ankara).**, **16**, pp 1-10.
- Bainier G. (1906) "Mycotheque of the School of Pharmacy" **Bull. Trimest. Soc. Mycol. Fr.**, **22**, pp 103-133.
- Bajaj R. Agarwal A. Rajpal K. Asthana Sh. Prasad R., Kharkwal A. Kumar R. Sherameti I. Oelmuller R. and Varma A. (2014) "Co-cultivation of *Curcuma longa* with *Piriformospora indica* enhances the yield and active ingredients" **Am. J. Curr. Microbiol.**, **2**, **1**, pp 1-12.
- Baker A.J.M. McGrath S.P. Reeves R.D. Smith J.A.C. (2000), "**Metal Hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediation of metal polluted soil**", In: Baneulos, T.N.G. (Ed), *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, Lewis Publications, Boca Raton, pp. 85-107.
- Bakhshandeh E. Soltani A. Zeinali E. and Kallate-Arabi M. (2012) "Prediction of plant height by allometric relationships in field-grown wheat" **Cereal Res. Commun.**, **40**, **3**, pp 413-422.

- Bala N. Saha S. Chakraborty M. Maiti M. Das S. Basu R. Nandy P. (2014) "Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Hibiscus subdariffa* leaf extract: effect of temperature on synthesis, anti-bacterial activity and anti-diabetic activity" **RSC Advances.**, 5, pp 4993- 5003.
- Baldi A. Jain A. Gupta N. Srivastava A.K. and Bisaria V.S. (2008) "Co-culture of arbuscular mycorrhiza-like fungi (*Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera*) with plant cells of *Linum album* for enhanced production of podophyllotoxins: a first report" **J. Biotechnol. Lett.**, 30, pp 1671-1677.
- Balestrasse K.B. Gardey L. Gallego S.M. and Tomaro M.L. (2001) "Response of antioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress" **Aust. J. Plant Physiol.**, 28, pp 497-504.
- Baltruschat H. Fodor J. Harrach B.D. Niemczyk E. Barna B. Gullner G. Janeczko A. Kogel K.H. Schafer P. Schwarczinger I. and Zuccaro A. (2008) "Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants" **New Phytol.**, 180, pp 501-510.
- Barcelo L. and Poschenrieder C. (1990) "Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review" **J. Plant Nutr.**, 13, pp 1-37.
- Barron G.L. Cain R.F. and Gilman J.C. (1961) "The genus *Microascus*" **Can. J. Bot.**, 39, 7, pp 1609-1631.
- Baruah S. and Dutta J. (2009) "Nanotechnology applications in Pollution Sensing and Degradation in Agriculture: a review" **Environ. Chem. Lett.**, 7, 3, pp 191-204.
- Baryla A. Carrier P. Frank F. Coulomb C. Sahut C. Havaux M. (2001) "Leaf chlorosis oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium polluted soil: Causes and consequences for photosynthesis and growth" **Planta.**, 212, pp 696- 709.
- Beauchamp C. and Fridovich I. (1971) "Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels" **Anal. Biochem.**, 44, 1, pp 276-287.
- Benitez T. Rincon A.M. Limon M.C. and Codon A.C. (2004) "Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains" **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, 7, 4, pp 249-260.
- Bergmann D.C. (2004) "Integrating signals in stomatal development" **Curr. Opin. Plant Biol.**, 7, pp 26-32.
- Bhardwaj P. Chaturvedi A.K. Prasad P. (2009) "Effect of Enhanced Lead and Cadmium in soil on Physiological and Biochemical attributes of *Phaseolus vulgaris* L." **Nat. Sci.**, 7, 8, pp 63-66.
- Bissett J. (1984) "A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov." **Can. J. Bot.**, 62, pp 924-931.
- Blakrishnan K. (2000) "Peroxidase activity as an indicator of the iron deficiency banana" **Indian J. Plant Physiol.**, 5, pp 389-391.
- Blaylock M.J. Salt D.E. Dushenkov S. Zakharova O. Gussman C. Kapulnik Y. (1997) "Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents" **J. Environ. Sci. Technol.**, 31, pp 860-865.
- Blokhina O. and Fagerstedt K.V. (2010) "Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation" **Plant Physiol. Biochem.**, 48, 5, pp 359-373.

- Bradford M.M. (1976) "A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding" **Anal. Biochem.**, **72**, 1-2, pp 248-254.
- Briat J.F. Dubos C. and Gaymard F. (2015) "Iron nutrition, biomass production, and plant product quality" **Trends Plant Sci.**, **20**, 1, pp 33-40.
- Broos K. Beyens H. Smolders E. (2005) "Survival of rhizobia in soil is sensitive to elevated zinc in the absence of the host plant" **Soil Biol. Biochem.**, **37**, pp 573-579.
- Btes L.S. Waldren R.P. and Teare I.D. (1973) "Rapid determination of free proline for water stress studies" **Plant Soil.**, **39**, 1, pp 205-207.
- Burd G.I. Dixon D.G. and Glick B. (2004) "Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants" **J. Microbiol.**, **46**, pp 237-245.
- Buu N.Q. Chau N.H. Hien D.T. Tin T.X. Duong K.T. Van N.T. and Ha H.T. (2013) "Effect of nano metal powders (Fe, Co, Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese hybrid species DT-51)" **Proceedings of IWNA.**, **14**, **16**, pp 1-4.
- Buu N.Q. Hien T.D. Hoai Chau N. Tran X.T. Van Nguyen T. (2014) "Effects of nanocrystalline powders (Fe, Co and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese species DT-51)" **Adv. Nanosci. Nanotechnol.**, **5**, pp 1-7.
- Buyer J.S. Leong J. (1986) "Iron transport-mediated antagonism between plant growth promoting and plant deleterious *Pseudomonas* strains" **J. Biol. Chem.**, **261**, 2, pp 791-794.
- Bybordi A. and Mamedov G. (2010) "Evaluation of application methods efficiency of zinc and iron for canola (*Brassica napus* L.)" **Not. Sci. Biol.**, **2**, 1, pp 94-103.
- Cao L. Jiang M. Zeng Z. Du A. Tan H. Liu Y. (2008) "*Trichoderma atroviride* F6 improve phytoextraction efficiency of mustard (*Brassica juncea* (L.) Coss. var. *foliosa* Bailey) in Cd, Ni contaminated soils" **Chemosphere.**, **71**, pp 1769-1773.
- Carlucci A. Raimondo M.L. Santos J.A. Phillips J.L. (2012) "*Plectosphaerella* species associated with root and collar rots of horticultural crops in southern Italy" **Persoonia.**, **28**, pp 34-48.
- Celik A. Kartel A. Akdogan A. Kaska Y. (2004) "Determining heavy metal pollution in Denizli (Turkey) by using *Robinia pseudo-acacia* L." **Environ. Int.**, **31**, pp 105-112.
- Chacon M.R. Rodriguez-Galan O. Benitez T. Sousa S. Rey M. Llobell A. and Delgado-Jarana J. (2007) "Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*" **Int. Microbiol.**, **10**, pp 19-27.
- Chaffei C. Gouia H. and Ghorbe I.M. (2003) "Nitrogen Metabolism in Tomato Plants Under Cadmium Stress" **J. Plant Nutr.**, **26**, pp 1617-1634.
- Chaiyarat R. Suebsima R. Putwattana N. Kruatrachue M. and Pokethitiyook P. (2011) "Effects of soil amendments on growth and metal uptake by *Ocimum gratissimum* grown in Cd/Zn-contaminated soil" **Water, Air, Soil Pollut.**, **214**, 1-4, pp 383-392.
- Chamseddine M. Wided B.A. Guy H. Marie-Edith C. Fatma J. (2009) "Cadmium and copper induction of oxidative stress and antioxidative response in tomato (*Solanum lycopersicon*) leaves" **Plant Growth Regul.**, **57**, pp 89-99.

- Chandra Nayaka S. Niranjana S.R. Uday Shankar A.C. Niranjan Raj S. Reddy M.S. Prakash H.S. and Mortensen C.N. (2010) "Seed biopriming with novel strain of *Trichoderma harzianum* for the control of toxigenic *Fusarium verticillioides* and *fumonisin* in maize" **Arch. Phytopathol. Plant Prot.**, **43**, 3, pp 264-282.
- Chandra R. Bhargava R.N. Yadav S. and Mohan D. (2009) "Accumulation and distribution of toxic metals in Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Indian mustard (*Brassica campestris* L.) irrigated with distillery and tannery effluent" **J. Hazard. Mater.**, **116**, pp 1514-1521.
- Chaney R.L. Malik M. Lim Y.M. Brown S.L. Brewer E.P. Angle J.S. Baker A.J.M. (1997) "Phytoremediation of soil metals" **J. Curr. Opin. Biotechnol.**, **8**, pp 279-284.
- Chang Y.C. Chang Y.C. Baker R. Kleifeld O. and Chet I. (1986) "Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *T. harzianum*" **Plant Dis.**, **70**, pp 145-148.
- Chen H. Teresa C. (2001) "EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr and Ni uptake by *Helianthus annuus*" **J. Chemosphere.**, **45**, pp 21-28.
- Cheng S.F. and Huang C.Y. (2006) "Influence of cadmium on growth of root vegetables and accumulation of cadmium in the edible root" **Int. J. Appl. Sci. Eng. Res.**, **43**, pp 243-252.
- Cho U.H. and Seo N.H. (2005) "Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation" **Plant Sci.**, **168**, pp 113-120.
- Choi I.Y. Hong S.B. and Yadav M. (2003) "Molecular and Morphological Characterization of Green Mold, *Trichoderma spp.* isolated from Oyster Mushrooms" **Mycobiology.**, **31**, 2, pp 74-80.
- Coa L. Jiang M. Zeng Z. Du A. Tan H. and Liu Y. (2008) "*Trichoderma atroviride* F6 improve phytoextraction efficiency of mustard [*Brassica juncea* (L.) Coss. var. *foliosa* Bailey] in Cd, Ni contaminated soils" **Chemosphere.**, **71**, pp 1769-1773.
- Countrey N. (2006) "Influence of cadmium on growth of root vegetable and accumulation of cadmium in the edible root" **Int. J. Appl. Sci. Eng.**, **3**, pp 243-252.
- Das P. Samantaray S. and Rout G.R. (1997) "Studies on cadmium toxicity in plants a review" **Environ. Pollut.**, **98**, pp 29-36.
- Davey M.W. Stals E. Panis B. Keulemans J. and Swennen R.I. (2005) "High throughput of malondialdehyde in plant" **Anal. Biochem.**, **347**, 2, pp 201-207.
- Dehric G.S. Brar M.S. and Melhi S.S. (2007) "Influence of phosphorus application on growth and cadmium uptake of spinach in two cadmium-contaminated soils" **J. Plant Nutr. Soil Sci.**, **170**, pp 495-499.
- Del Rio L. Sandalio L. Corpas F. Palma J. and Barroso J. (2006) "Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in paroxysms. Production, scavenging and role in cell signaling" **Plant Physiol.**, **141**, 2, pp 330-335.
- Demir S. (2004) "Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper" **Turk. J. Biol.**, **28**, pp 85-90.
- Deng Z. and Cao L. (2017) "Fungal endophytes and their interactions with plants in phytoremediation: A review" **Chemosphere.**, **168**, pp 1100-1106.

- Deshmukh S. Huckelhoven R. Schafer P. Imani J. Sharma M. Weiss M. Waller F. and Kogel K.H. (2006) "The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley" **Proc. Natl. Acad. Sci.**, **103**, pp 18450-18457.
- Devi Chinmayee M. Anu M. Mahesh B. Mary Sheeba A. Mini I. and Swapna T.S. (2014) "A comparative study of heavy metal accumulation and antioxidant responses in *Jatropha curcas* L." **J. Environ. Sci., Toxicol. Food Technol.**, **8**, 7, pp 58-67.
- Dickinson M. and Scott T.B. (2010) "The application of zero-valent iron nanoparticles for the remediation of a uranium-contaminated waste effluent" **J. Hazard. Mater.**, **178**, pp 171-179.
- Ditta A. Arshad M. Ibrahim M. (2015), "Nanoparticles in sustainable agricultural crop production, applications and perspectives. In *Nanotechnology and Plant Sciences*", Vol. 1, Springer International Publishing, Switzerland, pp. 55-75.
- Dixit V. Pandey V. and Shyam R. (2001) "Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad)" **J. Exp. Bot.**, **52**, pp 1101-1109.
- Dong J. Wu F.B. and Zhang G.P. (2005) "Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings" **J. Zhejiang Univ., Sci.**, **6**, 10, pp 974-980.
- Douanla-Mali C. Langer E. and Mouafo F.T. (2013) "Fungal endophyte diversity and community patterns in healthy and yellowing leaves of Citrus Limon" **Fungal Ecol.**, **6**, 3, pp 212-222.
- Doveri F. (2008) "Aggiornamento sul genere *Chaetomium* con descrizione di alcune specie coprofile, nuove per l'Italia An update on the genus *Chaetomium* with descriptions of some coprophilous species, new to Italy" **Pagine Di Micologia.**, **29**, pp 1-60.
- Dudka S. Piotrowska M. Terelak H. (1996) "Transfer of cadmium, lead and zinc from industrially contaminated soil to crop plants: A field study" **Environ. Pollut.**, **94**, pp 181-188.
- Eijsackers H. (2010) "Earthworms as colonisers: Primary colonisation of contaminated land, and sediment and soil waste deposits" **Sci. Total Environ.**, **408**, pp 1759-1769.
- El-Fouly M.M. Mobarak Z.M. and Salama Z.A. (2011) "Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L." **Afr. J. Plant Sci.**, **5**, pp 314- 322.
- Eriyamremu G.E. and Lolodi O. (2010) "Alteration in lipid peroxidation and some antioxidant enzymes in germinating beans (*Vigna unguiculata*) and maize (*Zea mays*) Exposed to Nickel" **Int. J. Bot.**, **6**, 2, pp 170-175.
- Faiazan S. Kausar S. and Perveen R. (2011) "Varietal differences for cadmium-induced seedling mortality, foliar toxicity symptoms, plant growth, proline and nitrate reductase activity in chickpea (*Cicer arietinum* L.)" **Biol. Med.**, **3**, pp 196-206.
- Farokh S. Mosa A.A. Taha A.A. Ibrahim H.M. Gahmary A.M.E. (2011) "Protective effect of humic acid and on Radish (*Raphanuse satvius*, L. Var. Sativing) plant subjected to cadmium strees" **J. Stress Physiol. Biochem.**, **7**, pp 99-116.

- Feng G. Li X.L. Zhang F.S. Tian C.Y. and Tang C. (2002) "Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots" **Mycorrhiza.**, **12**, pp 185-190.
- Foroozesh. P. Bahmani R. Pazouki A. asgharzadeh A. rahimdabbagh S. and Ahmadvand S. (2012) "Effect of cadmium stress on antioxidant enzymes activity in different bean genotypes" **ARPN J. Agric. Biol. Sci.**, **7**, **5**, pp 351- 356.
- Foyer C.F. and Noctor G. (2000) "Oxygen processing in photosynthesis regulation and signaling" **New Phytol.**, **146**, **3**, pp 359-388.
- Gaiero J.R. McCall C.A. Thompson K.A. Day N.J. Best A.S. and Dunfield K.E. (2013) "Inside the root microbiome: bacterial root endophytes and plant growth promotion" **Am. J. Bot.**, **100**, pp 1738-1750.
- Gajewska E. and Sklodowska M. (2010) "Differential effect of equal copper, cadmium and nickel concentration on biochemical reactions in wheat seedling" **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, **73**, pp 996-1003.
- Galleco S.M. Benavides M.P. and Tomaro M.L. (1996) "Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress" **plant sci.**, **121**, pp 151-159.
- Gara L.D. Pinto M.C. and Tommasi F. (2003) "The antioxidant systems vis-à-vis reactive oxygen species during plant-pathogen interaction" **Plant Physiol. Biochem.**, **41**, pp 863-870.
- Gardner F.P. Piers R. and Michelle L. (2011), "**Physiology of crop plants**", Translation: Koocheki A, and Sarmadnia Gh. 16th ed, Mashhad SID Press, pp. 400.
- Ghasemian V. Ghalavand A. Soroosh zadeh A. and Pirzad A. (2010) "The effect of iron, zinc and manganese on quality and quantity of soybean seed" **J. Phytol.**, **2**, **11**, pp 73-79.
- Gill S.S. (2010) "Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants" **Plant Physiol. Biochem.**, **48**, pp 909-930.
- Glowacka K. obek-Sokolnik A. Okorski A. and Najdzion J. (2019) "The Effect of Cadmium on the Activity of Stress-Related Enzymes and the Ultrastructure of Pea Roots" **Plants.**, **8**, **413**, pp 1-16.
- Greger M. Brammer E. Lindberg S. Larsson G. and Idestam-Almquist J. (1991) "Uptake and physiological effects of cadmium in sugar beet (*Beta vulgaris*) related to mineral provision" **Exp. Bot.**, **42**, pp 729-737.
- Hall J.L. (2002) "Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance" **J. Exp. Bot.**, **53**, **366**, pp 1-11.
- Harman G.E. Howell C.R. Viterbo A. Chet I. and Lorito M. (2004) "*Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts" **Nat. Rev.**, **2**, pp 43-56.
- Hasan S.A. Hayat S. Ali B. and Ahmad A. (2008) "28-Homobrassinolide protects chickpea (*Cicer arietinum*) from cadmium toxicity by stimulating antioxidants" **Environ. Pollut.**, **151**, pp 60-66.
- Hassan M.J. Zhu Z. Ahmad B. and Mahmood Q. (2006) "Influence of cadmium toxicity on rice genotypes as affected by zinc, sulfur and nitrogen fertilizers" **Caspian J. Env. Sci.**, **4**, **1**, pp 1-8.

- Hatata M. and Adel Abdel-Aal E. (2008) "Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in response to Cadmium Treatments" **Am.-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.**, **4**, **6**, pp 655-669.
- Hayat S.H. Hayat Q. Alyemeni M.N. Shafi Wani A. Pichtel J. and Aqil Ahmad A. (2012) "Role of proline under changing environments" **Plant Signaling Behav.**, **7**, **11**, pp 1456–1466.
- Hess W.M. Müller E. and Aue R. (1967) "Germ pores of *Chaetomium* ascospores" **Naturwissenschaften.**, **54**, **19**, pp 521-522.
- Hibbett D.S. Binder M. Bischoff J.F. Blackwell M. Cannon P.F. Eriksson O.E. Huhndorf S. James T. Kirk P.M. and Lücking R. (2007) "A higher level phylogenetic classification of the Fungi" **Mycol. Res.**, **111**, pp 509-547.
- Hong W. and Ji-Yan J. (2007) "Effects of zinc deficiency and drought stress on plant growth and metabolism of reactive oxygen species in maize (*Zea mays* L.)" **Agric. Sci. China.**, **6**, **8**, pp 988-995.
- Howladar S.M. (2014) "A novel moringa oleifera leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants" **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, **100**, pp 69-75.
- Hsu Y.T. and Kao C.H. (2007a) "Cadmium-induced oxidative damage in rice leaves is reduced by polyamines" **Plant Soil.**, **291**, pp 27-37.
- Hsu Y.T. and Kao C.H. (2007b) "Heat shock-mediated H₂O₂ accumulation and protection against Cd toxicity in rice seedlings" **Plant Soil.**, **300**, pp 137-147.
- Hu J. Guo H. Li J. Gan Q. Wang Y. Xing B. (2017) "Comparative impacts of iron oxide nanoparticles and ferric ions on the growth of *Citrus maxima*" **Environ. Pollut.**, **221**, pp 199-208.
- Huang S. Wang L. Liu L. Hou Y. and Li L. (2014) "Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in china. A review" **Agron. Sustainable Dev.**, **35**, pp 369-400.
- Hussain I. Ashraf M.A. Rasheed R. Asghar A. Sajid M.A. and Iqbal M. (2015) "Exogenous application of silicon at the boot stage decreases accumulation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum* L.) grains" **Braz. J. Bot.**, **38**, **2**, pp 223-234.
- Iannelli M.A. Pietrini F. Fiore L. Petrilli L. Massacci A. (2002) "Antioxidant response to cadmium in *Phragmites australis* plants" **Plant Physiol. Biochem.**, **40**, pp 977–982.
- Iannone M.F. Groppa M.D. de Sousa M.E. Fernandez van Raap M.B. Benavides M.P. (2016) "Impact of magnetite iron oxide nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.) development: Evaluation of oxidative damage" **Environ. Exp. Bot.**, **131**, pp 77-88.
- Ikem A. and Egiebor N.O. (2005) "Assessment of trace elements in canned fishes (Mackerel, Tuna, Salmon, Sardines and Herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America)" **J. Food Compos. Anal.**, **18**, pp 771–787.
- Irfan M. Hayat Sh. Ahmad A. and Alyemeni M.N. (2013) "Soil cadmium enrichment: Allocation and plant physiological manifestations" **Saudi J. Biol. Sci.**, **20**, pp 1-10.
- Iskandar I.K. Kirkham M.B. (2001), "Trace elements in soil, bioavailability, flux and transfer", Vol. 1, Lewis publishers, pp. 304.

- Jain M. Pal M. Gupta P. and Gadre R. (2007) "Effect of cadmium on chlorophyll biosynthesis and enzymes of nitrogen assimilation in greening maize leaf segments: Role of 2- oxoglutarate" **Indian J. Exp. Biol.**, **45**, pp 385-389.
- Jakubikova L. Farkas V. Kolarova N. Nemcovic M. (2006) "Conidiation of *Trichoderma atroviride* Isolate during Submerged Cultivation in a Laboratory Stirred-Tank Fermenter" **Folia Microbiol.** **51**, **3**, pp 209–213.
- Jerald L. and Schnoor S. (1997), "**Phytoremediation**", The University of Iowa, Department of Civil and Environmental Engineering and Center for Global and Regional Environmental Research, Iowa City, pp. 37.
- Jiang H.S. Li M. Chang F.Y. Li W. and Yin L.Y. (2012) "Physiological AgNO₃ *Spirodela polyrrhiza*" **Environ. Toxicol. Chem.**, **31**, **8**, pp 1880–1886.
- Jianpeng F. Qinghua S. Xiufeng W. Min W. (2010) "Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium toxicity *Cucumis sativus* L." **Sci. Hortic.**, **123**, pp 521-530.
- Jin R. Sh H. Han C. Zhong B. Wang, Q. Chan Z. (2015) "Physiological changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) after progressive drought stress and rehydration" **Sci. Hortic.**, **194**, pp 215-221.
- John R. Ahmad P. Gadgil K. and Sharma S. (2007) "Antioxidative response of *Lemna polyrrhiza* L. to cadmium stress" **J. Environ. Biol.**, **28**, pp 583-589.
- John R. Ahmad P. Gadgil K. and Sharma S. (2009) "Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters metal accumulation by *Brassica juncea* L." **Int. J. Plant Prod.**, **3**, **3**, pp 65-76.
- John R. Ahmad P. Gadgil K. Sharma S. (2008) "Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L." **Plant, Soil Environ.**, **54**, pp 262–270.
- Johnson A. (2006) "**Agriculture and Nanotechnology**" Website: <http://tahan.com/Charlie/nanosociety>,
- Kabata-Pendias A. (2001), "**Trace Elements in Soils and Plants**", CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 413.
- Kabata-pendias A. and Pendias H. (1992), "**Elements of group II. In: Trace elements in soils and plants**", 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor London, pp. 131-140.
- Kabir M. Zafar Iqbal M. Shafiq M. Farooqi Z.R. (2008) "Reduction in germination and seedlikg growth of *Thespesia populnea* L. causes by lead and cadmium treatments" **Pakistan. Bot.**, **40**, pp 2419-2426.
- Kaefer E. (1977) "Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations" **Adv. Genet.**, **19**, pp. 33-131.
- Kapoor R. Sharma, D. and Bhatnagar A.K. (2008) "Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications" **Sci. Hortic.**, **116**, pp 227-239.
- Karimi R. Chorom M. Solhi S. Solhi M. Safe A. (2012) "Potential of *Vicia faba* and *Brassica arvensis* for phytoextraction of soil contaminated with cadmium, lead and nickel" **Afr. J. Agric. Res.**, **7**, **22**, pp 3293-3301.

- Karimi, F. Sepehri M. Afyuni M. and Hajabbasi M.A., (2011) “The role of *Piriformospora Indica* on barley resistance to Cd, Pb, and Cu”, The 12 th International conference on environmental science and technology, RRhodes Greece
- Khan A.G. Kuek C. Chaudhry T.M. Khoo C.S. and Hayes W.J. (2000) “Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation” **Chemosphere.**, **41**, pp 197– 207.
- Khan A.G., (2003) “Vetiver grass as an ideal phytosymbiont for Glomalian fungi for ecological restoration of derelict land. In: Truong, P. Hanping, X. editors, Proceedings of the third international conference on vetiver and exhibition, vetiver and water, Guangzhou, China
- Khan N. Samiullah A. Singh S. and Nazar R. (2007) “Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress” **J. Agro. Crop Sci.**, **193**, pp 435-444.
- Khan N.A. Ahmad I. Singh S. and Nazar R. (2006) “Variation in growth, photosynthesis and yield of five wheat cultivars exposed to cadmium stress” **World J. Agric. Sci.**, **2**, 2, pp 223-226.
- Khan Z. and Doty S. (2011) “Endophyte-assisted phytoremediation” **Curr. Top. Plant Biol.**, **12**, pp 97-105.
- Khanna-Chopra R. (2012) “Leaf senescence and abiotic stresses share reactive oxygen species-mediated chloroplast degradation” **Protoplasma.**, **249**, pp 469-481.
- Khaosaad T. Garcia-Garrido J.M. Steinkellner S. and Vierheilig H. (2007) “Take-all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants” **Soil Biol. Biochem.**, **39**, pp 727-734.
- Kharkwal A.C. Prasad R. Kharkwal H. Das A. Bhatnagar K. Sherameti I. Oelmuller R. and Varma A. (2007), “Co-Cultivation with Sebaciniales”, Vol. 11, Soil Biol, pp. 247-270.
- Khomari S. and Davari M. (2017) “*Trichoderma*-induced enhancement of soybean seedling performance in response to salt stress” **J. Plant Physiol. Breed.**, **7**, **1**, pp 27-39.
- Khot L.R. Sankaran S. Maja J. Ehsani R. and Schuster E.W. (2012) “Application of nanoparticle in agricultural production and crop protection” **Crop Prot.**, **35**, pp 64-70.
- Khudsar T. Mahmood uzzafar M. Iqbal M. (2001) “Cadmium induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in (*Cajanus cajan*)” **Biology.**, **44**, pp 59-64.
- Kiffer E. and Morelet M. (2011), “**The Deuteromycetes. Mitosporic fungi: Classification and Generic Keys**”, Inc. Science Publishers, USA, pp. 300.
- Kirk P.M. Cannon P.F. Minter D.W. and Steples J.A. (2013) **Index fungorum**.
- Klich M.A. and Pitt J.I. (1988), “**A Laboratory Guide to the Common Aspergillus Species and their Teleomorphs**”, North Ryde, N.S.W: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, CSIRO Division of Food Processing, pp. 116.
- Koji Y. Shiro M. Michio K. Mitsutaka T. and Hiroshi M. (2009) “Antioxidant capacity and damages caused by salinity stress in apical and basal regions of rice leaf” **Plant Prod. Sci.**, **12**, pp 319-326.

- Konate A. He X. Zhang Z. Ma Y. Zhang P. Alugongo G.M. and Rui Y. (2017) "Magnetic (Fe₃O₄) Nanoparticles Reduce Heavy Metals Uptake and Mitigate Their Toxicity in Wheat Seedling" **Sustainability.**, **9**, 790, pp 1-16.
- Kornilowicz-Kowalska T. and Rybczynska K. (2012) "Decolorization of Remazol Brilliant Blue (RBBR) and Poly R-478 dyes by *Bjerkandera adusta* CCBAS 930" **Cent. Eur. J. Biol.**, **7**, 5, pp 948-956.
- Kovacik J. Tomko J. Backor M. and Repcak M. (2006) "Matricaria chamomilla is not a hyperaccumulator, but tolerant to cadmium stress" **Plant Growth Regul.**, **50**, 2-3, pp 239-247.
- Kristin A. and Miranda H. (2013) "The root microbiotae-a fingerprint in the soil" **Plant Soil.**, **370**, pp 671-686.
- Kumar M. Yadav V. Tuteja N. and Johri A.K. (2009) "Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with Piriformospora indica" **Microbiol.**, **155**, pp 780-790.
- Lasat M.M. (2000) "Phytoextraction of metals from contaminated soil. A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues" **J. Hazard. Subst. Res.**, **2**, 5, pp 1-25.
- Lasat M.M. (2002) "Phytoextraction of toxic metals-A review of biological mechanisms" **J. Environ. Qual.**, **31**, pp 109-120.
- Lasat M.M. (2003), "The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil", American Association for the advancement of environmental science and engineering fellow, <http://www.cluin.org/download/remed/Lasat>, pp. 33.
- Lasat M.M. (2005) "Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms, Review and analyses with heavy metals" **J. Environ. Qual.**, **31**, pp 109-120.
- Lee W. Kwak J. and An Y. (2012) "Effect of silver nanoparticles in crop plants Phaseolus radiatus and Sorghum bicolor: media effect on phytotoxicity" **Chemosphere.**, **86**, 5, pp 491-499.
- Leyval C. Turnau L.C. and Haselwandter K. (1997) "Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects" **Mycorrhiza.**, **7**, pp 139-53.
- Li Y.T. Hwang S.G. Huang Y.M. and Huang C.H. (2018) "Effects of Trichoderma asperellum on nutrient uptake and Fusarium wilt of tomato" **Crop Prot.**, **110**, pp 275-82.
- Li. T. Yang X. Lu L. Islam E. He Z. (2009) "Effect of zinc and cadmium intraction on root morphology and metal translocation in a hyperaccumulating species under hydroponic condition" **J. Hazard. Mater.**, **169**, pp 734-741.
- Liamas A. Ullrich B. and Sanz A. (2000) "Cadmium effects on transmembrane electrical potential difference, respiration and membrane permeability of rice roots" **Int. J. Plant Soil Sci.**, **219**, pp 21-28.
- Lindsay W.L. and Norvell W.A. (1978) "Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese and copper" **Soil Sci. Soc. Am. J.**, **42**, 3, pp 421-428.
- Linger P. Mussing J. Fischer H. and Kobert J. (2002) "Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) growing on heavy metal contaminated soil: fibre quality and phytoremediation potential" **Ind. Crops Prod.**, **16**, pp 33-42.

- Liu D. Jiang W. and Gao X. (2003) "Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic" **Biol. Plant.**, **47**, **1**, pp 79-83.
- Liu J. Cao C. Wong M. Zhang Z. and Chai Y. (2010) "Variations between rice cultivars in iron and manganese plaque on roots and the relation with plant cadmium uptake" **J. Environ. Sci.**, **22**, pp 1067-1072.
- Lombi e. Zhao F. Dunham S. and McGrath P. (2001) "Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils" **J. Environ. Qual.**, **30**, pp 1919-1926.
- Lomonte C. Sgherri C. Baker A.J.M. Kolev S.D. and Navari-Izzo F. (2010) "Antioxidative response of *Atriplex codonocarpa* to mercury" **Environ. Exp. Bot.**, **69**, pp 9-16.
- Lugtenberg B. and Kamilova F. (2009) "Plant-growth-promoting rhizobacteria" **Annu. Rev. Microbiol.**, **63**, pp 541-561.
- Luo H. Li H. Zhang X. Fu J. (2011) "Antioxidant responses and gene expression in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) under cadmium stress" **Ecotoxicol.**, **20**, pp 770-778.
- Lutts S. Kinet J.M. and Bouharmont J. (1995) "Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance" **J. Exp. Bot.**, **46**, **12**, pp 1843-1852.
- MacFarlane G.R. Koller C.E. and Blomberg S.P. (2007) "Accumulation and partitioning of heavy metals in mangroves: A synthesis of field-based studies" **Chemosphere.**, **69**, pp 1454-1464.
- Madrid H. Cano J. Gene J. and Guarro J. (2011) "Two new species of *Cladorrhinum*" **Mycologia.**, **103**, **4**, pp 795-805.
- Maksimovic I. Kastori R. Krstic L. Lukovic J. (2007) "Steady presence of cadmium and Nickel affects root anatomy, accumulation and distribution of essential ion in maize seedlings" **Biol. plant.** **51**, **3**, pp 589-592.
- Maksymiec W. (1997) "Effect of copper on cellular processes in higher plants" **Photosynthetica.**, **34**, pp 321-342.
- Martinez-Fernandez D. Barroso D. Komarek M. (2016) "Root water transport of *Helianthus annuus* L. under iron oxide nanoparticle exposure" **Environ. Sci. Pollut. Res.**, **23**, pp 1732-1741.
- Martins L. Migue P. Cardoso A. Pinto A. Mota A. Lurdes S. Gonc A. and Varennes A. (2011) "Oxidative stress induced by cadmium in *Nicotiana tabacum* L., effects on growth parameters, oxidative damage and antioxidant responses in different plant parts" **Acta Physiol. Plant.**, **33**, **4**, pp 1375-1383.
- Mastouri F. Bjorkman T. and Harman G. E. (2010) "Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings" **Phytopathol.**, **100**, **11**, pp 1213-1221.
- Mauskar J.M. (2007) "Cadmium -An Environment Toxicant central pollution control Board", Ministry of Environment and Forests, Govt of India, parivesh Bhawan, East Arjun Nagar, Delhi-110032.

- Mazhabi M. H. Nemati H. Rouhani A. Tehranifar E.M. Moghadam H. Kaveh and Rezaee A. (2011) "The effect of trichoderma on polianthes qualitative and quantitative properties" **J. Anim. Plant Sci.**, **21**, **3**, pp 617–621.
- Millan A. Sagardoy R. Solanas M. Abadia A. and Abadia J. (2009) "Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plant grown hydroponics" **Environ. Exp. Bot.**, **65**, pp 376-385.
- Millner P.D. Motta J.J. and Lentz P.L. (1977) "Ascospores, germ pores, ultrastructure, and thermophilism of *Chaetomium*" **Mycologia.**, **26**, pp 720-733.
- Mishra R. Tripathi D. Dwivedi S. and Kumar S.T. (2009) "Thiol metabolism play significant role during cadmium detoxification by *Ceratophyllum demersum* L." **Bioresour. Technol.**, **100**, pp 2155-2161.
- Mishra S. Srivastava S. Tripathi R.D. Kumar R. Seth C.S. Gupta D.K. (2006) "Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation" **Chemosphere.**, **65**, pp 1027-1039.
- Mittler R. (2002) "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance" **Trends Plant Sci.**, **7**, **9**, pp 405-410.
- Mittler R. Vanderauwera S. Gollery M. and Breusegem F.V. (2004) "Reactive oxygen gene network of plants" **Trends Plant Sci.**, **9**, pp 490-498.
- Mohammadi R. Maali-Amiri R. and Abbasi A. (2013) "Effect of TiO₂ nanoparticles on chickpea response to cold stress" **Biol. Trace Elem. Res.**, **152**, **3**, pp 403-410.
- Mohd S. Shukla J. Kushwaha A.S. Mandrah K. Shankar J. Arjaria N. Saxena P.N. Narayan R., Roy S.K. and Kumar M. (2017) "Endophytic Fungi *Piriformospora indica* Mediated Protection of Host from Arsenic Toxicity" **Front. Microbiol.**, **8**, 754, pp 1-14.
- Montoya-Garcia C.O. Volke-Hallera V.H. Trinidad-Santosa A. Villanueva-Verduzco C. (2018) "Change in the contents of fatty acids and antioxidant capacity of purslane in relation to fertilization" **Sci. Hortic.**, **234**, pp 152-159.
- Moreno-Caselles J. Moral R. Perez-Espinosa A. and Perez-Murcia M.D. (2000) "Cadmium accumulation and distribution in cucumber plant" **Plant Nutr.**, **23**, **2**, pp 243-250.
- Motesharezadeh B. Savaghebi-Firoozabadi G.R. Mirseyed Hosseini H. Alikhani H.A. (2010) "Study of the enhanced phytoextraction of cadmium in a calcareous soil" **Int. J. Environ. Res.**, **4**, **3**, pp 525- 532.
- Mushtaq Y.K. (2011) "Effect of nanoscale Fe₃O₄, TiO₂ and carbon particles on cucumber seed germination" **J. Environ. Sci. Health A.**, **46**, **14**, pp 1732-1735.
- Myouga F. Hosoda C. Umezawa T. Lizumi H. Kuromori T. Motohashi R. Shaono Y. Nagata N. Ikeuchi M. and Shinozaki K. (2008) "A heterocomplex of iron superoxide dismutases defends chloroplast nucleoides against oxidative stress and is essential for chloroplast development in *Arabidopsis*" **Plant Cell.**, **20**, pp 3148-3162.
- Naderi M. Danesh-Shahraki A. and Naderi R. (2013a) "The role of nanotechnology in improving the use efficiency of nutrients and chemical fertilizers" **Mon Nanotechnology.**, **11**, **12**, pp 16 - 32.

- Naderi N. Mirzamasoumzadeh B. and Aghaei A. (2013b) "Effects of different levels of lead (Pb) on physiological characteristics of sugar beet" **Int. J. Agric. Crop Sci.**, **5**, **10**, pp 1154-1157.
- Nair R. Varghese S.H. Nair B. Maekawa T. Yashida Y. and Kumar D.S. (2010) "Nanoparticle material delivery to plants" **Plant Sci.**, **179**, pp 154-163.
- Nareshkumar A. Nagamallaiah G.V. Pandurangaiah M. Kiranmai K. Amaranathareddy V. Lokesh U. Venkatesh B. Sudhakar C. (2015) "Pb-Stress induced oxidative stress caused alterations in antioxidant efficacy in two groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars" **Agric. Sci.**, **6**, pp 1283-1297.
- Navari-Izzo F. Quartacci M.F. Pinzino O. Dalla Vecchia F. and Sgherii C.L.M. (1998) "Thylakoid-bound and stromal antioxidant enzymes in wheat treated with excess copper" **Physiol. Plant.**, **104**, pp 630-638.
- Nazir A. Naseem Malik R. Ajaib M. Khan N. and Siddiqui M.F. (2011) "Hyperaccumulators of heavy metals of industrial areas of Islamabad and Rawalpindi" **Pak. J. Bot.**, **43**, **4**, pp 1925-1933.
- Nedjimi B. and Daoud Y. (2009) "Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake" **Flora.**, **204**, pp 316-324.
- Nelson P.E. Toussoun T.A. and Marasas W.F.O. (1983), "***Fusarium* species, an illustrated manual for identification**", The Pennsylvania State University Press, Press Park and London, pp. 206.
- Nikolic N. Kogic D. Pilipovic A. Pajivic S. Krstic B. Borisev M. and Orlovic S. (2008) "Responses of hybrid poplar to cadmium stress photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation and antioxidant enzyme activity" **Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.**, **50**, **2**, pp 95-103.
- Nongmaithem N. Roy A. and Bhattacharya P.M. (2017) "Potential of *Trichoderma* spp. on Growth Promotion and Mitigating Cadmium Uptake in Rice Plant under the Metal Stress Ecosystem" **Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.**, **6**, **6**, pp 992-1010.
- Nowak G. Grant D.F. and Moran J.H. (2004) "Linoleic acid epoxide promotes the maintenance of mitochondrial function and active Na⁺ transport following hypoxia" **Toxicol. Lett.**, **147**, **2**, pp 161-75.
- Oelmuller R. Sherameti I. Tripathi S. and Varma A. (2009) "*Piriformospora*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications" **Symbiosis.**, **49**, pp 1-17.
- Page A.L. Miller R.H. and Keeney D.R. (1982) "Methods of Soil Analysis. The chemistry of submerged soils. Ponnampetuma, F.N.(eds.)" **Adv. Agron.**, **24**, pp 26-92.
- Pais I.J. and Benton Jones J.R. (1997), "**The hand book of trace elements**", Publishing by: St. Luice Press Boca Raton Florida,
- Pan Y. Jun W.L. and Liang Y.Z. (2006) "Effect of salt and drought stress on antioxidant enzyme activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)" **Plant Growth Regul.**, **49**, pp 157-165.
- Pandey N. and Sharma C.P. (2002) "Effects of heavy metals Co²⁺, Ni²⁺ and Cd²⁺ on growth and metabolism of cabbage" **Plant Sci.**, **163**, pp 753-758.

- Parmar P. Kumari N. and Sharma V. (2013) "Structural and functional terations inphotosynthetic apparatus of plants under cadmium stress" **Bot. Stud.**, **54**, pp 45-51.
- Paul N.C. Deng J.X. Lee H.B. and Yu S.H. (2015) "Characterization and pathogenicity of *Alternaria burnsii* from seeds of *Cucurbita maxima* (*Cucurbitaceae*) in Bangladesh" **Mycobiology.**, **43**, **4**, pp 384-391.
- Pehlivan N. Saruhan Guler N. and Alpay Karaoglu S. (2018) "The effect of Trichoderma seed priming to drought resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants" **Hacettepe J. Biol. Chem.**, **46**, **2**, pp 263-272.
- Perriguet J. Sterckeman T. and Morel J.L. (2008) "Effect of rhizosphere and plant-related factors on the cadmium uptake by maize (*Zea mays* L.)" **Environ. Exp. Bot.**, **63**, pp 333-341.
- Pinto E. Sigaud-Kutner T.C.S. Leitao-Zajac M.A. Okamoto O.K. Morse D. (2003) "Heavy metal-induced oxidative stress in algae" **J. Phycol.**, **39**, pp 1008-1018.
- Porcel R. and Ruiz-Lozano J.M. (2004) "Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress" **J. Exp. Bot.**, **55**, **403**, pp 1743-1750.
- Porra R.J. (2002) "The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*" **Photosynth. Res.**, **73**, **1-3**, pp 149-156.
- Porsafar A. Youbert G. Javan-Nikkhah M. (2018) "An emended description of *Stemphylium amaranthi* with its first record for Iran mycobiota" **Phytotaxa.**, **371**, **2**, pp 93-101.
- Pourgholam M. Nemati N. and Oveysi M. (2013) "Effect of zinc and iron under the influence of drought on yield and yield components of rapeseed (*Brassica napus* L.)" **Ann. Biol. Res.**, **4**, **4**, pp 186-189.
- Prasad M.N.V. (1995) "Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants" **Environ. Exp. Bot.**, **35**, **4**, pp 525-545.
- Prasad R. Bagde U.S. Puspangadan P. and Varma A. (2008) "*Bacopa monniera* L.: Pharmacological Aspects and Study Involving *Piriformospora indica*" **Int. J. Integr. Biol.**, **3**, **2**, pp 100-10.
- Prasad S. Dwivedi R. Zeeshan M. and Singh R. (2004) "UV-B and cadmium induced changes in pigments photosynthetic electron transport activity, antioxidant levels and antioxidative enzyme activities of *Riccia spp*" **Acta Physiol. Plant.**, **26**, pp 423-430.
- Qi M. Liu Y. and Li T. (2013) "Nano-TiO₂ improve the photosynthesis of tomato leaves under mild heat stress" **Biol. Trace Elem. Res.**, **156**, **1-3**, pp 323-328.
- Rabier M. Ullah. I. Shaw L.J. and Haw M.W. (2017) "Potential ecological effects of *Piriformospora indica*, a possible bio control agent, in UK agricultural systems" **Bio. Control.**, **104**, pp 1-9.
- Radotic K. Ducic T. and Mutavdzic D. (2000) "Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium" **Environ. Exp. Bot.**, **44**, pp 105-113.

- Rady M.M. (2011) "Effect of 24-epibrassinolide on growth, yield, antioxidant system and cadmium content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under salinity and cadmium stress" **Sci. Hortic.**, **129**, pp 232-237.
- Raliya R. Nair R. Chavalmane S. Wang W.N. Biswas P. (2015) "Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant" **Plant Metallomics.**, **7**, 1584, pp 1-11.
- Ramirez-Vallejo P. and Kelly J.D. (1998) "Traits related to drought resistance in common bean" **Euphytica.**, **99**, pp 127-136.
- Rapley R. (2000), "**The nucleic acid protocols handbook**", Humana Press, pp. 705.
- Raskin I. and Ensley B.D. (2000), "**Phytoremediation of Toxic Metals Using Plants to Clean Up the Environment**", Wiley-Interscience Publication, pp. 304.
- Rastogi A. Zivcak M. Sytar O. Kalaji H.M. He X. Mbarki S. Brestic M. (2017) "Impact of Metal and Metal Oxide Nanoparticles on Plant: A Critical Review" **Front. Chem.**, **5**, **78**, pp 1-16.
- Rifai M.A. (1969) "A version of the genus *Trichoderma*" **Mycol. Pap.**, **116**, pp 1-56.
- Roberts R.G. Bischoff J.F. and Reymond S.Y. (2012) "Differential gene expression in *Alternaria* gaisen exposed to dark and light" **Mycol. Prog.**, **11**, **2**, pp 373-382.
- Rudresh D.L. Shivaprakash M.K. and Prasad R.D. (2005) "Tricalcium phosphate solubilizing abilities of *Trichoderma* spp. in relation to P uptake and growth and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.)" **Can. J. Microbiol.**, **51**, pp 217-222.
- Rui M. Ma C. Hao Y. Guo J. Rui Y. Tang X. Zhao Q. Fan X. Zhang Z. Hou T. Zhu. S. (2016) "Iron Oxide Nanoparticles as a Potential Iron Fertilizer for Peanut (*Arachis hypogaea*)" **Front. Plant Sci.**, **7**, pp 815-830.
- Ruiz J.M. Baghour M. and Roomers L. (2000) "Efficiency of the different genotypes of tomato in relation to foliar content of Fe and the response of some bioindicators" **J. Plant Nutr.**, **23**, **11-12**, pp 1777-1786.
- Ruize-Lozno J.M. (2003) "Arbuscular mycorrhiza symbiosis and alleviation of osmotic stress New perspective for molecular studies" **Mycorrhiza.**, **13**, pp 309-317.
- Ruley A.T. Sharma N.C. Sahi S.V. Singh S.R. and Sajwan K.S. (2006) "Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania durmondii* grown in soil" **Environ. Pollut.**, **144**, **1**, pp 11-18.
- Sadat Taghavirad S. Davar H. and Mohammadi M.J. (2014) "The a study on concentration of BETX vapors during winter in the department of ports and shipping located in one of the southern cities of Iran" **Int. J. Rev. Life Sci.**, **4**, **9**, pp 5416-5420.
- Sadhasivam S. Savitha S. and Swaminathan K. (2007) "Exploitation of *Trichoderma harzianum* mycelial waste for the removal of rhodamine 6G from aqueous solution" **J. Environ. Manage.**, **85**, pp 155-161.
- Safdari Y. and Kazemitabar S.K. (2009) "Plant tissue culture study on two different races of purslane (*Portulaca oleracea* L.)" **Afr. J. Biotechnol.**, **8**, **21**, pp 5906-5912.
- Sahu A. Mandal A. Thakur J. Manna M.C. and Rao A.S. (2012) "Exploring bioaccumulation efficacy of *Trichoderma viride*: An alternative bioremediation of cadmium and lead" **Natl. Acad. Sci. Lett.**, **35**, **4**, pp 299-302.

- Sairam R.K. Veerabhadra Rao K. and Srivastava G.C. (2002) "Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration" **J. Plant Sci.**, **163**, 5, pp 1037-1046.
- Salazar M.J. and Pignata M.L. (2014) "Lead accumulation in plants grown in polluted soils. Screening of native species for phytoremediation" **J. Geochem. Explor.**, **137**, pp 29-36.
- Samuels G.J. (1996) "*Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus" **Mycol. Res.**, **100**, 24, pp 923-935.
- Sanchez-Viveros G. Gonzalez-Mendoza D. Alarcon A. and Ferrera-Cerrato R. (2010) "Copper effects on photosynthetic activity and membrane leakage of *Azolla filiculoides* and *A. caroliniana*" **Int. J. Agric. Biol.**, **12**, 3, pp 365-368.
- Sanita D.T. L. and Gabbrielli R. (1999) "Response to cadmium in higher plants- review" **Environ. Exp. Bot.**, **41**, pp 105-130.
- Savasari M. Emadi M. Bahmanyar M.A. And Biparva P. (2015) "Optimization of Cd (II) removal from aqueous solution by ascorbic acid-stabilized zero valent iron nanoparticles using response surface methodology" **J. Ind. Eng. Chem.**, **21**, pp 1403-1409.
- Saxena P.N. Chauhan L.K. and Gupta S.K. (2005) "Cytogenetic effects of formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: Spectroscopic basis of chromosome damage" **Toxicology.**, **216**, pp 244-252.
- Schneider C. Porter N. and Brash A. (2008) "Routes to 4-hydroxynonenal: fundamental issues in the mechanisms of lipid peroxidation" **J. Biol. Chem.**, **283**, 23, pp 15539-15543.
- Schonfeld M.A. Johnson R.C. Carver B. and Morhinweg D.W. (1988) "Water relation in winter wheat as drought resistance indicator" **Crop Sci.**, **28**, pp 526-531.
- Schutzendubel A. and Polle A. (2002) "Plant response to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization" **J. Exp. Bot.**, **53**, 372, pp 1351-1365.
- Seckin B. Turkan I. Sekmen A.H. and Ozfidan C. (2010) "The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barley grass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley)" **J. Environ. Exp. Bot.**, **69**, pp 76-85.
- Seif Sahandi M. Sorooshzadeh A. Rezazadeh H. Naghdiabadi H.A. (2011) "Effect of nano silver and silver nitrate on seed yield of borage" **J. Med. Plants Res.**, **5**, 2, pp 171-175.
- Sergive I. Alexieva V. and Karanov E. (1997) "Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress marks in plants" **Bulg. Acad. Sci.**, **51**, pp 121-124.
- Shah K. and Nongkynrih J. M. (2007) "Metal hyperaccumulation and bioremediation" **Biol. Plant.**, **51**, 4, pp 618-634.
- Shahabivand S. and aliloo A.A. (2016) "*Piriformospora indica* promotes growth and antioxidant activities of wheat plant under cadmium stress" **J. Agric. Sci.**, **26**, 3, pp 333-340.
- Shahabivand S. Maivan H.Z. Goltapeh E.M. Sharifi M. and Aliloo A.A. (2012) "The effects of root endophyte and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and cadmium accumulation in wheat under cadmium toxicity" **Plant Physiol. Biochem.**, **60**, pp 53-58.

- Shankramma K. Yallappa S. Shivanna M.B. Manjanna J. (2016) “Fe₂O₃ magnetic nanoparticles to enhance *S. lycopersicum* (tomato) plant growth and their biomineralization” **Appl. Nanosci.**, **6**, pp 983-990.
- Sharma P. and Dubey R.S. (2005) “Lead toxicity in Plants” **Braz. J. Plant Physiol.**, **17**, **1**, pp 35-52.
- Sharma S.S. Kaul S. Metwally A. Goyal K.C. Finkemeier I.K. and Dietz J. (2004) “Cadmium toxicity in barley (*Hordeum vulgar*) as affected by varying Fe nutritional status” **Plant Sci.**, **166**, pp 1287-1295.
- Shen Y. Tang J. Nie Z. Wang Y. Ren Y. and Zuo L. (2009) “Preparation and application of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles for wastewater purification” **Sep. Purif. Technol.**, **68**, pp 312-319.
- Sherameti I. Tripathi S. Varma A. Oelmuller R. (2008) “The root-colonizing endophyte *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress-related genes in leaves” **Mol. Plant-Microbe Interact.**, **21**, pp 799-807.
- Shi G. Liu C. Cai Q. Liu Q. and Hou C. (2010) “Cadmium accumulation and tolerance of two safflower cultivars in relation to photosynthesis and antioxidative enzymes” **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, **85**, **3**, pp 256-63.
- Shidfar F. Yarahmadi S.H. Jalali M. (2007) “Effects of purified omega-3 fatty acids in postmenopausal women with type-2 diabetes Iranian” **J. Endocrinol. Metab.**, **9**, **3**, pp 229-234.
- Shukla N. Awasthi R.P. Rawat L. and Kumar J. (2012) “Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress” **Plant Physiol. Biochem.**, **54**, pp 78-88.
- Siddhu G. Shingh sirohi D. Koshyap K. alikhan I. and Ali khan M.A. (2008) “Toxicity of cadmium on growth and yield of *Solanum melongena*” **J. Environ. Biol.**, **29**, **6**, pp 853-857.
- Siddiqi K.S. and Husen A. (2017) “Plant Response to Engineered Metal Oxide Nanoparticles” **Nanoscale Res. Lett.**, **12**, **92**, pp 2-18.
- Simmons E.G. (1999) “*Alternaria* themes and variation (236-243). Host specific toxin producers” **Mycotaxon.**, **70**, pp 325-369.
- Singh G. Marimuthu P. Heluani C.S.D. and Catalan C. (2005) “Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds” **J. Sci. Food Agricultur.**, **85**, **2**, pp 297-306.
- Singh V. Singh P.N. Yadav R.L. Awasthi S.K. Joshi B.B. Singh R.K. Lal R.J. and Duttamajumder S.K. (2010) “Increasing the efficacy of *Trichoderma harzianum* for nutrient uptake and control of red rot in sugarcane” **J. Hortic. For.**, **2**, **4**, pp 66-71.
- Sinha S. and Saxena R. (2006) “Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidant and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri*” **Chemosphere.**, **62**, **8**, pp 134-135.
- Smeets K. Cuypers A. Lambrechts A. Semane B. Hoet P. Laere A.V. and Vangronsveld J. (2005) “Induction of oxidative stress and antioxidativ mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application” **Plant Physiol. Biochem.**, **43**, pp 437-444.

- Smith S.E. and Read D.J. (2008), “**Mycorrhizal Symbiosis**”, 3rd edition, Academic Press, London, UK, pp. 815.
- Sridhar M. Diehl S.R. Han F.X. Monts D.L. and Su Y. (2004) “Anatomical changes due to uptake Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*)” **Environ. Exp. Bot.**, **54**, pp 131-141.
- Srilantha B. (2011) “Nanotechnology in agriculture” **Nanomed. Nanotech.**, **2**, pp 123-128.
- Stewart R.R.C. and Bewley J.D. (1980) “Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes” **Plant Physiol.**, **65**, 2, pp 245-248.
- Sun Ch. Johnson J.M. Cai D. Sherameti I. Oelmuller R. and Lou B. (2010) “*Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein” **J. Plant Physiol.**, **167**, 12, pp 1009-1017.
- Sun Y. Qixing Z. and Chunyan D. (2008) “Effects of cadmium and arsenic on growth and metal accumulation of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L.” **Bioresour. Technol.**, **99**, 5, pp 1103-1110.
- Sun Y.P. Li XQ. Cao J. Zhang W.X. and Wang H.P. (2006) “Characterization of zero-valent iron nanoparticles” **Adv. Colloid Interface Sci.**, **120**, pp 47-56.
- Swiader J.M. (2000), “**Micronutrient fertilizer recommendation for vegetable crop**”, Horticultural facts, pp. 28.
- Talapat, S. and Parida. B. (2009) “Crop growth as influenced by zinc and organic matter in cadmium-rich polluted soils” **Available online at: <http://scholarship.org/uc/item>**
- Tang W. and Newton R.J. (2005) “Peroxidase and catalase activities are involved in direct adventitious shoot formation induced by thidiazuron in eastern white pine (*Pinus strobus* L.) zygotic embryos” **J. Plant Physiol. Biochem.**, **43**, 8, pp 760-769.
- Tchameni S.N. Ngonkeu MEL. Begoude B.A.D. Nana L.W. Fokom R. Owona A.D. (2011) “Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease” **Crop Prot.**, **30**, 10, pp 1321-1327.
- Tewari R.K. Kumar P. and Sharma P.N. (2005) “Sign of oxidative stress in the chlorotic leaves of iron starved plants” **Plant Sci.**, **169**, pp 1037-1045.
- Thangavel P. and Subburam C.V. (2004) “Phytoextraction – Role of hyper accumulators in metal contaminated soils” **Proc. Indian Natl. Sci. Acad. Part B.**, **70**, pp 109-130.
- Theriappan P. Gupta A.K. and Dhasarathan P. (2011) “Accumulation of proline under salinity and heavy metal stress in cauliflower seedlings” **J. Appl. Sci. Environ. Manage.**, **15**, 2, pp 251-255.
- Tiryakioglu M. Eker S. Ozkutlu F. Husted S. and Cakmak I. (2006) “Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance” **J. Trace Elem. Med. Biol.**, **20**, pp 181-189.
- Tiwari K. Dwivedi S. Mishra S. Srivastava S. Tripathi R. Singh N. and Chakraborty S. (2008) “Phytoremediation efficiency of *Portulaca tuberosa* rox and *Portulaca oleracea* L. naturally growing in an industrial effluent irrigated area in Vadodra, Gujrat, India” **Environ. Monit. Assess.**, **147**, 1-3, pp 15- 22.

- Tziveleka L. Kaldis A. Hegedus A. Kissimon J. Prombonal A. Horvath G. Arjyroidi – Akoyou J. (1999) “The effect of Cd on chlorophyll and light – Harvesting complex II biosynthesis in greening plants” **Natur. Forsch.**, **54**, pp 740-745.
- Uzum C. Shahwan T. Eroglu A.E. Hallam K.R. Scott T.B. Lieberwirth I. (2009) “Synthesis and characterization of kaolinite-supported zero-valent iron nanoparticles and their application for the removal of aqueous Cu²⁺ and Co²⁺ ions” **Appl. Clay Sci.**, **43**, pp 172-181.
- Varma A. Savita S. Sahay N. Butehorn B. and Franken P.H. (1998) “*Piriformospora indica*, A cultivable plant-growth-promoting root endophyte” **Appl. Environ. Microbiol.**, **65**, pp 2741-2744.
- Varma A. Singh A. Sudha Sahay N. Sharma J. Roy A. Kumari M. Rana D. Thakran S. Deka D. Bharti K. Franken P. Hurek T. Bleichert O. Rexer K-H. Kost G. Hahn A. Hock B. Maier W. Walter M. Strack D. Kranner I. (2001), “*Piriformospora indica*: an axenically culturable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus”, Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 123-150.
- Vassilev A. and Yordanov I. (1997) “Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants: A review” **Plant Physiol.**, **23**, 3-4, pp 114-133.
- Vega D.L. Fernandez R.P. Mateo M.C.M. Bustamante J. Bustamante A. Herrero A.M. and Munguira E.B. (2003) “Study of activity of glutathione-peroxidase, glutathione-transferase and glutathione reductase in renal transplants” **Transplant. Proc.**, **35**, pp 1346-1350.
- Verma S. Varma A. Rexer K.H. Kost G. Sarbhoy A. Bisen Butehorn P. and Franken P. (1998) “*Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus” **Mycologia.**, **95**, pp 896-903.
- Veselov D. Kuudoyarova G. Syymonyan M. and Veselov S.T. (2003) “Effect of cadmium on ion uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seedling” **Plant Physiol.**, **117**, pp 353-359.
- Vierheilig H. Coughlan A.P. Wyss U. and Piche Y. (1998) “Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi” **Appl. Environ. Microbiol.**, **64**, **12**, pp 5004-5007.
- Vinita B. (2007) “Phytoremediation of toxic metals from soil and waste water” **India. J. Environ. Biol.**, **28**, **2**, pp 367-376.
- Vitoria A.P. Cunha M.D. and Azevedo R.A. (2005) “Ultra structural changes of Radish leaf exposed to cadmium” **Environ. Exp. Bot.**, **58**, pp 47-52.
- Wahid A. (2007) “Physiological implications of metabolites biosynthesis in net assimilation and heat stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts” **J. Plant Res.**, **120**, **2**, pp 219-228.
- Waller F. Achatz B. Baltruschat H. Fodor J. Becker K. Fischer M. Heier T. Huckelhoven R. Neumann C. Wettstein D. Franken P. and Kogel K. (2005) “The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield” **Proc. Natl. Acad. Sci.**, **103**, pp 18450-18457.

- Wang B. Liu L. Gao Y. Chen J. (2009) "Improved phytoremediation of oilseed rape (*Brassica napus*) by *Trichoderma* mutant constructed by restriction enzyme-mediated integration (REMI) in cadmium polluted soil" **Chemosphere.**, **74**, pp 1400-1403.
- Wang L. Zhou Q. Ding L. and Sun Y. (2008) "Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of *Solanum nigrum* L." **J. Hazard. Mater.**, **154**, pp 818-825.
- Wang M. and Zhou Q. (2005) "Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and copper acting on wheat *Triticum aestivum*" **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, **60**, pp 169-175.
- Wangstrand H. Eriksson J. and Oborn I. (2007) "Cadmium concentration in winter wheat as affected by nitrogen fertilization" **Eur. J. Agron.**, **26**, pp 209-214.
- Watanabe T. (1994), "**Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species**", 2th edn, CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, pp. 485.
- Weast R.C. (1984), "**CRC Handbook of chemistry and physics**", 64th edn, Boca Raton, CRC Press, pp. 2661.
- Whatmore W. (2005) "what is it should be worried" **Nanotechnol.**, **1**, pp 67-66.
- Xiao X. Tongbin C. Zhizhuang A. and Mei L. (2008) "Potential of *Pteris vittata* L. for phytoremediation of sites co-contaminated with cadmium and arsenic: the tolerance and accumulation" **J. Environ. Sci.**, **20**, pp 62-67.
- Xue Z.C. Gao Y.H. and Zhang L.T. (2013) "Effects of cadmium on growth, photosynthetic rate and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings" **Biol. Plant.**, **57**, pp 587-590.
- Yadav S.K. (2010) "Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metals stress tolerance of plants" **S. Afr. J. Bot.**, **76**, pp 167-179.
- Yaghoubian Y. Alamisaieid K. Pirdashti H. Mohammadi Goltapeh E. Feizasl V. and Sefandiari E. (2013) "Effect of *Glomus mossea* and *Piriformospora indica* and different levels of organic matter on the relationships between related characters with wheat yield" **Crop Res.**, **3**, **3**, pp 211-226.
- Yang X.E. Long X.X. Calvert D.V. and Stofella P.J. (2004) "Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Znhyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance)" **Plant Soil.**, **259**, pp 181-189.
- Yasmeen F. Raja N.I. Razzaq A. and Komatsu S. (2017) "Proteomic and physiological analyses of wheat seeds exposed to copper and iron nanoparticles" **Biochim. Biophys. Acta.**, **1865**, 28-42.
- Yassen A. Abou El-Nour E.A.A. and Shedeed S. (2010) "Response of Wheat to Foliar Spray with Urea and Micronutrients" **J. Am. Sci.**, **6**, **9**, pp 14-22.
- Yien Ting S. and Choong C.C. (2009) "Bioaccumulation and biosorption efficacy of *Trichoderma* isolate SP2F1 in removing copper (Cu(II)) from aqueous solutions" **World J. Microbiol. Biotechnol.**, **25**, pp 1431-1437.
- Yoshimura K. Yabuta Y. Ishikawa T. and Shigeoka S. (2000) "Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses" **Plant Physiol.**, **123**, **1**, pp 223-234.

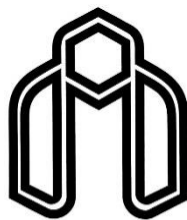
- Zabel R.A. and Morrell J.J. (2012), “**Wood microbiology: decay and its prevention**”, Academic press, pp. **498**.
- Zafar S. Aqil F. and Ahmad E. (2007) “Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil” **Bioresour. Technol.**, **98**, pp 2557-2561.
- Zago M.P. and Oteiza P.I. (2001) “The antioxidant properties of zinc: Interactions with iron and antioxidants” **Free Radical Biol. Med.**, **31**, pp 266-274.
- Zarea M.J. Chordia P. and Varma A. (2013) “***Piriformospora indica* versus Salt Stress**”, In: Varma A, Kost G and Oelmuller R (Eds.), *Sebacinales*, Springer-Verlag, pp. **263-281**.
- Zarea M.J. Hajinia S. Karimi N. Mohammadi Goltapeh E. Rejali F. and Varma A. (2012) “Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl” **Soil Biol. Biochem.**, **45**, pp **139-146**.
- Zengin F.K. and Munzuroglu O. (2005) “Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings” **Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.**, **47**, 2, pp **157-164**.
- Zhang G. Fukami M. and Sekimoto H. (2002) “Influence of cadmium on mineral concentration and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage” **Field Crops Res.**, **77**, pp **93-98**.
- 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**, 5, pp **306-311**.
- Zhang H.W. Song Y.C. and Tan R.X. (2006) “Biology and chemistry of endophytes” **Nat. Prod. Rep.**, **23**, 5, pp **753-771**.
- Zhang M. Alva A.K. Li Y.C. and Calvert D.V. (1997) “Chemical association of Cu, Zn, Mn, and Pb in selected sandy citrus soils” **J. Soil Sci.**, **162**, pp **181-188**.
- Zhang M. He F. Zhao D. and Hao X. (2011) “Degradation of soil sorbed trichloroethylene by stabilized zero valent iron nanoparticles: Effects of sorption, surfactants, and natural organic matter” **Water Res.**, **45**, pp **2401-2414**.
- Zhao L.J. Sun Y.P. Hernandez-Viezcas J.A. Hong J. Majumdar S. Niu G.H. Duarte-Gardea M. Peralta-Videa J.R. Gardea-Torresdey J.L. (2015) “Monitoring the Environmental Effects of CeO₂ and ZnO Nanoparticles Through the Life Cycle of Corn (*Zea mays*) Plants and in Situ mu-XRF Mapping of Nutrients in Kernels” **Environ. Sci. Technol.**, **49**, 5, pp **2921-2928**.
- Zhao Y. (2011) “Cadmium accumulation and antioxidative defenses in leaves of *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L.” **Nat. Prod. Rep.**, **10**, 15, pp **2936-2943**.

Abstract

In order to investigate the effect of some endophytic fungi and foliar spraying of iron nanoparticles on phytoremediation of purslane (*Portulaca oleracea* L.) under different levels of cadmium (Cd), a research was carried out in Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University during 2016-2019. This research was conducted in three stages including two preliminary and a supplementary phases. The first preliminary step was conducted in a factorial experiment in a completely randomized design with three replications in order to select the best treatment levels for both iron nanoparticles and cadmium. Iron nanoparticles consisted of five levels (0, 0.25, 0.5, 0.75 and 1 g/l) and cadmium at six levels (0, 25, 50, 75, 100 and 125 mg/kg soil) from the source of cadmium chloride. At this stage, the results indicate a decrease in all growth and physiological parameters of purslane by increasing the Cd levels in soil. The maximum reduction in morphological and growth parameters was recorded for plant height, leaf area (about 50 and 45 percent) and shoot fresh weight (more than three times lower), respectively. The most positive effect of foliar spraying of iron nanoparticles in morphological traits, at a concentration of 0.25 g/l was observed in purslane plant height and leaf area. Also, at the same concentration of nanoparticles, the relative water content (RWC) increased by 14%. Catalase activity increased when 0.3 g/l of iron nanoparticles was applied. The most changes in the measured parameters in response to the Cd in the soil occurred at the levels of 0 to 75. Therefore, according to the results of this stage, levels of 0, 25, 50 and 75 g/kg of Cd in the soil were selected for the second preliminary stage and supplementary experiment. To more accurate and better evaluate the effectiveness of nanoparticles, concentrations of 0.15 and 0.3 g/l were selected for supplementary experiments. The second preliminary stage aimed to investigate the effect of 13 symbiotic fungal isolates of roots in Sari areas of Mazandaran and Shahroud areas in Semnan province along with *Piriformospora indica* and *Trichoderma longibrachiatum* (UTFC 10060) as control fungi. Tolerance and phytoremediation of purslane were investigated using a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications. Cluster analysis classified fungal isolates into four classes according to their effects on purslane. Results indicated *Chaetomium subaffine* (SF3) and *T. atroviride* (SN1) classified in the best group in terms of their positive effects on the measured traits. Results also confirmed their symbiosis with purslane roots. In addition, *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) also showed a better performance than *P. indica* and, therefore, was selected for supplementary experiment. In the supplementary experiment, the effect of foliar spraying of iron nanoparticles (0, 0.15 and 0.3 g / l) and *C. subaffine* (SF3) and *T. atroviride* (SN1) selected endophytic fungi and *T. longibrachiatum* (UTFC 10060) as control fungi were investigated in term of the purslane tolerance and phytoremediation ability against different Cd concentrations. A factorial experiment based on a completely randomized design with three replications was applied. The results of the supplementary test showed that increasing the Cd toxicity of soil reduced all growth and morphological traits in purslane. Cd increased hydrogen peroxide (H₂O₂), electrolyte leakage (EL) and membrane lipid peroxidation. Cd, also, reduced the RWC, chlorophyll content and thus

reduced photosynthesis and growth. Symbiosis with *C. subaffine* (SF3), *T. atroviride* (SN1) and *T. longibrachiatum* (UTFC10060) fungi markedly improved purslane growth, morphological and physiological parameters. In inoculated plants, plant height, leaf number and area, stem diameter as well as leaves fresh and dry weights increased as compared to the uninoculated plants. Also, these fungi ameliorated the negative effects of Cd toxicity in the plant not only by reducing the EL, H₂O₂ and malondialdehyde (MDA) but also by increasing the RWC and proline. As a result, the activity of antioxidant enzymes decreased in inoculated plants. Application of 0.15 and 0.3 g/l of iron nanoparticles also showed a positive effect on the growth parameters of purslane by reducing oxidative stress and increasing the activity of antioxidant enzymes, proline content and RWC and ultimately improved photosynthetic conditions. With increasing Cd concentration in the soil, its amount increased in the roots and shoots of purslane, also increased the biological characteristics of this plant. On the other hand, fungal inoculation also increased the phytoremediation ability of purslane. Inoculated plants could uptake more absorbable Cd from the soil than the control. Also, the amount of Cd increased both in the root and its transfer to the shoot, which eventually led to an increase in biological factors. Application of iron nanoparticles also improved Cd uptake and thus increased biological indicators by improving the nutritional and growth conditions of the plant under Cd stress. In general, in this experiment, fungal isolates of *C. subaffine* (SF3) and *T. atroviride* (SN1), which were isolated for the first time in Iran from *Froriepia* (*Froriepia subpinnata*) and watercress (*Nasturtium officinale*) as endophytic and root symbiosis fungi can be introduced that in purslane improved growth and phytoremediation process and reduced oxidative stress under Cd stress. Also, results of iron nanoparticles indicated a positive effect on the growth characteristics of purslane under Cd toxicity.

Keywords: Antioxidant enzymes, cadmium, iron nanoparticles, phytoremediation, purslane, symbiotic fungi.



Shahrood University
of Technology

Faculty of Agriculture

Ph.D. Thesis in Agronomy- Crop Ecology

**Identification and evaluation of performance of some
endophytic fungi and foliar spraying of iron nanoparticles on
phytoremediation of purslane (*Portulaca oleracea* L.) under
different levels of cadmium**

By: Zahra Nouri Akandi

Supervisors:

Dr. Hassan Makarian

Dr. Hemmatollah Pirdashti

Advisors:

Dr. Mohammad Reza Amerian

Dr. Mehdi Baradaran Firozabadi

Dr. Mohammad Ali Tajik Ghanbary

September 2020