

## Effect of some symbiotic fungi and iron nanoparticles on morphological and physiological traits of purslane (*Portulaca oleracea* L.) under cadmium stress

Zahra Nouri Akandi<sup>1</sup>, Hassan Makarian<sup>2\*</sup>, Hemmatollah Pirdashti<sup>3</sup>, Mohammad Reza Amerian<sup>4</sup>, Mehdi Baradaran Firozabadi<sup>5</sup>, Mohammad Ali Tajik Ghanbary<sup>6</sup>

1- Ph.D. Student of Agronomy - Crop Ecology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. Noori11zahra@gmail.com

2- Corresponding Author and Associate Professor of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. h.makarian@shahroodut.ac.ir

3- Professor, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. h.pirdashti@sanru.ac.ir

4- Associate Professor of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. amerianuk@yahoo.co.uk

5- Associate Professor of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. m.baradaran.f@gmail.com

6- Associate Professor, Department of Plant protection, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. m.tajik@gmail.com

Received Date: 2020/01/30

Accepted Date: 2020/05/31

### Abstract

**Introduction:** Nowadays, the soil contamination by heavy metals including cadmium (Cd) is one of the environmental problems which not only damage the animal and plant species but also diminish plant function, enters the food chain and endanger human health and other organisms (Sheoran et al., 2016). Phytoremediation is one of the most important methods that have been developed in the last two decades to address soil contamination, including heavy metals in various countries where planting of suitable plants is used to clean and absorb pollutants from the soil (Shahgholi et al., 2012). On the other hand, many studies have shown that the use of beneficial microorganisms such as fungi can significantly reduce the toxicity of heavy metals by bonding metals to their cell walls and consequently their immobilization (Akhtar et al., 2007). The aim of the research was to investigate the effect of application of some symbiotic fungi and iron nanoparticles on morphological and physiological traits of purslane (*Portulaca oleracea* L.) under cadmium stress.

**Material and methods:** The factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. The experimental factors included cadmium chloride in four levels (0, 25, 50 and 75 mg/kg soil from cadmium chloride source), four levels of fungal symbiosis (uninoculated and inoculated with fungi *Chaetomium subaffine* (SF), *Trichoderma atroviride* (SN) and *Trichoderma longibrachiatum*) and foliar spraying of iron nanoparticles in three levels (0, 0.15 and 0.3 g/l).

**Results and discussion:** The results showed that the plant height and stem diameter linearly decreased (with 69.6 and 56.6%, respectively) when the cadmium levels increased. Leaf area increased at zero cadmium level in plants inoculated with *T. longibrachiatum*, 18.4% as compared to the uninoculated control. When 25 mg/kg of Cd was added to the soil, purslane plants which inoculated with *Chaetomium subaffine* (SF) showed 11.4% more leaf area than those uninoculated plants. At all foliar concentrations of iron nanoparticles, the highest content of chlorophyll *a+b* was obtained at 25 mg/kg soil cadmium.

**Conclusions:** Overall, the interaction of symbiotic fungi and foliar spraying of iron nanoparticles (especially at a concentration of 0.15 g/l) showed a synergistic effect, hence some growth parameters and chlorophyll concentrations markedly increased in the purslane plants.

**Keywords:** Stress, Phytoremediation, Heavy metals, Nanoparticles.

## تأثیر برخی قارچ‌های همزیست و نانوذرات آهن بر پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) تحت تنش کادمیوم

زهرا نوری آکندی<sup>۱</sup>، حسن مکاریان<sup>۲\*</sup>، همت‌اله پیردشتی<sup>۳</sup>، محمدرضا عامریان<sup>۴</sup>، مهدی برادران فیروزآبادی<sup>۵</sup>، محمدعلی تاجیک قنبری<sup>۶</sup>  
۱- دانشجوی دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران  
Nooril1zahra@gmail.com  
۲- نویسنده مسئول و دانشیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران  
h.makarian@shahroodut.ac.ir  
۳- استاد گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران  
h.pirdashti@sanru.ac.ir  
۴- دانشیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران  
amerianuk@yahoo.co.uk  
۵- دانشیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران  
m.baradaran.f@gmail.com  
۶- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران  
m.tajick@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۰

### چکیده

امروزه آلودگی خاک به انواع فلزات سنگین مانند کادمیوم یکی از مشکلات زیست محیطی است که با اثرات زیان‌آور بر گونه‌های جانوری و گیاهی خاک، علاوه بر کاهش عملکرد گیاه، با ورود به زنجیره غذایی سلامت انسان و دیگر موجودات زنده را به مخاطره می‌اندازد. یکی از روش‌های پاک‌سازی خاک‌های آلوده به عناصر سنگین روش گیاه پالایی یعنی کشت گیاهان بیش‌انباشتگر در این نوع خاک‌ها می‌باشد از طرفی همزیستی قارچ‌ها با ریشه‌ی گیاهان کارایی گیاهان همزیست را در پالایش خاک‌های آلوده افزایش می‌دهد. به این منظور آزمایشی جهت بررسی تأثیر کاربرد برخی قارچ‌های همزیست و نانوذرات آهن بر پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) تحت تنش کادمیوم، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح عنصر کادمیوم (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع کلرید کادمیوم)، تیمار همزیستی قارچی در چهار سطح (عدم تلقیح و تلقیح با قارچ‌های *Chaetomium subaffine* (SF)، *Trichoderma atroviride* (SN) و *Trichoderma longibrachiatum*) و محلول‌پاشی نانوذرات آهن در سه سطح (صفر، ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر) بودند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت کادمیوم خاک روند پاسخ ارتفاع بوته و قطر ساقه به صورت خطی و کاهشی (به ترتیب با ۶/۶۹ و ۶/۵۶ درصد نسبت به سطح شاهد) بود. در سطح صفر کادمیوم میزان سطح برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* ۴/۱۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت. در سطح ۲۵ کادمیوم نیز افزایش ۴/۱۱ درصدی در گیاهان تلقیح شده با قارچ *C. subaffine* (SF) مشاهده شد. بیشترین محتوای کلروفیل  $a+b$  در تمامی غلظت‌های محلول‌پاشی نانوذرات آهن، در سطح ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به دست آمد. در مجموع، برهمکنش قارچ‌های همزیست و محلول‌پاشی نانوذرات آهن (به ویژه در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر) اثر هم‌افزایی داشته و با تشدید اثرات مثبت یکدیگر باعث بهبود برخی از پارامترهای رشدی و غلظت کلروفیل در گیاه خرفه شد.

**کلمات کلیدی:** تنش، گیاه‌پالایی، فلزات سنگین، نانوذرات.

## مقدمه

آلودگی خاک با فلزات سمی از جمله کادمیوم، سرب، روی، نیکل و مس در چندین دهه گذشته به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است. این آلودگی بر اثر انتشار زباله‌های شهری و صنعتی تولید شده توسط انسان به یک چالش جهانی و نگرانی مهم زیست‌محیطی برای منابع آب، خاک و همچنین سلامت انسان تبدیل شده است (Sheoran et al., 2016). در بین فلزات سنگین، کادمیوم (Cd) یکی از سمی‌ترین عناصر است که هیچ گونه نقش زیستی ندارد و به دلیل قدرت تحرک بالا در خاک و توانایی ایجاد مسمومیت شدید در موجودات زنده، حتی در غلظت‌های پایین، بسیار حائز اهمیت است (آقابابایی و همکاران، ۱۳۹۲). کادمیوم در فضای آپولاسمی، روی سطح دیواره سلول یا غشاء پلاسمایی ریشه تجمع می‌یابد (Lukacov et al., 2013). این تجمع در نهایت با اختلال در جذب عناصر غذایی ریشه باعث کاهش قابل توجه رشد این اندام می‌شود. به دنبال کاهش انتقال مواد به برگ‌ها و در نتیجه کاهش سرعت تعرق، ساختار فضایی اندام‌ها و رفتار آنزیم‌های کلیدی مسیرهای متابولیک دچار تغییر می‌شوند (Suzuki et al., 2017).

گیاه‌پالایی (Phytoremediation) یکی از مهم‌ترین روش‌ها و فناوری‌هایی است که طی دو دهه‌ی اخیر برای رفع مشکل آلودگی خاک از جمله فلزات سنگین در کشورهای مختلف گسترش یافت. در این فرایند از کشت گیاهان مناسب در جهت پاک‌سازی و جذب و خارج ساختن آلاینده‌ها از خاک استفاده می‌شود (شهقلی و همکاران، ۱۳۹۱). از طرفی مطالعات زیادی نشان داده‌اند که کاربرد ریزجانداران مفید از جمله قارچ‌ها می‌تواند به طور معنی‌داری سمیت فلزات سنگین را از طریق ایجاد پیوند فلزات با دیواره سلولی شان و در نتیجه غیرمتحرک شدن آن‌ها کاهش دهد، بنابراین جهت پاک‌سازی شیمیایی

خاک از کارآیی مطلوبی برخوردارند (Akhtar et al., 2007). بسیاری از قارچ‌ها توانایی رشد در خاک‌های آلوده را به صورت همزیست با ریشه گیاه دارند. قارچ‌های همزیست سطح ریشه گیاهان، در بافت اپیدرمی پوست ریشه استقرار یافته و شبکه‌ی در هم تنیده‌ی ریشه‌ای تولید می‌نمایند، که محل اصلی تبادل مواد بین قارچ و گیاه همزیست است (Hryniewicz et al., 2012). مهم‌ترین سازوکار بازدارنده از ورود فلزات سنگین به داخل گیاه میزبان توسط این قارچ‌ها جذب آن‌ها به وسیله‌ی پوشش ریشه‌ای و کاهش دستیابی آپولاست، به دلیل آب‌گریز 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 آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش یافته و از این طریق به حفاظت ریشه گیاهان کمک می‌کند (صدری و قرچه، ۱۳۹۲). در این میان گونه‌های قارچ *تریکودرما* (*Trichoderma spp.*) نیز که به طور معمول در همه‌ی خاک‌ها و در اطراف و درون ریشه گیاهان حضور دارند و جزء متداول‌ترین قارچ‌های قابل کشت هستند از اهمیت خاصی برخوردارند، به طوری که امروزه به عنوان اصلاح‌کننده‌های خاک در سطح تجاری تولید می‌شوند (Sun et al., 2010). این قارچ‌ها با کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای خاکزی، تولید هورمون‌های رشد، قابل حل کردن عناصر نامحلول، افزایش جذب و انتقال عناصر غذایی، دفع مسمومیت و افزایش انتقال قند و اسید آمینه در ریشه گیاهان، ایجاد مقاومت القایی در برابر تنش‌های محیطی سبب افزایش رشد و نمو گیاهان می‌شوند (Mazhabi et al., 2011). در همین زمینه پژوهش‌ها بیانگر این است که تلقیح گیاه با گونه‌های *تریکودرما* می‌تواند شرایط را برای پالایش خاک‌هایی با آلودگی‌های متعدد، افزایش رشد و نمو گیاهان و بهبود حاصلخیزی خاک فراهم آورد (تقوی قاسمی و همکاران، ۱۳۹۳). Wang و همکاران (2009)

محلول‌پاشی نانوآکسید آهن، سبب افزایش میزان رنگدانه‌ها، جذب عناصر کانی و در نهایت افزایش عملکرد دانه در گیاه کنجد گردید.

خرغه با نام علمی *Portulaca oleracea L.* گیاهی یکساله، چهار کرپنه از خانواده Portulacaceae می‌باشد. این گیاه منبع غنی از اسیدهای چرب امگا ۳ (اسید-لینولنیک) و امگا ۶ (اسید-لینولنیک) 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 در نتیجه از بیماری‌های قلبی عروقی، جلوگیری کرده و این گیاه را به یک سبزی بسیار عالی در رژیم غذایی انسان تبدیل می‌کند (حسین‌زاده و همکاران، ۱۳۹۸). علاوه بر این، خرغه از نقطه نظر فیزیولوژیک 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 (Tiwari et al, 2008). امروزه برای حل معضل اثرات سمی عناصر سنگین در خاک از روش‌های بیولوژیک مثل گیاه‌پالایی و همزیستی ریشه با ریزجاندران و پتانسیل نانوذرات استفاده می‌کنند اما تاکنون در زمینه کاربرد همزمان قارچ‌های همزیست و نانوذرات آهن پژوهشی صورت نگرفته است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی کارایی نانوذرات آهن و برخی قارچ‌های همزیست بر پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی خرغه تحت تنش کادمیوم در نظر گرفته شد.

### مواد و روش‌ها

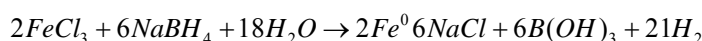
این پژوهش در سال ۱۳۹۷ در پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار

گزارش کردند که گونه‌های قارچی تریکودرما، توانایی همزیستی غیربیماریزایی با گیاه را دارند و قادر به جذب عناصر سنگین هستند. تقوی قاسمخیلی و همکاران (۱۳۹۴) نیز نشان دادند حضور تریکودرما در گیاه گندم، تجمع کادمیوم در اندام هوایی و ضریب انتقال را به ترتیب ۳۰ و ۲۳ درصد کاهش داد. در تیمار عدم حضور تریکودرما، افزایش کادمیوم تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش فاکتور انتقال و غلظت‌های بالاتر افزایش آن را به همراه داشت.

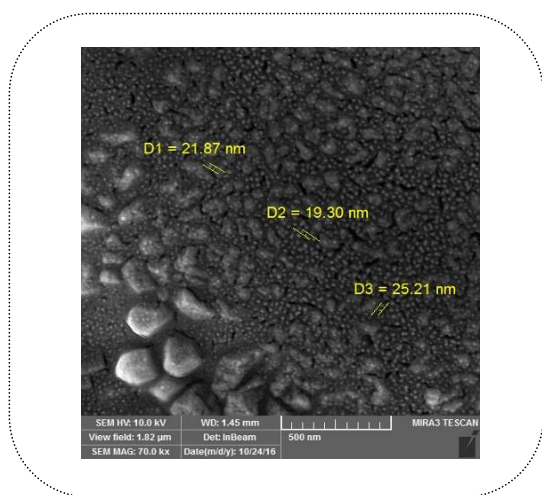
فلزات سنگین قابلیت دسترسی و جذب آهن را نیز در آپوپلاست ریشه، جذب به درون سلول‌های ریشه و انتقال به بخش‌های هوایی را کاهش می‌دهند و سبب می‌شوند آهن کمتری در اختیار برگ‌ها قرار گیرد. در وضعیت کمبود آهن، جذب و تجمع فلزات سنگین در گیاه افزایش می‌یابد (تقوی و همکاران، ۱۳۹۳). آهن یک جزء تشکیل دهنده آنزیم‌های انتقال‌دهنده الکترون است که در فتوسنتز و تنفس میتوکندری‌ها فعال بوده و بر مقادیر کلروفیل اثر می‌گذارد (کوچکی و سرمدنیا، ۱۳۹۲). 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 (Naderi et al., 2013). Konate و همکاران (2017) نشان دادند که تجمع کادمیوم، مهار رشد ریشه و تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های خیار و گندم با افزودن نانوذرات آهن به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. در آزمایش حیدری و همکاران (۱۳۹۴) نیز مشخص شد که در سطوح بالای تنش،

۱۳۹۸). این قارچ‌ها در محیط کشت PDA (عصاره سیب‌زمینی و دکستروز) 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  $10^8$  واحد کلونی ساز در میلی‌لیتر (CFU/ml) تهیه شد (یعقوبیان، ۱۳۹۴). نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده با اسید آسکوربیک (AAS - ZVIN) در دمای محیط از طریق احیای کلرید آهن  $(FeCl_3)$  توسط سدیم بورهیدرات  $(NaBH_4)$  بر اساس رابطه ۱ سنتز شد (Savasari et al, 2015; Huang et al, 2014; Zhang et al, 2011).

انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح عنصر کادمیوم (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع کلرید کادمیوم)، تیمار همزیستی قارچی در چهار سطح (عدم تلقیح و تلقیح با قارچ‌های *Chaetomium* و *Trichoderma atroviride* (SN) *subaffine* (SF) و *Trichoderma longibrachiatum*) و تیمار نانوذرات آهن در سه سطح (صفر، ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم در لیتر) بودند. قارچ‌های *Chaetomium subaffine* (SF) و *Trichoderma atroviride* (SN) از ریشه گیاهان اناریجه (*Froriepia*) و *Nasturtium officinale* (subpinnata L.) و علف چشمه (L.) در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری جداسازی گردید (نوری آکندی و همکاران،



رابطه ۱



شکل ۱. اندازه نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده با

دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

Figure 1. Size of zero-capacity iron nanoparticles stabilized with scanning electron microscopy (SEM)

خاک مورد نظر برای آزمایش از عمق ۳۰ - ۰ سانتی‌متری خاک مزرعه پژوهشی دانشگاه برداشت و به نسبت پنج به یک با ماسه مخلوط و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس خاک به چهار قسمت مساوی تقسیم

در ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول، شامل مخلوط ۰/۱۶ مولار سدیم بورهیدرات و ۰/۱ مولار سود (NaOH) در آب دی‌یونیزه آماده شد. سپس به‌طور جداگانه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول (۳۰ میلی‌لیتر اتانول و ۷۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه) حاوی مخلوط ۰/۱ مولار اسید آسکوربیک و کلرید آهن ۰/۱ مولار تهیه و در مرحله بعد سدیم بورهیدرات 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 صفر ظرفیتی پایدار شده محلول به‌صورت 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. به منظور تعیین اندازه نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده نیز از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده گردید (شکل ۱) (کاشانی و همکاران، ۱۳۹۸).

در دو مرحله به فاصله زمانی هفت روز یکبار انجام شد. ده روز پس از اتمام دوره‌ی محلول‌پاشی نمونه برداری انجام و صفات مورفولوژیک از جمله ارتفاع بوته با خط‌کش، قطر ساقه با کولیس دیجیتالی، سطح برگ با نرم‌افزار Digimizer و صفات فیزیولوژیک از جمله محتوای کلروفیل و کاروتنوئید، نشت الکترولیت، محتوای نسبی آب برگ و شاخص سبزی‌نگی برگ با کلروفیل‌متر (SPAD-502, Minolta, Japan) اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ شش عدد پانچ از برگ‌های گیاه برداشته و در هشت میلی‌لیتر متانول غوطه‌ور شده در تاریکی و دمای اتاق قرار گرفتند. پس از گذشت ۲۴ ساعت 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 شد. میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید بر اساس رابطه‌های ۲، ۳ و ۴ محاسبه شدند (Porra, 2002).

$$C_a (\mu\text{g} / \text{ml}) = 16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4} \quad \text{رابطه ۲}$$

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

$$\text{Carotenoid} (\mu\text{g} / \text{ml}) = (1000 A_{470} - 1.63 C_a - 104.96 C_b) / 221 \quad \text{رابطه ۴}$$

weight): وزن آماس برگ است. به منظور اندازه‌گیری نشت الکترولیت نمونه‌ی برگ‌ی در لوله‌های آزمایش حاوی ده میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (CON 410) اندازه‌گیری شد (EL<sub>1</sub>). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش در دستگاه بن ماری با دمای ۹۰ درجه و به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (EL<sub>2</sub>). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از رابطه ۶

و مقادیر مورد نظر کادمیوم (از منبع CdCl<sub>2</sub>. 5H<sub>2</sub>O) به آن اضافه شد تا غلظت کادمیوم در خاک آزمایش به مقادیر مورد نظر برسد. بذره‌های خرفه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸±۱ 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 ده بذر گیاه خرفه کاشته شد (یعقوبیان، ۱۳۹۴). بذور پس از سبز شدن تنک شده و به پنج بوته در گلدان کاهش یافت. گلدان‌ها در گلخانه و در شرایط نور طبیعی (در حدود ۲۵۰۰۰ لوکس) و دمای (۲۸ ± ۲) و رطوبت مطلوب (در حد ۶۵ الی ۷۵ درصد) برای گیاه قرار گرفته و به‌صورت روزانه آبیاری شدند. اولین محلول پاشی نانوذرات آهن در مرحله‌ی هشت برگی صورت گرفت که

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ یک برگ از برگ‌های انتهایی گیاه برداشت و بلافاصله توزین و به لوله‌های آزمایش حاوی آب مقطر منتقل و بعد از ۲۴ ساعت وزن آماس برگ‌ها تعیین شد. سپس نمونه‌های برگ‌ی در آن در دمای ۷۲ درجه و به مدت ۴۸ ساعت خشک و محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها با استفاده از رابطه ۵ به‌دست آمد (Schonfeld et al, 1988).

$$\%RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad \text{رابطه ۵}$$

که در این رابطه: FW (Fresh weight): وزن تر برگ، DW (Dry weight): وزن خشک برگ و TW (Turgid

محاسبه شد (Lutts et al, 1995).

$$\text{رابطه ۶} \quad \text{نشت الکترونیک} = \frac{EL_1}{EL_2} \times 100$$

که در این رابطه:  $EL_1$  (Electrolyte leakage 1): نشت الکترولیت اولیه و  $EL_2$  (Electrolyte leakage 2): نشت الکترولیت ثانویه است.

در نهایت داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و جهت کمی‌سازی روند تغییرات صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک از تجزیه رگرسیونی و برازش معادلات خطی (رابطه ۷) و دو تکه‌ای (رابطه ۸) پیشنهاد شده توسط سلطانی و همکاران (Soltani et al, 2006) استفاده شد.

$$\text{رابطه ۷} \quad y = b_1x + a$$

$$\text{رابطه ۸} \quad y = b_1x + a \quad \text{if } x \leq x_0$$

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

که در آن،  $y$  مقدار پیش‌بینی شده برای صفات مورد نظر،  $a$  مقدار ثابت در غلظت صفر تیمار مورد نظر،  $x$  غلظت تیمار،  $x_0$  نقطه چرخش بین دو فاز معادله و  $b_1$  و  $b_2$  شیب تغییرات صفات (کاهشی یا افزایشی) به ترتیب در فاز یک و دو معادله هستند. رسم منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد. برای صفاتی که اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار شد از روش برش‌دهی (مجموع مربعات سطوح یک عامل در هر سطح عامل دیگر) برای تجزیه واریانس استفاده گردید. برای صفاتی که اثر متقابل بر روی آن‌ها معنی‌دار نبود تنها به مقایسه میانگین سطوح فاکتوری که معنی‌دار بود، اکتفا شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که اثر ساده کادمیوم بر تمامی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک مورد بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار

بود. اثر ساده قارچ بر ارتفاع بوته و محتوای نسبی آب برگ در سطح یک درصد و بر میزان قطر ساقه و سطح برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود اما بر میزان نشت الکترولیت تأثیر معنی‌داری نداشت. اثر ساده نانوذرات آهن بر ارتفاع بوته و نشت الکترولیت در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر معنی‌داری بر پارامتر قطر ساقه، سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ نداشت. بین کادمیوم و قارچ در پارامتر 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 و فیزیولوژیک مورد بررسی برهمکنش معنی‌داری مشاهده نشد. اثر متقابل سه گانه کادمیوم، قارچ و نانوذرات آهن بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). برش‌دهی اثرات متقابل قارچ و نانوذرات آهن در هر سطح کادمیوم نشان داد که در سطح ۷۵ کادمیوم، برهمکنش قارچ و نانوذرات آهن بر پارامتر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود در حالی که در سطوح دیگر کادمیوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴).

آنالیز رگرسیون داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که روند پاسخ ارتفاع بوته به سطوح مختلف کادمیوم خاک و محلول‌پاشی نانوذرات آهن به صورت خطی و به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۳ و ۰/۹۸ بیان شد. با افزایش میزان کادمیوم خاک ارتفاع بوته با شیب ۰/۲۸ واحد و به میزان ۶۹/۶ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۲-الف). در مقایسه، ارتفاع بوته در گیاه خرفه تحت تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات آهن افزایش یافت، میزان این افزایش نسبت به عدم محلول‌پاشی ۷/۸ درصد بود (شکل ۲-ب). روند پاسخ قطر ساقه به افزایش کادمیوم به صورت خطی و با ضریب تبیین ۰/۹۷۸ نشان داده شد به طوری که با افزایش کادمیوم خاک قطر ساقه (با شیب ۰/۰۳۹ واحد) به میزان ۵۶/۶ درصد نسبت به سطح شاهد

کاهش یافت (شکل ۵). 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 (Liamas et al., 2000). این یافته‌ها با نتایج یعقوبیان و همکاران (۱۳۹۵) در گیاه بادرنجبویه، Aydinalp و Marinova (2009) در گیاه یونجه و فلاح و سلطانی نژاد (۱۳۹۵) در گیاه خرفه همخوانی داشت.

جدول ۱. میانگین مربعات اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک خرفه

Table 1. Mean squares effect of experimental treatments on morphological and physiological traits of purslane

Source of variation	df	Plan height	Shoot Diameter	Leaf area	Electrolyte leakage	Relative (RWC) water content
(A) Cadmium	3	3327.80 **	59.05 **	12270.69 **	551.24 **	1017.87 **
(B) Fungi	3	56.71 **	0.642 *	127.44 *	25.58 ns	188.89 **
(C) Iron nanoparticles	2	26.34 **	0.197 ns	17.003 ns	97.75 **	47.49 ns
A×B	9	7.52 ns	0.261 ns	91.71 *	9.46 ns	16.05 ns
A×C	6	2.92 ns	0.286 ns	23.53 ns	40.03 ns	44.34 ns
B×C	6	8.20 ns	0.281 ns	75.21 ns	15.18 ns	35.19 ns
A×B×C	18	5.60 ns	0.140 ns	65.38 ns	15.10 ns	63.43 *
Error	96	4.93	0.236	45.81	41.19	33.33
CV%		12.20	13.98	17.16	13.45	9.76

ns, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, \* and \*\*: Non significant and Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

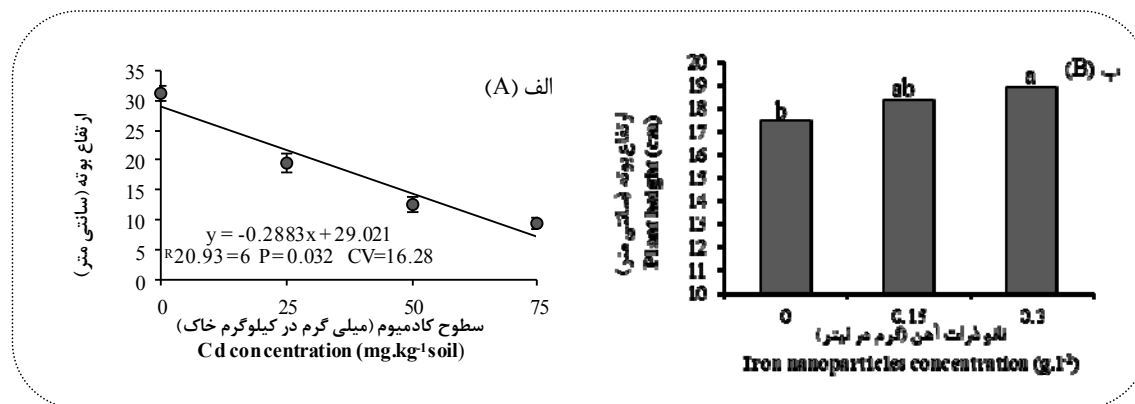
۴). ریزجانداران خاک، از جمله قارچ‌های اندوفیت، با برقراری روابط همیاری و همزیستی در تعامل با گیاهان بوده و با انجام فعالیت‌هایی نظیر تولید انواع بیشمار از متابولیت‌ها، تجزیه ترکیبات مختلف آلی، تثبیت نیتروژن جوی، تولید مواد افزاینده رشد گیاه و افزایش قابلیت فراهمی عناصر غذایی معدنی برای گیاه به ویژه در شرایط تنش، سبب بهبود رشد گیاه می‌گردند (Oelmüller et al., 2009). Feng و همکاران (2002) نیز بیان کردند که قارچ‌های همزیست به صورت مستقیم همانند بهبود تغذیه

بیشترین میزان ارتفاع بوته در گیاهان همزیست شده با قارچ‌های *T. longibrachiatum* و *T. atroviride* (SN) مشاهده شد اما تفاوت معنی‌داری بین گیاهان تلقیح شده با قارچ *Chaetomium subaffine* (SF) و شاهد وجود نداشت (شکل ۳). 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 میزان ۸/۸ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد به گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN) تعلق داشت (شکل



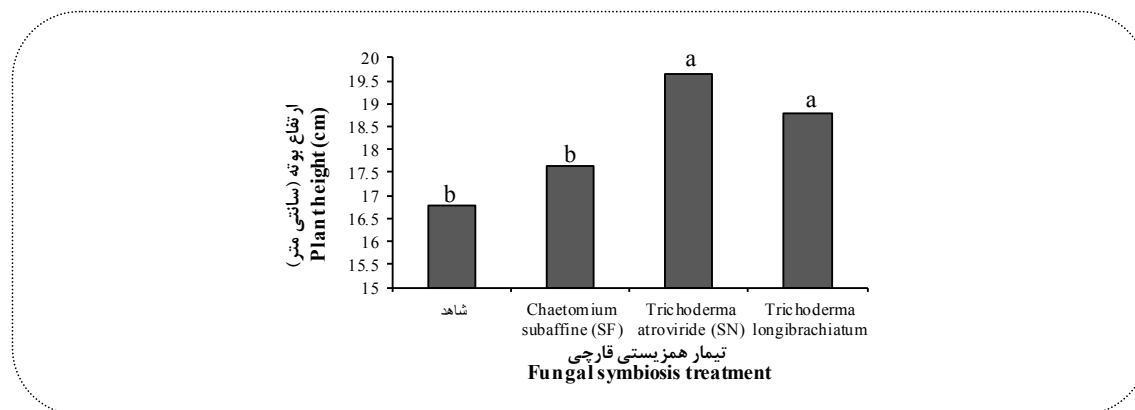
خاک هم در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *T. atroviride* (SN) و *T. longibrachiatum* (به ترتیب با ۹/۸ و ۱۶/۶ درصد افزایش نسبت به گیاهان شاهد) بود. افزایش سطح برگ در گیاهان تلقیح شده احتمالاً به دلیل تحریک ریشه‌زایی و افزایش قدرت جذب مواد غذایی توسط گیاه در حضور قارچ باشد (محمدی کشکا و همکاران، ۱۳۹۵). اصلانی و همکاران (۱۳۹۰) افزایش معنی‌دار سطح برگ در گیاهان ریحان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی را به افزایش جذب عناصر غذایی نسبت دادند. Demir (2004) نیز عنوان کرد که همزیستی با قارچ *Glomus intraradices* در گیاه فلفل سبب افزایش نسبت سطح برگ و میزان آبیگری برگ‌ها شد.

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. برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و تیمار همزیستی قارچی در گیاه خرفه نشان داد (شکل ۲) 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* ۱۸/۴ درصد نسبت به گیاهان شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت. در سطح ۲۵ کادمیوم نیز افزایش ۱۱/۴ درصدی در گیاهان تلقیح شده با قارچ *Chaetomium subaffine* (SF) مشاهده شد. بیشترین میزان سطح برگ در غلظت ۵۰ و ۷۵ کادمیوم



شکل ۲. روند پاسخ ارتفاع بوته گیاه خرفه به سطوح مختلف کادمیوم خاک (الف) و نانوذرات آهن (ب)

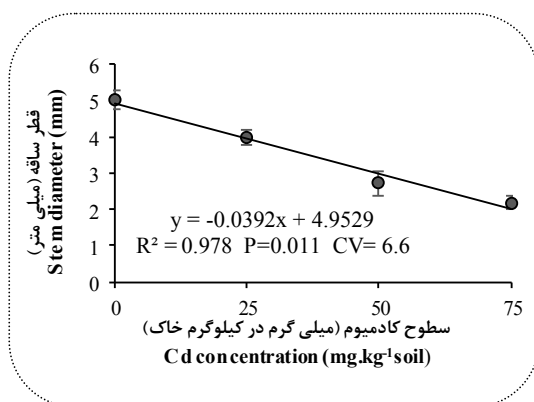
Figure 2. Response of purslane plant height to different levels of soil cadmium (A) and iron nanoparticles (B)



شکل ۳. اثر همزیستی قارچی بر ارتفاع بوته در گیاه خرفه.

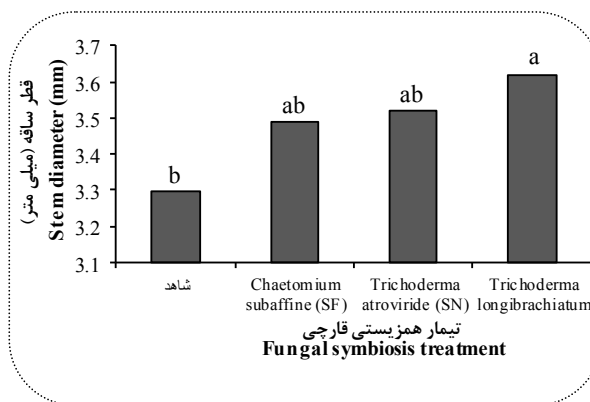
Figure 3. Effect of fungal symbiosis on plant height in purslane

ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. Columns with similar letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability



شکل ۵. روند پاسخ قطر ساقه گیاه خرفه به سطوح مختلف کادمیوم

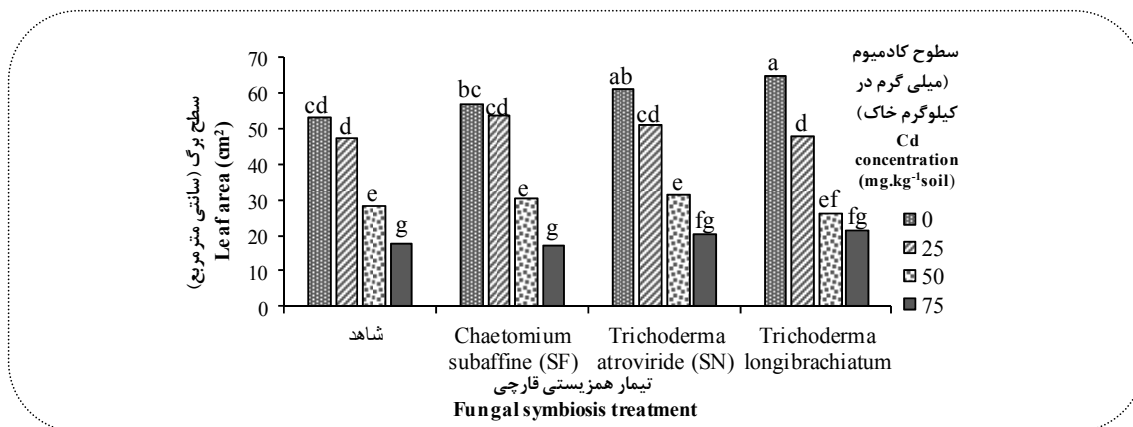
Figure 5. Response of stem diameter of purslane to different levels of cadmium



شکل ۴. اثر همزیستی قارچی بر قطر ساقه در گیاه خرفه

Figure 4. Effect of fungal symbiosis on stem diameter on purslane

ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. Columns with similar letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability.



شکل ۶. برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و همزیستی قارچی بر میزان سطح برگ گیاه خرفه.

Figure 6. Interaction of soil cadmium levels and fungal symbiosis on leaf area of purslane

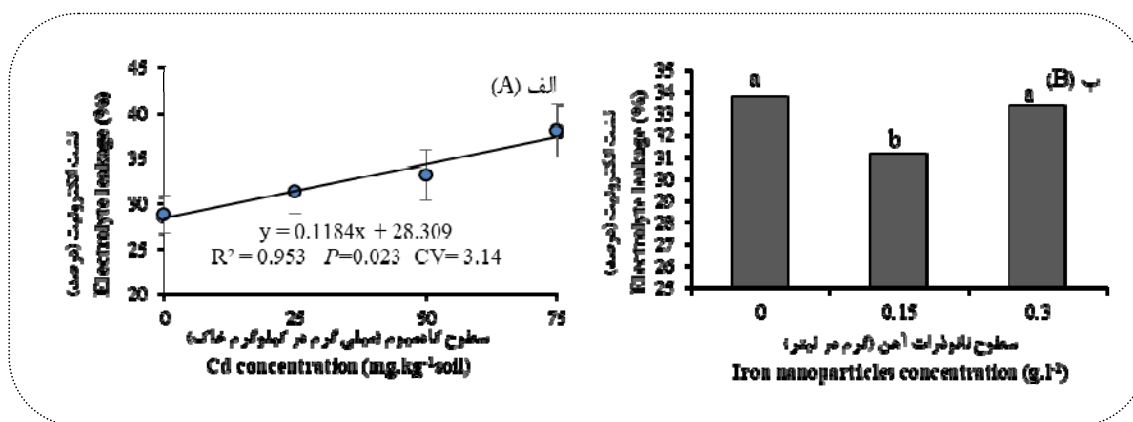
ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. Columns with similar letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability.

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. محلول‌پاشی

پاسخ نشت الکترولیت به سطوح کادمیوم خاک به صورت خطی (با ضریب تبیین ۰/۹۵۳) بود. با افزایش غلظت کادمیوم خاک نشت الکترولیت با شیب ۰/۱۱۸ واحد و به میزان ۲۴/۴ درصد نسبت به سطح شاهد افزایش یافت (شکل ۷- الف). کادمیوم همانند فلزات سنگین دیگر با اثر بر پیوندهای محتوی نیتروژن و گوگرد پروتئین‌ها موجب تخریب کانال‌های غشایی و نشت یون‌ها می‌شود

تعدیل رادیکال‌های آزاد و اثرات تخریبی آن‌ها در سیستم‌های غشایی نقش مهمی را ایفا می‌کند، بنابراین به نظر می‌رسد محلول‌پاشی نانوذرات آهن با افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش، از طریق افزایش تولید آنزیم‌های حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد، باعث گردید گیاه دیرتر با شرایط تنش مواجه شود و در نتیجه درصد نشت کمتری داشته باشد.

نانوذرات آهن در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر سبب کاهش شش درصدی میزان نشت الکترولیت نسبت به سطح شاهد (عدم محلول‌پاشی) گردید. در سطح ۰/۳ گرم در لیتر میزان نشت الکترولیت نسبت به غلظت ۰/۱۵، ۵/۴ درصد افزایش اما نسبت به سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۷-ب). Zago و Oteiza (2001) اظهار داشته‌اند عنصر آهن از طریق افزایش فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان در



شکل ۷. روند پاسخ نشت الکترولیت گیاه خرفه به سطوح مختلف کادمیوم خاک (الف) و نانوذرات آهن (ب)  
**Figure 7. Electrolyte leakage response to different levels of soil cadmium (A) and iron nanoparticles (B) in purslane**  
 ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.  
 Columns with similar letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability.

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 چوب‌پنبه‌ای شدن و لیگنینی شدن ریشه و جلوگیری از تولید ریشه‌های موئین موجب ایجاد اختلال در جذب آب و به هم ریختن تعادل آبی در گیاه می‌گردد (Barcelo and Poschenriedr, 1990). به نظر می‌رسد که قارچ‌های همزیست احتمالاً از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و طول 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 می‌گردد. (Auge, 2015).

بر اساس یافته‌های حاصل از اثرات سه‌گانه تیمارهای آزمایشی (جدول ۲)، 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 محلول‌پاشی نانوذرات آهن مشاهده شد. در سطح ۲۵ و ۵۰ کادمیوم، محتوای نسبی آب برگ در حضور قارچ *Trichoderma atroviride* (SN) به ترتیب ۱۱/۳ و ۱۶ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و عدم محلول‌پاشی) افزایش یافت. همچنین تلقیح قارچ *Chaetomium subaffine* (SF) سبب افزایش ۲۳/۸ درصدی محتوای نسبی آب برگ نسبت به گیاهان شاهد در غلظت ۷۵ کادمیوم گردید. سمیت

جدول ۲. تأثیر برهمکنش تنش کادمیوم، همزیستی قارچی و محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای نسبی آب برگ گیاه خرفه  
**Table 2. Interaction effect of cadmium stress, fungal symbiosis and foliar spraying of iron nanoparticles on relative water content of leaves in purslane plant**

Cd concentration (mg.kg-1soil)	Iron nanoparticles (g.l-1)	Fungal Symbiosis			
		Control	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN)	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>
0	0	58.82 <sup>bc</sup>	65.63 <sup>abc</sup>	67.99 <sup>ab</sup>	56.70 <sup>c</sup>
	0.15	60.41 <sup>bc</sup>	67.55 <sup>abc</sup>	67.29 <sup>abc</sup>	74.42 <sup>a</sup>
	0.3	61.24 <sup>bc</sup>	65.56 <sup>abc</sup>	66.76 <sup>abc</sup>	67.83 <sup>ab</sup>
25	0	58.21 <sup>ab</sup>	62.06 <sup>ab</sup>	60.95 <sup>ab</sup>	58.09 <sup>ab</sup>
	0.15	57.42 <sup>b</sup>	62.92 <sup>ab</sup>	63.05 <sup>ab</sup>	62.42 <sup>ab</sup>
	0.3	60.50 <sup>ab</sup>	62.37 <sup>ab</sup>	65.60 <sup>a</sup>	58.64 <sup>ab</sup>
50	0	54.95 <sup>bc</sup>	59.80 <sup>abc</sup>	59.87 <sup>abc</sup>	59.77 <sup>abc</sup>
	0.15	51.73 <sup>c</sup>	63.03 <sup>ab</sup>	65.44 <sup>a</sup>	56.96 <sup>abc</sup>
	0.3	59.14 <sup>abc</sup>	57.48 <sup>abc</sup>	52.70 <sup>c</sup>	55.15 <sup>bc</sup>
75	0	48.87 <sup>bc</sup>	64.12 <sup>a</sup>	51.67 <sup>bc</sup>	52.58 <sup>bc</sup>
	0.15	56.18 <sup>ab</sup>	48.86 <sup>bc</sup>	53.57 <sup>ab</sup>	52.46 <sup>bc</sup>
	0.3	42.52 <sup>c</sup>	51.63 <sup>bc</sup>	50.01 <sup>bc</sup>	56.31 <sup>ab</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.  
 In each cadmium level, the means with the same letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability.

شاخص سبزیگی برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بین قارچ و نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل  $a$ ،  $a+b$  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  $a$  و شاخص سبزیگی برگ در سطح احتمال پنج درصد و بر نسبت کلروفیل  $a/b$  و کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). برش‌دهی اثرات متقابل قارچ و نانوذرات آهن در هر سطح کادمیوم نشان داد که برهمکنش قارچ و نانوذرات آهن در سطح صفر و ۲۵ کادمیوم بر محتوای کلروفیل  $a$  و نسبت کلروفیل  $a/b$  و در سطح ۷۵ کادمیوم بر محتوای کاروتنوئید معنی‌دار بود، در حالی که در تمامی سطوح کادمیوم بر شاخص سبزیگی برگ تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که اثر ساده کادمیوم بر محتوای کلروفیل  $a$ ،  $b$ ،  $a+b$  کاروتنوئید و شاخص سبزیگی برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما بر نسبت کلروفیل  $a/b$  تأثیر معنی‌داری نداشت. اثر ساده قارچ بر محتوای کلروفیل  $a$ ،  $b$ ،  $a+b$  و شاخص سبزیگی برگ معنی‌دار بود اما محتوای کلروفیل  $a$  و کاروتنوئید به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نگرفت. اثر ساده نانوذرات آهن بر محتوای کلروفیل  $a$ ،  $b$ ،  $a+b$  کاروتنوئید و شاخص سبزیگی برگ 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

جدول ۳. میانگین مربعات اثر تیمارهای آزمایشی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی خرفه

Table 3. Mean squares of experimental treatments on the content of photosynthetic pigments of purslane

Source of variation	df	Chlorophyll				Carotenoid	SPAD
		a	b	a+b	a/b		
(A) Cadmium	3	6.86 **	1.53 **	3.67 **	0.286 ns	0.755 **	189.96 **
(B) Fungi	3	0.194 ns	0.653 **	0.325 **	1.90 **	0.020 ns	29.63 **
(C) Iron nanoparticles	2	0.473 ns	0.385 **	0.416 **	0.476 ns	0.322 **	65.35 **
A×B	9	0.262 ns	0.137 *	0.101 ns	0.917 **	0.061 ns	6.17 ns
A×C	6	0.628 **	0.1002 ns	0.277 **	0.545 ns	0.145 **	18.36 **
B×C	6	0.473 *	0.045 ns	0.171 *	0.485 ns	0.208 **	2.93 ns
A×B×C	18	0.456 *	0.039 ns	0.116 ns	0.728 **	0.091 **	9.87 *
Error	96	0.185	0.054	0.075	0.321	0.041	5.36
CV (%)		21.13	23.86	18.13	15.99	25.32	7.75

ns, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.  
ns, \* and \*\*: non significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۴. تجزیه واریانس برش‌دهی اثر متقابل تیمارهای آزمایشی بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک خرفه

Table 4. Variance analysis of interaction effect slicing of experimental treatments on morphological and physiological traits of purslane

Cadmium Concentration	df	RWC	Chlorophyll a	Chlorophyll a/b	Carotenoid	SPAD
0	6	56.69 ns	0.799 *	1.52 *	0.0763 ns	2.619 ns
25	6	9.33 ns	0.716 *	0.467 *	0.0446 ns	1.122 ns
50	6	56.67 ns	0.243 ns	0.348 ns	0.0157 ns	4.871 ns
75	6	102.78 *	0.0822 ns	0.326 ns	0.204 **	23.94 ns

ns, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.  
ns, \* and \*\*: non significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

a در غلظت ۲۵ کادمیوم (با ۱۸/۹ درصد افزایش نسبت به سطح عدم تلقیح و عدم محلول‌پاشی) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *Chaetomium subaffine* (SF)، در غلظت ۵۰ کادمیوم (با ۲۴ درصد افزایش) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. longibrachiatum* و در غلظت ۷۵ کادمیوم (با ۱۰ درصد افزایش) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. atroviride* (SN) مشاهده شد.

میانگین اثرهای متقابل تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ آورده شده است. بر اساس یافته‌ها، گیاهان تلقیح‌شده با قارچ محتوای کلروفیل a بیشتری در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک در مقایسه با گیاهان شاهد داشتند. محلول‌پاشی نانوذرات آهن نیز به ویژه در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر سبب افزایش محتوای کلروفیل a در تمامی سطوح کادمیوم گردید. بیشترین محتوای کلروفیل

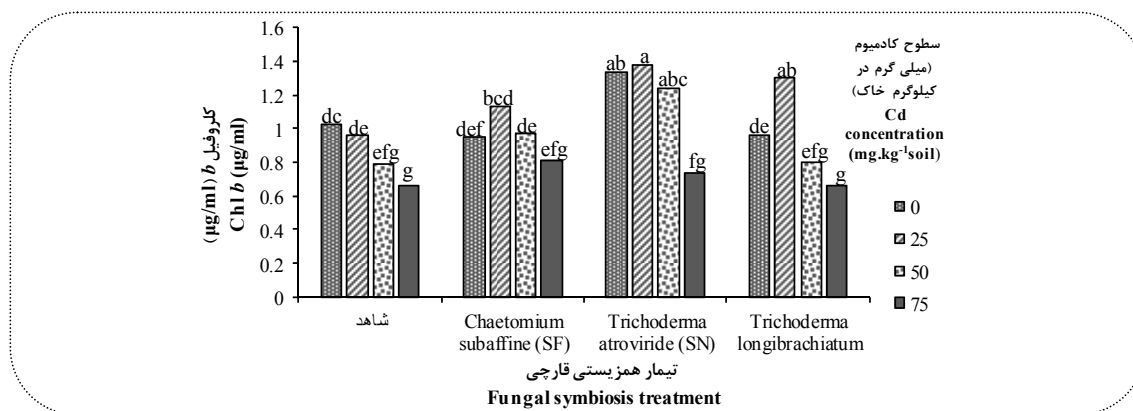
جدول ۵. تأثیر برهمکنش تنش کادمیوم، همزیستی قارچی و محلول پاشی نانوذرات آهن بر میزان کلروفیل a گیاه خرفه  
**Table 5. Interaction effect of cadmium stress, fungal symbiosis and foliar spraying of iron nanoparticles on chlorophyll a content in purslane plant**

Cd concentration (mg.kg-1soil)	Iron nanoparticles (g.l-1)	Fungal Symbiosis			
		Control	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN)	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>
0	0	1.88 b-e	1.50 e	1.80 cde	1.92 b-e
	0.15	2.58 a-d	2.61 abc	3.12 a	1.97 b-e
	0.3	2.16 a-e	1.64 de	1.55 e	2.81 ab
25	0	2.70 abc	2.72 abc	1.87 d	2.69 abc
	0.15	2.33 <sup>bcd</sup>	3.33 a	2.79 ab	2.67 abc
	0.3	1.95 cd	2.45 bcd	3.06 ab	2.41 bcd
50	0	1.92 bc	1.82 bc	1.86 bc	2.01 abc
	0.15	1.63 bc	2.18 ab	1.70 bc	2.50 a
	0.3	1.50 c	1.50 c	2.10 ab	1.81 bc
75	0	1.69 ab	1.48 ab	1.65 ab	1.41 ab
	0.15	1.26 b	1.72 ab	1.57 ab	1.45 ab
	0.3	1.51 ab	1.54 ab	1.88 a	1.39 ab

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.  
 In each cadmium level, the means with the same letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability

و تیمار همزیستی قارچی در گیاه خرفه (شکل ۹) بیانگر اثر مثبت محلول‌پاشی 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 *Chaetomium subaffine* (SF) و *T. atroviride* (SN) در سطح ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن (به ترتیب با ۱۶ و ۱۹ درصد افزایش نسب به سطح شاهد) مشاهده شد. محلول‌پاشی نانوذرات آهن در سطح صفر و ۲۵ کادمیوم سبب افزایش مجموع کلروفیل  $a+b$  گردید اما در سطح ۵۰ و ۷۵ کادمیوم محتوای کلروفیل  $a+b$  کاهش یافت. در تمامی غلظت‌های محلول‌پاشی نانوذرات آهن بیشترین محتوای کلروفیل  $a+b$  در سطح ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک مشاهده شد (شکل ۱۰).

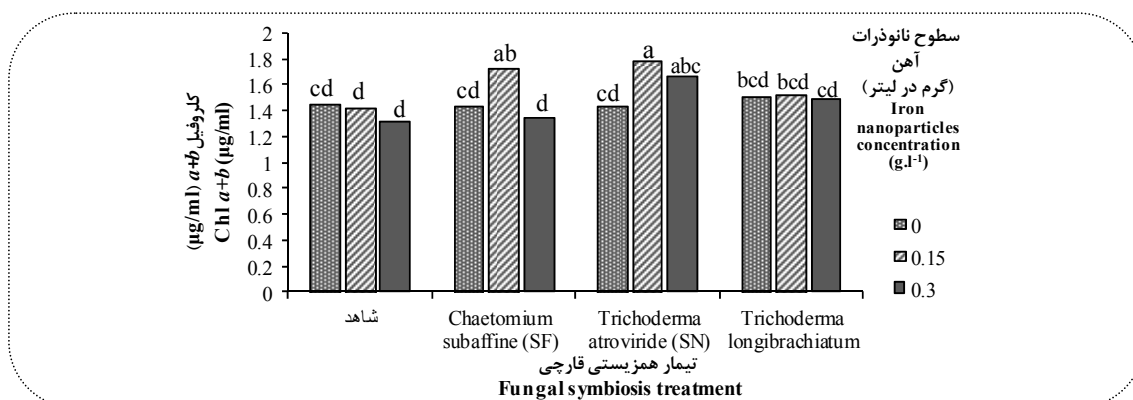
برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و تیمار همزیستی قارچی در گیاه خرفه (شکل ۸) نشان داد که میزان کلروفیل  $b$  در گیاهان شاهد (عدم تلقیح) با افزایش سطوح کادمیوم به میزان ۳۶/۲ درصد کاهش یافت اما در تمامی گیاهان تلقیح شده میزان کلروفیل  $b$  تا سطح ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک افزایش یافت. در غلظت‌های ۵۰ و 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 تمامی سطوح 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. نتایج برهمکنش سطوح نانوذرات آهن



شکل ۸. برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و تیمار همزیستی قارچی بر محتوای کلروفیل *b* گیاه خرفه.

**Figure 8. Interaction of soil cadmium levels and fungal symbiosis on Chl *b* content of purslane**

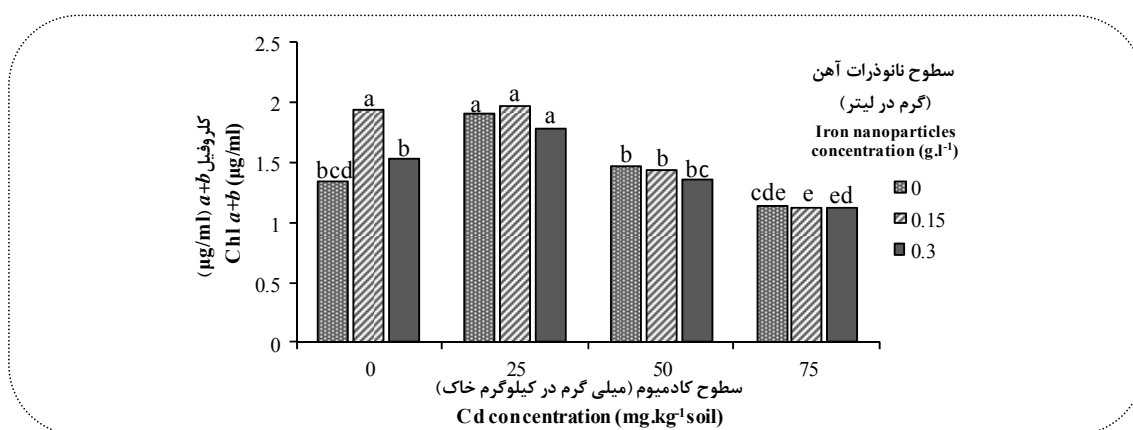
ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. Columns with similar letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability



شکل ۹. برهمکنش سطوح نانوذرات آهن و تیمار همزیستی قارچی بر مجموع کلروفیل *a+b* گیاه خرفه

**Figure 9. Interaction of iron nanoparticle and fungal symbiosis treatment on total chlorophyll *a+b* of purslane**

ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. Columns with similar letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability



شکل ۱۰. برهمکنش سطوح کادمیوم خاک و نانوذرات آهن بر مجموع کلروفیل *a+b* گیاه خرفه

**Figure 10. Interaction of soil cadmium levels and iron nanoparticles on total chlorophyll *a+b* of purslane**

ستون‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. Columns with similar letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability.

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 (جدول ۸). 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* (SN) میزان شاخص سبزی‌نگی برگ در سطح ۲۵ کادمیوم در غلظت ۰/۱۵ نانوذرات آهن، ۸/۸ درصد در سطح ۵۰ کادمیوم در غلظت ۰/۳ نانوذرات آهن، ۲۱/۱ 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* مشاهده شد.

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 محلول‌پاشی نانوذرات آهن سبب افزایش نسبت کلروفیل *a/b* نسبت به سطح صفر محلول‌پاشی گردید (جدول ۶). در مقایسه، محتوای کاروتنوئید در گیاهان تلقیح شده در تمامی سطوح کادمیوم خاک بیشتر از گیاهان شاهد (عدم تلقیح) بود. در سطح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کادمیوم بیشترین میزان کاروتنوئید در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن مشاهده شد. کاربرد ۰/۱۵ گرم در لیتر نانوذرات آهن در گیاهان تلقیح شده با قارچ *C. subaffine* (SF) بیشترین محتوای کاروتنوئید در غلظت ۵۰ کادمیوم را به همراه داشت (جدول ۷). شاخص سبزی‌نگی برگ با افزایش غلظت کادمیوم هم در

جدول ۶. تأثیر برهمکنش تنش کادمیوم، همزیستی قارچی و محلول‌پاشی نانوذرات آهن بر نسبت کلروفیل *a/b* گیاه خرفه  
**Table 6. Interaction effect of cadmium stress, fungal Symbiosis and foliar spraying of iron nanoparticles on chlorophyll *a/b* content in purslane plant**

Cd concentration (mg.kg-1soil)	Iron nanoparticles (g.l-1)	Fungal Symbiosis			
		Control	Chaetomium subaffine (SF)	Trichoderma atroviride (SN)	Trichoderma longibrachiatum
0	0	2.10 <sup>bc</sup>	1.92 <sup>bc</sup>	1.59 <sup>bc</sup>	2.44 <sup>b</sup>
	0.15	2.08 <sup>bc</sup>	2.45 <sup>b</sup>	2.19 <sup>bc</sup>	1.57 <sup>bc</sup>
	0.3	2.24 <sup>bc</sup>	1.78 <sup>bc</sup>	1.26 <sup>c</sup>	3.79 <sup>a</sup>
25	0	3.01 <sup>a</sup>	2.85 <sup>ab</sup>	1.48 <sup>e</sup>	2.11 <sup>cde</sup>
	0.15	2.33 <sup>bcd</sup>	2.02 <sup>de</sup>	1.86 <sup>de</sup>	2.002 <sup>de</sup>
	0.3	2.07 <sup>cde</sup>	2.70 <sup>abc</sup>	2.21 <sup>bcd</sup>	2.15 <sup>cd</sup>
50	0	2.15 <sup>b-e</sup>	2.38 <sup>bc</sup>	1.57 <sup>de</sup>	3.48 <sup>a</sup>
	0.15	2.33 <sup>bcd</sup>	1.85 <sup>b-e</sup>	1.47 <sup>e</sup>	2.55 <sup>b</sup>
	0.3	1.98 <sup>b-e</sup>	1.58 <sup>cde</sup>	1.63 <sup>cde</sup>	2.16 <sup>b-e</sup>
75	0	2.39 <sup>ab</sup>	2.23 <sup>ab</sup>	2.23 <sup>ab</sup>	1.97 <sup>b</sup>
	0.15	2.24 <sup>ab</sup>	1.75 <sup>b</sup>	2.006 <sup>b</sup>	2.38 <sup>ab</sup>
	0.3	2.28 <sup>ab</sup>	2.14 <sup>ab</sup>	3.15 <sup>a</sup>	2.59 <sup>ab</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.  
 In each cadmium level, the means with the same letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability



جدول ۷. تأثیر برهمکنش تنش کادمیوم، همزیستی قارچی و محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای کاروتنوئید (واحد) گیاه خرفه

**Table 7. Interaction effect of cadmium stress, fungal Symbiosis and foliar spraying of iron nanoparticles on carotenoid content (unit) in purslane plant**

Cd concentration (mg.kg-1soil)	Iron nanoparticles (g.l-1)	Fungal Symbiosis			
		Control	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN)	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>
0	0	0.878 <sup>a</sup>	0.529 <sup>ab</sup>	0.581 <sup>ab</sup>	0.713 <sup>a</sup>
	0.15	0.272 <sup>b</sup>	0.529 <sup>ab</sup>	0.581 <sup>ab</sup>	0.669 <sup>a</sup>
	0.3	0.825 <sup>a</sup>	0.751 <sup>a</sup>	0.733 <sup>a</sup>	0.710 <sup>a</sup>
25	0	0.608 <sup>b</sup>	0.672 <sup>ab</sup>	0.616 <sup>b</sup>	0.909 <sup>a</sup>
	0.15	0.574 <sup>b</sup>	0.672 <sup>ab</sup>	0.827 <sup>ab</sup>	0.909 <sup>a</sup>
	0.3	0.774 <sup>ab</sup>	0.567 <sup>b</sup>	0.827 <sup>ab</sup>	0.685 <sup>ab</sup>
50	0	0.703 <sup>b</sup>	1.006 <sup>ab</sup>	0.895 <sup>ab</sup>	0.651 <sup>b</sup>
	0.15	0.621 <sup>b</sup>	1.259 <sup>a</sup>	0.822 <sup>ab</sup>	1.258 <sup>a</sup>
	0.3	0.943 <sup>ab</sup>	1.038 <sup>ab</sup>	1.048 <sup>ab</sup>	1.191 <sup>a</sup>
75	0	1.206 <sup>a</sup>	0.673 <sup>f</sup>	0.482 <sup>f</sup>	0.508 <sup>f</sup>
	0.15	0.805 <sup>de</sup>	1.088 <sup>abc</sup>	1.169 <sup>a</sup>	0.941 <sup>a-e</sup>
	0.3	0.861 <sup>cde</sup>	1.042 <sup>a-d</sup>	1.138 <sup>ab</sup>	0.891 <sup>b-e</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. In each cadmium level, the means with the same letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability

جدول ۸. تأثیر برهمکنش تنش کادمیوم، همزیستی قارچی و محلول پاشی نانوذرات آهن بر میزان شاخص سبزی‌نگی برگ گیاه خرفه

**Table 8. Interaction effect of cadmium stress, fungal Symbiosis and foliar spraying of iron nanoparticles on SPAD value in purslane plant**

Cd concentration (mg.kg-1soil)	Iron nanoparticles (g.l-1)	Fungal symbiosis			
		Control	<i>Chaetomium subaffine</i> (SF)	<i>Trichoderma atroviride</i> (SN)	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>
0	0	30.5 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>	31.8 <sup>a</sup>	33.5 <sup>a</sup>
	0.15	32.9 <sup>a</sup>	32.3 <sup>a</sup>	32.06 <sup>a</sup>	32.9 <sup>a</sup>
	0.3	30.4 <sup>a</sup>	32.9 <sup>a</sup>	32.3 <sup>a</sup>	32.7 <sup>a</sup>
25	0	30.2 <sup>bc</sup>	31.8 <sup>abc</sup>	31.4 <sup>abc</sup>	32.4 <sup>ab</sup>
	0.15	30.4 <sup>abc</sup>	31.7 <sup>abc</sup>	33.1 <sup>a</sup>	31.7 <sup>abc</sup>
	0.3	29.4 <sup>c</sup>	30.03 <sup>bc</sup>	31.06 <sup>abc</sup>	29.8 <sup>bc</sup>
50	0	25.8 <sup>ed</sup>	25.4 <sup>e</sup>	29.7 <sup>abc</sup>	27.9 <sup>cde</sup>
	0.15	31.1 <sup>abc</sup>	30.9 <sup>abc</sup>	31.7 <sup>ab</sup>	30.8 <sup>abc</sup>
	0.3	29.1 <sup>bcd</sup>	29.5 <sup>abc</sup>	32.7 <sup>a</sup>	27.7 <sup>cde</sup>
75	0	21.1 <sup>d</sup>	23.4 <sup>cd</sup>	27.8 <sup>abc</sup>	24.9 <sup>cd</sup>
	0.15	26.3 <sup>bcd</sup>	27.03 <sup>bc</sup>	28.4 <sup>abc</sup>	32.9 <sup>a</sup>
	0.3	25.5 <sup>bcd</sup>	25.8 <sup>bcd</sup>	27.7 <sup>abc</sup>	31.06 <sup>ab</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند. In each cadmium level, the means with the same letter (s) did not differ significantly based on the LSD test at the 5% level of probability

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 (Xue et al., 2013). 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 (Vassilev and Yordanov, 1997). Jianpeng و همکاران (2010) 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 (Sanitata and Gabbriella, 1990). کاهش محتوای کاروتنوئید با افزایش غلظت کادمیوم در مطالعات Shi و همکاران (2010) در گیاه گلرنگ، سلطانی و همکاران (۱۳۸۵) در گیاه کلزا و بارنده و همکاران (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، Zarea و همکاران (2012) 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 (Kapoor et al, 2008). 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 Demir (2004) 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 (۱۳۹۰) نشان دادند 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 محلول‌پاشی 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 می‌شود که این نقش در متابولیسم گیاهی بسیار مهم است. وجود آهن در سنتز

تحميل گیاه به تنش کادمیوم مؤثر بود. از سوی دیگر، برهمکنش قارچ‌های همزیست و محلول‌پاشی نانوذرات آهن اثر هم‌افزایی داشته و با تشدید اثرات مثبت یکدیگر باعث بهبود بیشتر برخی از پارامترهای رشدی و غلظت کلروفیل در گیاه خرفه شد. بنابراین، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد با بکارگیری ارتباط‌های متقابل ریزجانداران ریزوسفر و نانوذرات آهن در گیاهان تحت تنش امکان بهبود رشد گیاه و افزایش میزان جذب و زدایش فلزات سنگین طی دو فرآیند گیاه‌پالایی و زیست‌پالایی وجود دارد. با این حال شناخت سازوکار دقیق این فرآیند نیازمند انجام پژوهش‌های تکمیلی می‌باشد.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت‌های مالی پژوهشکده زنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری قدردانی می‌گردد.

پروتئین لازم است و از آنجایی که نقش عمده آهن در سنتز پروتئین‌های همراه کلروفیل است کمبود آن ساختار کلروپلاست و میزان فتوسنتز را کاهش می‌دهد ( Briat et al., 2015).

### نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج نشان داد که تنش کادمیوم به ویژه غلظت ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک سبب اختلال در رشد و کاهش پارامترهای مورفولوژیک در گیاه خرفه شد. میزان این کاهش در غلظت ۲۵ کادمیوم کمتر بود. همچنین افزایش غلظت کادمیوم سبب آسیب به سیستم فتوسنتزی و رنگیزه‌های کلروفیلی گردید که با نتایج سایر پژوهشگران نیز مطابقت دارد. از سوی دیگر، کاربرد قارچ‌های همزیست در سطوح مختلف کادمیوم بهبود رشد گیاه و سیستم فتوسنتزی را در پی داشت. محلول‌پاشی نانوذرات آهن به ویژه در غلظت ۰/۱۵ گرم در لیتر نیز در بهبود

### منابع

- اصلانی، ز.، حسنی، ا.، رسولی صدقیانی، م.، سفیدکون، 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 (۳) صص ۴۷۱-۴۸۶.
- آقابابایی، ف.، رئیسی، ف.، و حسین پور، ع.، ۱۳۹۲. اثر کرم خاکی و قارچ میکوریزا بر زیست توده میکروبی و فعالیت آنزیمی در خاک‌های آلوده شده به کادمیم در کشت آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*)، *نشریه آب و خاک، علوم و صنایع کشاورزی*، شماره ۲۷، صص ۹۴۹-۹۶۲.
- بارنده، ف.، و کاووسی، ح.، ۱۳۹۵. اثر کلرید کادمیوم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای پرولین، میزان پروتئین‌های محلول و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه عدس، *مجله فرآیند و کارکرد گیاهی*، شماره ۵ (۱۶)، صص ۱۳۳-۱۱۷.
- 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، صص ۴۸۴-۴۷۳.
- پیوندی، م.، کمالی جامکانی، ز.، و میرزا، م.، ۱۳۹۰. تأثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرزه *Satureja hortensis*، *مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی*، شماره ۲ (۵)، صص ۳۲-۲۵.
- تفویضی، م.، متشعرزاده، ب.، و ثواقبی غ.، ۱۳۹۳. بررسی اثر محلول‌پاشی آهن و آلودگی سرب بر برخی صفات فیزیولوژی دو هیبرید ذرت علوفه‌ای در یک خاک آهکی. *نشریه علوم گیاهان زراعی ایران*، شماره ۴۵ (۲)، صص ۲۲۶-۲۱۳.

تقوی قاسمخیلی، ف.، پردشتی، 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 (۴)، صص ۴۸۲-۴۶۵.

تقوی قاسمخیلی، ف.، پردشتی، ه.، تاجیک قنبری، م.ع.، و بهمنیار، م.ع.، ۱۳۹۴. بررسی تأثیر قارچ تریکودرما و نیترات کادمیوم بر قابلیت جذب، انتقال و تجمع کادمیوم در گندم (*Triticum aestivum L.*)، نشریه تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی، شماره ۱۲(۱)، صص ۱-۱۶.

حسین‌زاده، م.ه.، فلاوند، ا.، مشهدی اکبر بوجار، م.، مدرس ثانوی، س.ع.، و مختصی بیدگلی، ع.، ۱۳۹۸. تغییرات مورفولوژیکی، زراعی، محتوی اسانس و روغن گیاه خرفه (*Portulaca oleracea L.*) تحت تأثیر خشکی، مایکوریزا و کود آلی / شیمیایی نیتروژن، مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، شماره ۱۲(۳)، صص ۸۶۴-۸۳۱.

حیدری، م.، گلیج، م.، قربانی، ه. و برادران فیروزآبادی، م.، ۱۳۹۴. تأثیر تنش خشکی و محلول پاشی نانواکسید آهن بر عملکرد دانه، محتوای یونی و رنگدانه‌های نورساختی کنگد، علوم گیاهان زراعی ایران، شماره ۴۶(۴)، صص ۶۲۸-۶۱۹.

خلیقی جمال آباد، ا.، و خارا، ج.، ۱۳۸۷. تأثیر قارچ میکوریزی آربوسکولار *Glomus intraradices* بر روی تنش اکسیداتیو برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی در گیاه گندم رقم آذر۲، مجله زیست‌شناسی ایران، شماره ۲۱(۵)، صص ۱۵-۱.

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

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 (۴)، صص ۶۰-۴۳.

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

شهقلی، ح.، طلائی، ق.ح.، و خواجه، م.، ۱۳۹۱. برهمکنش ریزسازواره‌ها و کلات‌ها بر پالایش عناصر سنگین توسط گیاهان، مجله ایمنی زیستی، شماره ۵ (۲)، صص ۹۴-۷۵.

صدوری، م.، و قرچه، ن.، ۱۳۹۲. نقش قارچ‌های همزیست ریشه در احیای زمین‌های آلوده به مواد سمی، دانش بیماری‌شناسی گیاهی، شماره ۲(۲)، صص ۶۰-۴۵.

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. ۲۶-۲۷ اردیبهشت.

فلاح، س.، و سلطانی‌نژاد، ف.، ۱۳۹۵. برهمکنش کادمیم و سطوح مختلف نیتروژن آلی و معدنی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea*)، مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، شماره ۷ (۲۶)، صص ۱۷۸-۱۶۳.

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 صفر ظرفیتی پایدار شده تحت تنش شوری، مجله فرآیند و کاربرد گیاهی، شماره ۸ (۲۹)، صص 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 (۴)، صص ۱۸-۳۰.

کوچکی، ع.، و سرمدنیا، ع.، ترجمه. ۱۳۹۲. فیزیولوژی گیاهان زراعی. مشهد: انتشارات جهاد دانشگاهی (دانشگاه فردوسی مشهد).

محمدی کشکا، ف.، پیردشتی، ه.، یعقوبیان، ی.، و بهاری ساروی. س.ح.، ۱۳۹۵. تأثیر همزیستی قارچ‌های *Trichoderma* و *Piriformospora indica* به همراه باکتری *Enterobacter* sp. بر رشد رویشی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.)، مجله اکوفیزیولوژی گیاهی، شماره ۲۶، صص ۱۲۱-۱۳۳.

نوری آکندی، ز.، مکاریان، ح.، پیردشتی، ه.، عامریان، م.، برادران فیروزآبادی، م.، و تاجیک‌قنبری، م.، ۱۳۹۸. شناسایی برخی قارچ‌های اندوفیت در ریشه گیاهان علف چشمه (*Nasturtium officinale*) و اناریجه (*Froriepia subpinnata*). مجموعه خلاصه مقالات چهارمین کنگره قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران، ۴-۶ شهریور. صص ۱۱۲.

نوری حسینی، م.، ۱۳۸۴. اثرات محلول پاشی و مصرف خاکی عناصر آهن و روی بر عملکرد و اجزاء عملکرد پنبه. چکیده مقالات نهمین کنگره علوم خاک، تهران، مرکز تحقیقات حفاظت خاک و آبخیزداری کشور، ایران، ۶ شهریور. صص ۹۸.

یعقوبیان، ی.، ۱۳۹۴. اثر قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma* spp در تحمل به سمیت کادمیوم در گیاهان دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) و خرفه (*Portulaca oleracea* L.). پایان نامه دکتری. دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

یعقوبیان، ی.، سیادت، س.ع.ا.، مرادی تلاوت، م.ر.، و پیردشتی، ه.ا.، 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(۲)، صص ۱۶۵-۱۸۵.

Akhtar, K., Akhtar, M.W., and A.M. Khalid. 2007. Removal and recovery of uranium from aqueous solutions by *Trichoderma harzianum*. *Water Research*. 41:1366-1378.

Auge, R.M., H.D. Toler, and A.M. Saxton. 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. *Mycorrhiza*. 25(1): 13-24.

Aydinalp, C., and S. Marinova. 2009. The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa (*Medicago sativa*) plant. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 15: 347-350.

Barcelo, L., and C. Poschenriedr. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A reaview. *Journal of Plant Nutrition*. 13:1-37.

Briat, J. F., Dubos, C., and F. Gaymard. 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends in Plant Science*. 20(1): 33-40.

Demir, S. 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*. 28: 85-90.

Feng, G., Li, X. L., Zhang, F. S., Tian, C.Y., and C. Tang. 2002. Improved tolerance of maize plant to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of solouable sugars in roots. *Mycorrhiza* 12: 185-190.

Gaiero, J.R., McCall, C.A., Thompson, K.A., Day, N.J., Best, A.S., and K.E. Dunfield. 2013. inside the root microbiome: bacterial root endophytes and plant growth promotion. *American Journal of Botany*. 100: 1738-1750.

- Greger, M., and E. Ogren. 1991. Direct and indirect effects of Cd on photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiologia Plantarum*. 83: 129-135.
- Hryniewicz, K., Dabrowska, G., Baum, C., Niedojad, K., and P. Leinweber. 2012. Interactive and single effects of ectomycorrhiza formation and *Bacillus cereus* on metallothionein MT1 expression and phytoextraction of Cd and Zn by willows. *Water, Air and Soil Pollution*. 223(3):957–968.
- Huang, S., Wang, L., Liu, L., Hou, Y., and L. Li. 2014. Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in china. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 35: 369–400.
- Hussain, I., Ashraf, M.A., Rasheed, R., Asghar, A., Sajid, M.A., and M. Iqbal. 2015. Exogenous application of silicon at the boot stage decreases accumulation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. *Brazilian Journal of Botany*. 38(2): 223-234.
- Jianpeng, F., Qinghua, S., Xiufeng, W., and W. Min. 2010. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium toxicity *Cucumis sativus* L. *Scientia Horticulturae*. 123:521-530.
- Kapoor, R., Sharma, D., and A.K. Bhatnagar. 2008. Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. *Scientia Horticulture*. 116: 227-239.
- Konate, A., He, X., Zhang, Z., Ma, Y., Zhang, P., Alugongo, G.M., and Y. Rui. 2017. Magnetic (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles reduce heavy metals uptake and mitigate their toxicity in wheat seedling. *Sustainability*. 9 (790): 1-16.
- Kristin, A., and H. Miranda. 2013. The root microbiota-a fingerprint in the soil. *Plant Soil*. 370: 671-686.
- Liamas, A., Ullrich, B., and A. Sanz. 2000. Cadmium effects on transmembrane electrical potential difference, respiration and membrane permeability of rice roots. *International Journal of Plant and Soil Science*. 219: 21-28.
- Lukacov, Z., svubov, R., Kohanov, J., and A. Lux. 2013. Silicon mitigates the Cd toxicity in maize in relation to cadmium translocation, cell distribution, antioxidant enzymes stimulation and enhanced endodermal apoplasmic barrier development. *Plant Growth Regulation*. 70(1): 89-103.
- Lutts, S., Kinet, J.M., and J. Bouharmont. 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany*. 46: 1843–1852.
- Mazhabi, M., Nemati, H., Rouhani, H., Tehranifar, A., Moghadam, E.M., Kaveh, H., and A. Rezaee. 2011. The effect of *Trichoderma* on polianthes qualitative and quantitative properties. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 21(3): 617-621.
- Naderi, M., Danesh-Shahraki, A., and R. Naderi. 2013. The role of nanotechnology in improving the use efficiency of nutrients and chemical fertilizers. *Mon Nanotechnology*. 11 (12): 16 - 32.
- Oelmuller, R., Sherameti, I., Tripathi, S., and A. Varma. 2009. Piriformospora, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis*. 49: 1-17.
- Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*. 73(1): 149-156.
- Sanita, D.T., and R. Gabbrielli. 1999. Response to cadmium in higher plants- review. *Environmental and Experimental Botany*. 41:105-130.
- Savasari, M., Emadi, M., Bahmanyar, M.A., And P. Biparva. 2015. Optimization of Cd (II) removal from aqueous solution by ascorbic acid-stabilized zero valent iron nanoparticles using response surface methodology. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 21: 1403-1409.

- Schonfeld, M.A., Johnson, R.C., Carver, B., and D.W. Morhinweg. 1988. Water relation in winter wheat as drought resistance indicator. *Crop Science*. 28: 526-531.
- Sheoran, V., Sheoran, A.S., and F. Navari-Izzo. 2016. Factors affecting phytoextraction: A review. *Pedosphere* 26(2): 148–166.
- Shi, G., Liu, C., Cai, Q., Liu, Q., and C. Hou. 2010. Cadmium accumulation and tolerance of two safflower cultivars in relation to photosynthesis and antioxidative enzymes. *Bulletin of Environmental Contam Toxicology*. 85(3):256-63.
- Soltani, A., Hammer, G.L., Torabi, B., Robertson, M.J., and E. Zeinali. 2006. Modeling chickpea growth and development: phenological development. *Field Crops Research*. 99: 1-13.
- Sun, Y.M., Horng, C.Y., Chang, F.L., Cheng, L.C., and W.X. Tian. 2010. Biosorption of lead, mercury and cadmium ions by *Aspergillus terreus* immobilized in a natural matrix. *Polish Journal of Microbiology*. 59 (1): 37-44.
- Suzuki, M., Takeda, S., Teraoka-Nishitani, N., Yamagata, A., Tanaka, T., and M. Sasaki. 2017. Cadmium-induced malignant transformation of rat liver cells: Potential key role and regulatory mechanism of altered apolipoprotein expression in enhanced invasiveness. *Toxicology*. 382: 16-23.
- Tiwari, K., Dwivedi, S., Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R., Singh, N., and S. Chakraborty. 2008. Phytoremediation efficiency of *Portulaca tuberosa* rox and *Portulaca oleracea* L. naturally growing in an industrial effluent irrigated area in Vadodra, Gujrat, India. *Environmental Monitoring and Assessment*. 147(1-3): 15- 22.
- Vassilev, A., and I. Yordanov. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium - treated plants: A review. *Plant Physiology*. 23:114-133.
- Wang B., Liu L., Gao Y., and J. Chen. 2009. Improved phytoremediation of oilseed rape (*Brassica napus*) by *Trichoderma* mutant constructed by restriction enzyme-mediated integration (REMI) in cadmium polluted soil. *Chemosphere*. 74: 1400–1403.
- Xue, Z., Gao, C., Y, H., and L.T. Zhang. 2013. Effects of cadmium on growth, photosynthetic rate and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings. *Biologia Plantarum*. 57: 587-59.
- Zago, M.P., and P.I. Oteiza. 2001. The antioxidant properties of zinc: Interactions with iron and antioxidants. *Free Radical Biology and Medicin*. 31:266-274.
- Zarea, M.J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F., and A. Varma. 2012. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology and Biochemistry*. 45: 139-146.
- Zhang, M., He, F., Zhao, D., and X. Hao. 2011. Degradation of soil sorbed trichloroethylene by stabilized zero valent iron nanoparticles: Effects of sorption, surfactants, and natural organic matter. *Water Research*. 45: 2401-2414.