



## غیرمتحرک‌سازی سرب در ریشه آفتابگردان توسط گلومالین قارچ *Rhizophagus irregularis*

امیرحسین دانش‌فر<sup>۱\*</sup>، ناصر علی‌اصغرزاد<sup>۲</sup>، شاهین اوستان<sup>۳</sup> و بهمن خوش‌رو<sup>۴</sup>

۱- کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک - دانشکده کشاورزی - دانشگاه تبریز

۲- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک - دانشکده کشاورزی - دانشگاه تبریز

۳- استاد شیمی خاک - دانشکده کشاورزی - دانشگاه تبریز

۴- دانشجوی دکتری بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک - دانشکده کشاورزی - دانشگاه تبریز

Email: amirhossein.daneshfar@yahoo.com

### چکیده

گلومالین یک ترکیب گلیکوپروتئینی ویژه است که توسط قارچ‌های راسته گلومرال از رده گلومرومایکوتا تولید شده و با کاهش قابلیت دسترسی فلزات سنگین به ریشه گیاه نقش اصلی را در غیر متحرک‌سازی آنها در خاک ایفا می‌کند. در این تحقیق، میزان تولید گلومالین و مقدار سرب غیرمتحرک شده با این گلیکوپروتئین در گیاه آفتابگردان (هیبرید فرخ) تلقیح شده با قارچ *Rhizophagus irregularis* بررسی شد. سه سطح سرب شامل صفر ( $Pb_0$ )، ۵۰۰ ( $Pb_1$ ) و ۱۰۰۰ ( $Pb_2$ ) میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم از منبع نترات سرب به خاک اضافه شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب خاک، مقدار TGR به طور معنی‌داری کاهش یافت، به طوری که در سطوح  $Pb_1$  و  $Pb_2$  به ترتیب ۲۸/۹۱ و ۳۸/۷۷ درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد بدون سرب مشاهده گردید. مقدار سرب غیرمتحرک شده توسط TGR در سطوح  $Pb_1$  و  $Pb_2$  در تیمارهای میکوریزی به ترتیب ۴/۰۳۴ و ۴/۶۱۴ میلی‌گرم بر گرم گلومالین ریشه بود.

واژه‌های کلیدی: گلومالین، *Rhizophagus irregularis*، سرب، آفتابگردان، غیرمتحرک‌سازی.

### مقدمه

کشت گیاه و تولید محصول در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین همواره این نگرانی را به دنبال داشته است که این عناصر از طریق ریشه جذب شده و به بخش هوایی منتقل شوند و به دنبال آن، با تغذیه انسان و دام از بخش هوایی، خسارات جبران ناپذیری وارد می‌شود. روش‌های مختلف برای ممانعت از حرکت این عناصر سمی از خاک یا ریشه به قسمت هوایی گیاه به کار گرفته شده است. در این میان استفاده از برخی میکروارگانیسم‌ها و به ویژه انواع همزیست چشم‌انداز خوبی ارائه کرده است. همزیستی ریشه با قارچ‌های میکوریزی گاهی سبب تحرک بیش‌تر فلزات سنگین و انتقال آن‌ها به بخش هوایی شده است ولی در برخی موارد، قارچ با غیرمتحرک کردن فلزات سمی در خاک مانع از ورود آن‌ها به ریشه شده و یا این که با غیرمتحرک کردن آن‌ها در داخل ریشه، مانع از حرکت آن‌ها به بخش هوایی می‌شوند. در این رابطه به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های مهم، غیرمتحرک شدن یون فلز در خاک یا ریشه باشد (Purin and Rillig 2008). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار از راسته گلومرال<sup>۱</sup> با ۷۰ درصد گیاهان همزیستی تشکیل می‌دهند (Biro and Takacs 2007). این قارچ‌ها در همزیستی گسترده با ریشه گیاهان، با تأمین عناصر معدنی و تعدیل تنش‌های محیطی، رشد آن‌ها را بهبود می‌بخشند و نقش کلیدی و مهمی در تسهیل جذب مواد غذایی در اکوسیستم‌های مختلف، به ویژه در سیستم‌های کشاورزی با ورودی کم، بازی می‌کنند (Jansa et al, 2008). گلومالین گلیکوپروتئین تولید شده به وسیله هیف‌های قارچ‌های  $AM^2$  می‌باشد که مقاوم به تجزیه بوده و می‌تواند مقادیر بالایی از کربن و نیتروژن را ترسیب کند (Nichols and Wright 2006)، لذا می‌توان نتیجه گرفت که جریان کربن از این مسیر، عمدتاً به شکل گلومالین در خاک پدیدار می‌گردد (Purin and Rillig 2008)، یعنی قارچ از کربن گیاه برای رشد خود و تولید گلومالین استفاده می‌کند (Nichols and Wright 2006). این گلیکوپروتئین روی هیف و اسپور قارچ‌های گلومرال، ریشه‌های کلونیزه شده، مواد آلی، ذرات خاک و آربوسکول‌های داخل سلول‌های ریشه قرار می‌گیرد (Wright 2000). هنگامی که هیف قارچ تجزیه می‌شود، گلومالین در خاک آزاد می‌گردد (Treseder and Allen 2000). بنابراین میزان هیف‌های پایدار، مقادیر گلومالین در هیف و

<sup>1</sup> Glomeral

<sup>2</sup> Arbuscular mycorrhizal

سرعت تجزیه هیف تعیین کننده میزان گلومالین آزاد شده در خاک خواهد بود. این پروتئین قارچی گاهی تا ۲۷ درصد کربن آلی خاک را تشکیل می‌دهد. وزن مولکولی آن ۲۴-۲ برابر بیش‌تر از اسید هومیک بوده و به مدت ۴۲-۷ سال در خاک پایدار است. آلودگی خاک با فلزات سنگین یکی از مشکلات زیست محیطی عمده در جوامع بشری است که علاوه بر کاهش عملکرد و کیفیت محصول، پایداری تولیدات کشاورزی را دچار مخاطره نموده و سلامتی موجودات زنده را به خطر می‌اندازد. قارچ می‌تواند تحت تأثیر فلزات سنگین قرار گرفته و به این ترتیب کلونیزاسیون قارچ‌های AM کاهش می‌یابد (Koomen et al., 1990). با توجه به تأثیرات منفی سرب بر همزیستی میکوریزی، تصور می‌رود که با افزایش سطوح سرب در خاک، میزان همزیستی قارچ‌های گلومرال کاهش یافته و جریان کربن آلی از بخش فتوسنتزی به ریشه کم شده و ترشحات گلومالین تقلیل یابد. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر سطوح مختلف سرب بر تولید گلومالین قارچ *Rhizophagus irregularis* و میزان سرب کمپلکس شده توسط گلومالین تولید شده از قارچ *R. irregularis* همزیست با گیاه آفتابگردان و نیز مقدار سرب تجمع یافته در ریشه آفتابگردان می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

زادمایه قارچی *R. irregularis* (اخذ شده از دپارتمان اکولوژی میکروبی دانشگاه لوند سوئد)<sup>۳</sup> به شکل کشت درون شیشه‌ای از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز دریافت شد. خاک مورد نظر از ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه تبریز نمونه‌برداری شد. بعد از هوا خشک کردن و عبور از غربال دو میلی‌متری، برخی از ویژگی‌های تعیین گردید (جدول ۱). خاک مورد نظر به منظور کشت گیاه، پس از عبور از غربال چهار میلی‌متری به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ بار در اتوکلاو استریل شد. سطوح سرب شامل سه سطح صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک استریل و از منبع  $Pb(NO_3)_2$  اعمال گردید (Shaabani et al., 2013). برای ایجاد سطوح سرب ۳۶ کیلوگرم خاک استریل شده به سه قسمت تقسیم شده و به جز تیمار بدون سرب (شاهد)، در هر تیمار ۱۲ کیلوگرم خاک استریل شده بر روی صفحات پلاستیکی ضدعفونی شده پخش و مقدار نمک نترات سرب لازم را در مقدار مشخصی آب مقطر برای رسیدن به رطوبت ۰/۸ FC حل کرده و به طور یکنواخت به خاک اسپری شد و ضمن اسپری به طور مرتب با بیلچه استریل به هم زده شد تا مخلوط یکنواخت و یک دستی حاصل شد و برای رسیدن به حالت تعادل بین فاز جامد و مایع به مدت ۱۵ روز در همین حال (با حفظ رطوبت ۰/۸ FC) نگهداری شد. با توجه به غلظت‌های مختلف نترات سرب به کار رفته، جهت یکسان‌سازی اثر نترات، از نمک نترات سدیم ( $NaNO_3$ ) استفاده شد. از بذر آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم تجاری هیبرید فرخ استفاده شد. بذور به مدت دو ساعت در آب مقطر خیس و سپس در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. دو کیلوگرم خاک استریل (حاوی سطوح سرب) در هر گلدان ریخته شد و زادمایه قارچی (به شکل ژله‌ای، مخلوط شده با ۷۰ گرم ماسه شسته استریل) در پنج سانتی‌متری از سطح گلدان‌ها قرار داده شد سپس توسط اسپاتول در سطح خاک گلدان، شیری به عمق حدوداً سه برابر عرض بذر ایجاد کرده و بذر در آن قرار گرفت. در مورد گیاهان شاهد غیرمیکوریزی، به همان مقدار محیط کشت فاقد قارچ مخلوط شده با ماسه شسته استریل اضافه گردید. عناصر غذایی نیتروژن ( $150 \text{ mg kg}^{-1}$  از منبع اوره) و پتاسیم ( $\text{mg kg}^{-1}$  از منبع سولفات پتاسیم) بر اساس نتایج آزمون خاک و توصیه کودی منطقه برای گیاه آفتابگردان، به طور یکنواخت به خاک همه گلدان‌ها قبل از کشت افزوده و به خوبی مخلوط شد (ملکوئی ۱۳۷۹). رطوبت گلدان‌ها به روش توزین در ۰/۸ FC تا ۰/۹FC تنظیم شد. گیاهان در آستانه مرحله گل‌دهی برداشت شدند. برای استخراج گلومالین کل از محلول سیترات سدیم ۵۰ میلی‌مولار استفاده شد. برای این منظور ۱۴/۷۰۵ گرم تری‌سدیم سیترات دی‌هیدرات (جرم مولکولی ۲۹۴/۱۰ گرم بر مول) را در ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و pH آن با محلول اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال روی ۸ تنظیم و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. ۸ میلی‌لیتر از این محلول بر روی یک گرم از ریشه تازه را که در فریزر (دمای ۲۲- درجه سلسیوس) نگه داری شده بود اضافه شده و پس از ۳۰ ثانیه ورتکس، به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو شد. سپس در ۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول صاف بالایی جمع آوری شد و در لوله تمیز ریخته شد و در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگه داری شد (Wright and Upadhyaya 1996). پس از برداشت ۲۰۰ میکرولیتر، به باقی‌مانده عصاره حاوی

<sup>3</sup> Microbial Ecology, Department of Biology, Lund University, Lund, Sweden

گلومالین گرفته شده از ریشه، قطره قطره و با دقت، اسید کلریدریک ۱ نرمال اضافه کرده به طوری که با افت pH به حدود ۲/۵، گلومالین به شکل رسوب در آمد؛ گلومالین رسوب یافته را پس از سانتیفریژ (در ۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۲۰ دقیقه)، جدا کرده و سپس برای اندازه گیری سرب متصل به آن، یک میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ (۶۷ درصد) اضافه کرده و به مدت ۳-۶ ساعت در بن ماری (دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس) قرار داده شد. به این ترتیب با محو شدن رسوب گلومالین و زلال شدن محلول، از هضم کامل رسوب اطمینان حاصل گردید. در نهایت غلظت سرب با دستگاه جذب اتمی قرائت شد. نمونه ها بعد از خشک شدن، خرد شده و برای ایجاد نمونه ای یکنواخت از الک ۰/۵ میلی متری عبور داده شدند. برای اندازه گیری فسفر، هضم نمونه های گیاهی به روش ترسوزانی انجام گرفت (Waling et al., 1989). غلظت سرب در عصاره ها با دستگاه جذب اتمی قرائت گردید (طباطبایی ۱۳۹۲). این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش عبارتند از: سرب (در سه سطح صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک) از منبع نیترات سرب و قارچ (در دو سطح شاهد بدون قارچ و قارچ *R. irregularis*).

### نتایج و بحث

#### خصوصیات خاک مورد استفاده

قبل از شروع آزمایش گلخانه ای، برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده اندازه گیری شد که در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱: برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

فسفر قابل جذب (mg kg <sup>-1</sup> )	پتاسیم قابل جذب (mg kg <sup>-1</sup> )	کربن آلی (%)	EC (dS m <sup>-1</sup> )	pH	وزن مخصوص ظاهری (g cm <sup>-3</sup> )	کلاس بافت خاک	خصوصیات
۴/۴	۱۸۲/۶	۰/۲۲۱	۱/۴	۷/۸۱	۱/۴	شن لومی	مقدار

#### پارامترهای گیاهی

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و گونه قارچی بر ارتفاع، وزن مرطوب و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش غلظت سرب خاک، پارامترهای فوق کاهش یافت به طوری که این کاهش بین سطوح سرب کاملاً معنی دار بود. در تمام سطوح سرب، گیاهان میکوریزی به طور معنی داری مقادیر بیش تری از نظر این پارامترها نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی دارا بودند.

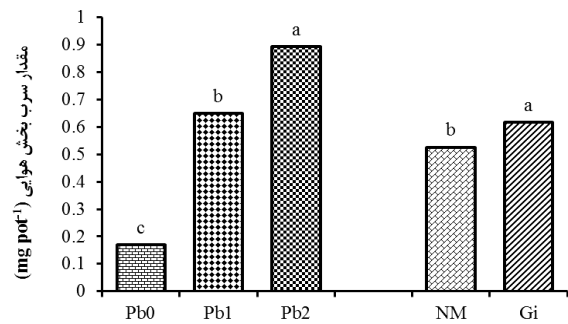
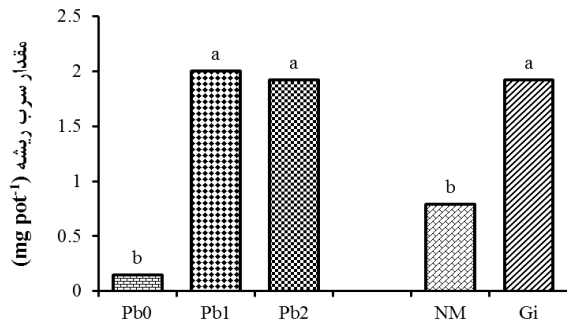
جدول ۲: تجزیه واریانس اثر سطوح سرب و گونه قارچی بر ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه.

میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع گیاه	وزن تر بخش هوایی	وزن خشک بخش هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
سرب	۲	۱۰۸۵/۴۳۵ **	۸۱۹/۶۷۰ **	۵۵/۶۴۴ **	۲۱۳/۴۴۵ **	۱۷/۲۳۱ **
قارچ	۱	۳۱۹۲/۰۰۵ **	۳۴۱/۹۱۱ **	۲۹/۷۲۲ **	۴۵۳/۶۰۷ **	۱۲/۳۰۱ **
سرب×قارچ	۲	۱۲۸/۴۶۵ **	۱۰/۸۱۰ ns	۰/۱۱۶ ns	۹/۶۹۹ *	۱/۳۴۵ **
خطا	۱۲	۷/۱۹۳	۳/۱۳۰	۰/۵۸۲	۱/۶۰۸	۰/۰۳۱
ضریب تغییرات (%)		۴/۶۲	۷/۱۱	۱۰/۲۱	۸/۵۲	۵/۶۷

ns، \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪.

#### مقدار سرب بخش هوایی و ریشه

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و قارچ میکوریز بر مقدار سرب بخش هوایی و ریشه معنی دار بود (جدول ۳). در بخش هوایی بیشترین مقدار سرب در سطح Pb<sub>2</sub> مشاهده شد و تفاوت بین هر سه سطح معنی دار بود. بیشترین مقدار سرب در ریشه نیز در سطح Pb<sub>1</sub> مشاهده شد ولی تفاوت بین سطوح Pb<sub>1</sub> و Pb<sub>2</sub> معنی دار نبود. همچنین مقدار سرب بخش هوایی در سطح Pb<sub>2</sub> در گیاهان میکوریزی، به طور معنی داری بیش تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود (شکل ۱). مقدار سرب ریشه در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز، به طور معنی داری بیش تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود ولی در سطح Pb<sub>0</sub> تفاوت معنی داری بین گیاهان میکوریزی و شاهد غیرمیکوریزی مشاهده نشد (شکل ۲).



شکل ۱ و ۲: اثر اصلی سطوح سرب (Pb<sub>0</sub>, Pb<sub>1</sub>, Pb<sub>2</sub> به ترتیب صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم سرب بر کیلوگرم خاک) و اثر اصلی گونه قارچی (NM و Ri به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis*) بر مقدار سرب بخش هوایی و ریشه

### فاکتور انتقال سرب از ریشه به بخش هوایی

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و گونه قارچی بر فاکتور انتقال سرب معنی دار بود (جدول ۳). با افزایش غلظت سرب در خاک، فاکتور انتقال کاهش یافت و تفاوت بین سطوح سرب معنی دار بود. در تمام سطوح سرب، تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزی منجر به کاهش معنی دار فاکتور انتقال سرب، نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی شد. فاکتور انتقال سرب در گیاهان میکوریزی ۲۷/۸۱ درصد کم تر از گیاهان غیرمیکوریزی بود.

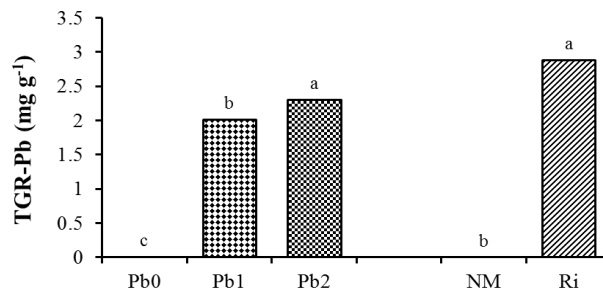
جدول ۳: تجزیه واریانس اثر سطوح سرب و گونه قارچی بر غلظت و مقدار سرب بخش هوایی و ریشه و فاکتور انتقال سرب.

میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	غلظت سرب بخش هوایی	مقدار سرب بخش هوایی	غلظت سرب ریشه	مقدار سرب ریشه	فاکتور انتقال سرب
سرب	۲	۰/۰۴۹ **	۰/۸۰۸ **	۲/۳۹۰ **	۶/۵۸۶ **	۰/۲۷۶ **
قارچ	۱	۰/۰۰۴ **	۰/۰۳۶ **	۰/۱۶۰ **	۵/۷۶۷ **	۰/۰۳۹ **
سرب×قارچ	۲	۰/۰۰۱ **	۰/۰۳۶ **	۰/۰۴۰ **	۱/۵۹۴ **	۰/۰۰۱ **
خطا	۱۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۳۲	۰/۰۰۰
ضرب تغییرات (%)		۴/۹۱	۸/۴۹	۷/۳۲	۱۳/۲۳	۵/۹۰

\*\* معنی دار در سطح ۱٪

### سرب غیرمتحرک شده توسط گلومالین کل ریشه

اثر اصلی و متقابل سطوح سرب و قارچ میکوریز بر مقدار سرب غیرمتحرک شده توسط گلومالین ریشه معنی دار بود. با افزایش غلظت سرب خاک، مقدار سرب غیرمتحرک شده توسط گلومالین ریشه افزایش یافت و تفاوت معنی داری بین هر سه سطح مشاهده شد. همچنین کلونیزاسیون با قارچ Ri در سطوح Pb<sub>1</sub> و Pb<sub>2</sub>، سبب افزایش معنی دار مقدار سرب غیرمتحرک شده توسط گلومالین ریشه شد (شکل ۳).



شکل ۳: اثر اصلی سطوح سرب (Pb<sub>0</sub>, Pb<sub>1</sub>, Pb<sub>2</sub> به ترتیب صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم سرب بر کیلوگرم خاک) و اثر اصلی گونه قارچی (Ri و NM) به ترتیب شاهد غیرمیکوریزی و قارچ *R. irregularis* بر مقدار سرب غیرمتحرک شده توسط گلومالین ریشه (TGR) (میلی گرم سرب در گرم گلومالین)

### نتیجه گیری

ارتفاع گیاهان با افزایش غلظت سرب خاک کاهش یافت. همچنین با افزایش غلظت سرب، کاهش معنی دار در وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه مشاهده گردید. شدت فتوسنتز گیاهان در شرایط آلودگی خاک با سرب کاهش می یابد، که این مسأله می تواند در نتیجه اختلال در انتقال الکترون، ممانعت از فعالیت آنزیم های چرخه کلوین و نیز جابجایی سرب به جای اتم مرکزی کلروفیل (منیزیم) باشد (Sharma and Dubey 2005). پایین بودن مقدار سرب بخش هوایی گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی به این دلیل است که گیاهان میکوریزی دارای ماده خشک زیادی بوده و سرب در آن رقیق شده است (اثر رقت<sup>۴</sup>). دلایل احتمالی دیگر در این ارتباط، نگره داری فلز سنگین در ساختارهای قارچی اعم از وزیکول، آربوسکول و هیف است. همچنین تصور می شود که فلز سنگین توسط گرانول های پلی فسفات تثبیت می شود و یا توسط ترکیبات دیواره قارچ مثل کیتین و ملانین کمپلکس می شود (Vogel et al., 2005). به نظر می رسد گلومالین به دلیل داشتن مکان های فعال جذب به عناصر بالقوه سمی نظیر سرب، متصل شده و می تواند آن را تثبیت کند. گزارش شده که میسلیوم های خارج ریشه ای قارچ های AM قادر به جذب و تجمع سرب هستند. آنان دلایل را این گونه مطرح کردند: ۱- میسلیوم های خارج ریشه ای قارچ های AM خاک های آلوده به سرب، سرب را در مواد موسیلاژی دیواره خارجی هیف ها و همچنین در سیتوپلاسم هیف انباشته می کنند. ۲- تجمع سرب اساساً با آهن موجود در مواد موسیلاژی دیواره خارجی هیف ها در ارتباط است (Gonzalez-Chavez et al., 2004). همچنین مشاهده شد که با افزایش غلظت سرب در خاک تولید گلومالین در خاک و ریشه تیمارهای میکوریزی و غیرمیکوریزی به طور معنی داری کاهش می یابد. در تحقیق حاضر، مقدار سرب غیرمتحرک شده توسط گلومالین ریشه در سطوح Pb<sub>1</sub> و Pb<sub>2</sub>، به ترتیب ۲/۰۲ و ۲/۳۱ میلی گرم بر گرم گلومالین ریشه بود. در این پژوهش استفاده از *R. irregularis* نسبت به شاهد بدون میکوریز، از لحاظ تأثیر بر شاخص های اندازه گیری شده مثبت ارزیابی شد. تلقیح ریشه گیاهان با قارچ میکوریز می تواند تحمل آن ها را به سمیت سرب بهبود بخشد زیرا رشد و عملکرد گیاهان میکوریزی در سطوح سرب متناظر بهتر از گیاهان غیرمیکوریزی بود. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک، در تیمارهای میکوریزی نسبت به تیمارهای غیرمیکوریزی، مقدار سرب غیرمتحرک شده توسط گلومالین افزایش یافت.

### منابع

- طباطبایی، س. ج. ۱۳۹۲. اصول تغذیه معدنی گیاهان. انتشارات دانشگاه تبریز.
- ملکوتی، م. ج. ۱۳۷۹. توصیه بهینه کودی برای محصولات زراعی و باغی. نشریه فنی شماره ۲۰۰، مؤسسه تحقیقات آب و خاک، نشر آموزش کشاورزی.
- Biro I. and Takacs T. 2007. Effects of *Glomus mosseae* strains of different origin on plant macro- and micronutrient uptake in Cd-polluted and unpolluted soils. *Acta Agronomica Hungarica* 55: 183-192.
- Gonzalez-Chavez M.C., Carrillo-Gonzalez R., Wright S.F. and Nichols K.A. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 130: 317-323.

<sup>4</sup> Dilution effect



- Jansa J., Smith F.A. and Sally E. 2008. Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi? *New Phytologist* 177: 779-789.
- Koomen I., McGrath S.P. and Giller K.E. 1990. Mycorrhizal infection of clover is delayed in soils contaminated with heavy metals from past sewage sludge applications. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 871-873.
- Nichols K.A. and Wright S.F. 2006. Carbon and nitrogen in operationally defined soil organic matter pools. *Biology and Fertility of Soils* 43: 215-220.
- Purin S. and Rillig M.C. 2008. Immuno-cytolocalization of glomalin in the mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1000-1003.
- Rillig M.C., Caldwell B.A., Wösten H.A.B. and Sollins P. 2007. Role of proteins in soil carbon and nitrogen storage: controls on persistence. *Biogeochemistry* 85: 25-44.
- Shaabani Z.V., Aliasgharzad N. and Oustan S. 2013. Glomalin production by two glomerular fungi in symbiosis with corn plant under different Pb levels. *International Journal of Agriculture: Research and Review* 3: 854-863.
- Sharma P and Dubey RS, 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 35-52.
- Treseder K.K. and Allen M.F. 2000. Mycorrhizal fungi have a potential role in soil carbon storage under elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen deposition. *New Phytologist* 147: 189-200.
- Vogel-Mikuš K., Drobne D and Regvar M, 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environmental Pollution* 133: 233-242.
- Waling I., Vark W.V., Houba V.J.G. and Vanderlee J.J. 1989. Soil and Plant Analysis, a series of syllabi. Part 7. Plant Analysis Procedures. Wageningen Agriculture University, The Netherland.
- Wright S.F. and Upadhyaya A. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science* 161: 575-586.
- Wright S.F. 2000. A fluorescent antibody assay for hyphae and glomalin from arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 226: 171-177.

#### Stabilization of lead (Pb) in sunflower roots by glomalin produced of *Rhizophagus irregularis*

A.H. Daneshfar<sup>1</sup>, N. Aliasgharzad<sup>2</sup>, S. Oustan<sup>3</sup> and B. khoshru<sup>4</sup>

<sup>1</sup> M.Sc. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Univ. of Tabriz, Iran

<sup>2</sup> Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Univ. of Tabriz, Iran

<sup>3</sup> Prof. of Soil Chemistry, Dept. of Soil Science, Univ. of Tabriz, Iran

<sup>4</sup> PhD Student of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Univ. of Tabriz, Iran

\*Corresponding Author Email: [amirhossein.daneshfar@yahoo.com](mailto:amirhossein.daneshfar@yahoo.com)

#### Abstract

Glomalin as a specific glycoprotein is produced by the fungi belonging to the Glomerales in the phylum Glomeromycota that plays a major role in heavy metals stabilization in soils by making them less available to enter plant roots. In this study, production of the glomalin and the amount of stabilized Pb by this glycoprotein were studied on sunflower (*Helianthus annuus* L. cv. Farrokh Hybrid) inoculated with mycorrhizal fungus, *Rhizophagus irregularis*. Three levels of Pb including 0, 500 and 1000 mg Pb per kg soil (Pb<sub>0</sub>, Pb<sub>1</sub> and Pb<sub>2</sub>, respectively) as lead nitrate were added to the soil. The results showed that with increasing concentration of Pb in soil, the amount of TGR were significantly reduced. Compared to the zero addition of Pb, the TGR was reduced by 28.91% and 38.77% at Pb<sub>1</sub> and Pb<sub>2</sub> levels, respectively. The amounts of Pb immobilized by TGR at Pb<sub>1</sub> and Pb<sub>2</sub> levels were 4.034 and 4.614 mg g<sup>-1</sup> in mycorrhizal roots, respectively.

**Key Words:** Glomalin, *Rhizophagus irregularis*, lead, sunflower, immobilization