تأثير فطر المايكورايزا الحويصلية الشجيرية النوع *Glomus etunicatum* في نمو نبات زهرة الشمس *Helianthus annuus* وامتصاص الكادميوم والنحاس والرصاص في تربة مزيجة ملوثة

مهدي صالح ياسر العتابي* مهدي ضمد القيسي** بتول زينل علي***

الملخص

تضمن البحث اختبار إمكانية استخدام فطريات المايكورايزا الشجيرية الحويصلية Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza (VAM) النوع *Glomus etunicatum* في عملية إزالة تلوث التربة المزيجة بثلاثة أنواع من العناصر الثقيلة وهي الكادميوم، النحاس والرصاص واستخدام نبات زهرة الشمس كنبات اختبار. وقد تمت دراسة الملوثات وتأثيراتها في فطريات المايكورايزا منفردة وتحت ظروف مسيطر عليها وتربة معقمة وأظهرت النتائج الآتية:

1- زيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموع الجذري لنباتات السيطرة الملقحة بالفطر مقارنة بالسيطرة السالبة غير الملقحة وتباين تأثيرها في المجموع الخضري.

2- تأثير سلبي معنوي للكادميوم والنحاس في الوزن الجاف للمجموع الجذري والخضري بزيادة التراكيز وتأثير سلبي غير معنوي في التركيز 50 و10 جزء في المليون للرصاص في المجموع الجذري والخضري للنباتات المعاملة بالفطر.

3- أظهر فطر المايكورايزا كفاءة عالية في استخلاص العناصر الثقيلة من التربة في التراكيز الواطئة وقلت هذه الكفاءة في التراكيز العالية وتأثير سلبي معنوي للعناصر الثلاثة في محتوى النتروجين والفسفور للنباتات بزيادة تراكيز العناصر الثلاثة.

4- زيادة نسبة تراكم العناصر الثقيلة في الجذور بزيادة تركيز العناصر الثلاثة مقارنة بالجزء الخضري الذي كانت نسبة تراكمه فيه أقل بخمسة مرات من الجذور.

5- كانت كمية الكادميوم المتراكمة في بذور نباتات زهرة الشمس ضمن الحدود السامة وسجلت أعلى مستوياتها (12.9) جزء في المليون. لقد كان المتراكم في معاملة الرصاص في البذور بمستوى عال ومعنوي جداً وضمن الحدود غير المسموح بها والسامة ولكل المعاملات مما تشير إلى خطورة استخدام هذه البذور من قبل الإنسان والحيوان.

المقدمة

تتلوث الأنظمة البيئية بالعناصر الثقيلة بسبب الفعاليات المختلفة للإنسان والطبيعة. ويمكن أن تزال هذه الملوثات بعملية الاستخلاص الحيوي (Biological extraction) وتستخدم في هذه التقنية الأحياء المجهرية ومنها فطريات المايكورايزا التي تشجع على أخذ الكادميوم والنحاس والرصاص وعناصر أخرى من خلال الاستيطان في جذور العوائل المختلفة ومنها نبات زهرة الشمس (4، 11، 13). ومن الجدير بالذكر أن هنالك عناصر إحيائية أخرى لها دور في هذه الأنظمة منها البكتريا المثبتة للنيتروجين (Nitrogen fixing bacteria) والفطريات والخمائر وغيرها.

جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الأول.

* الهيئة العامة للنخيل- وزارة الزراعة- بغداد، العراق.

** وزارة الزراعة- بغداد، العراق.

*** كلية التربية ابن الهيثم- جامعة بغداد- بغداد، العراق.

يعد النحاس (Cu) من العناصر الضرورية والنزرة التي يحتاجها النبات، ولكن لا توجد أية حاجة بيولوجية لعنصر الكادميوم (Cd) أو الرصاص (Pb) وهما يعدان من العناصر الثقيلة المسببة أضرار للصحة العامة، ولكنها تجد طريقها للتربة بطرائق مختلفة كالأسمدة الكيميائية ومخلفات المياه الثقيلة واستخدام المياه الصناعية في سقي المزروعات وغيرها كثير. وهذه العناصر الثقيلة لا يمكن للنبات أن يحولها إلى شكل غير سام داخل خلاياه، وترتبط مع جزيئات وأيونات التربة لتكون معقدات وترسبات غير ذائبة وقد تكون جزءاً من تركيب السيليكات في التربة (5). تعد فطريات المايكورايزا الحويصلية- الشجيرية (VAM) من أحياء التربة المجهرية التي تنشئ علاقة تعايشية مع معظم النباتات لتضمن ارتباطا فيزيائيا مباشرا بين التربة والجذور النباتية. ويعد نبات زهرة الشمس (Sunflower) من مجموعة النباتات المتحملة لتجميع وتراكم المعادن الثقيلة (9)، لذا هدف البحث إلى:

1- دراسة دور المايكورايزا الحويصلية الشجيرية (VAM) في امتصاص وتراكم العناصر الثقيلة في أجزاء النبات المختلفة ودورها في تنظيف البيئة بيولوجيا (Biological cleaning).

2- دراسة تأثير بعض العناصر الثقيلة في فطريات المايكورايزا الحويصلية الشجيرية النوع *G. etunicatum* المستوطنة في نبات زهرة الشمس.

3- دراسة دليل الاعتمادية المايكورايزية.

المواد وطرائق البحث

تنشيط بادئ السماد الحيوي الفطري

تم الحصول على السماد (البادئ الفطري) من مركز الربيع، الهيئة العامة للبحث والتطوير الصناعي/وزارة الصناعة والمعادن. يحتوي هذا السماد على ابواغ الفطر *G. etunicatium* في تربة مزيجة جافة مفحوصة مسبقاً. فحص السماد للتأكد من وجود الابواغ الفطرية بطريقة النخل الرطب والتصفية (Wet sieving and decanting) وحسب طريقة Gerdenann و Nicolson (12). أجريت عملية التنشيط باستخدام تربة مزيجة معقمة بالموصدة لمدة ثلاث ساعات وبدرجة 121 م° وضغط 15 باوند انج$^{-2}$ ووضعت في فرن كهربائي عند حرارة 60م ولحين الجفاف. اختبرت كفاءة التعقيم بأخذ نموذج من كل وجبة وزرعه في وسط المرق المغذي (Nutrient broth) وحضنه بدرجة 30 و37م. وزعت التربة المعقمة في أصص بلاستيكية، حجم كل منها 1000سم^3، مغلفة من الداخل بأكياس بلاستيكية معقمة، بواقع 1كغم تربة لكل منها. أضيف 50 غم من السماد الفطري البادئ (starter fungal fertilizer) على شكل وسادة (pad) بعمق 3 سم وغطيت بكمية مماثلة من التربة وبواقع أربعة أصص لكل نوع فطري (21). تم قياس السعة الحقلية للأصص الحاوية على التربة المعقمة وحضر محلول مغذ خزين يحتوي على العناصر المغذية الضرورية (10).

عقمت فسقه البصل، الذي يمثل النبات المضيف (Host plant) باستعمال الايثانول 95% وكلوريد الزئبق ($HgCl_2$) وغسلت عدة مرات بالماء المقطر المعقم لإزالة آثار المعقم. زرعت فسقه البصل في أصص حاوية على 1كغم تربة معقمة بواقع خمس حبات لكل أصيص حاوي على التربة المعقمة والمضاف إليها المحلول المغذي بكمية 200مل منها قبل يومين من الزراعة وخلط جيداً مع التربة وبعد أسبوعين من الزراعة تمت إضافة 200مل أخرى من المحلول المغذي لكل أصيص (9). وبعد مرور أسبوع على الإنبات اختزل عدد النباتات إلى ثلاث لكل أصيص وأزيل المجموع الخضري بعد مرور أربعة أشهر على الإنبات، وجففت التربة في الأصص ثم عرضت للهواء بدرجة 70م في فرن كهربائي لمدة 72ساعة لغرض التجفيف وثم الاحتفاظ بها مع الجذور المقطعة إلى قطع صغيرة في أكياس بلاستيكية معقمة في مكان بارد وجاف لحين الاستخدام.

أخذت نماذج من جذور البصل وتم تصبيغها باستعمال صبغة الفوكسين ألحامضي (16). وحسبت النسبة المئوية للجذور المصابة بالمايكورايزا (10) بالمعادلة التالية:

النسبة المئوية للإصابة =(مجموع المصابة بالمايكورايزا– مجموع غير المصابة بالمايكورايزا/ مجموع غير المصابة بالمايكورايزا) ×100

استخدمت تربة مزيجة رملية النسجة من شاطئ دجلة وبعد أن جففت ومررت خلال منخل قطر فتحاته 2 ملم، غسلت التربة بالماء لإزالة معظم العناصر الغذائية والأطيان الموجودة فيها ثلاث مرات (8). عقمت التربة بجهاز الموصدة لمدة ثلاث ساعات وفي درجة حرارة 121م وضغط 15 كغم.سم ^{2} لغرض استخدامها في زراعة الأصص، والجدول (1) يبين الصفات الكيميائية والفيزيائية للتربة.

جدول 1: بعض التحليلات الفيزيائية والكيميائية لتربة الدراسة

رمل	680 غم كغم$^{-1}$ تربة
غرين	280 غم كغم$^{-1}$ تربة
أطيان	40 غم كغم$^{-1}$ تربة
نسجه التربة	مزيجيه رملية
EC	dSm^{-1} 0.91
pH	7.58
Ca^{+2}	12.15 ملي مول لتر$^{-1}$
Mg^{+2}	8.35 ملي مول لتر$^{-1}$
Na^{+1}	4.96 ملي مول لتر$^{-1}$
K^{+1}	0.15 ملي مول لتر$^{-1}$
Cl^{-1}	7.72 ملي مول لتر$^{-1}$
HCO_3^{-1}	6.55 ملي مول لتر$^{-1}$
CO_3	Nil
المادة العضوية	5.37 غم كغم$^{-1}$
الكلس (CaCO3)	240 غم كغم$^{-1}$
الجبس (CaSO4)	Nil
النتروجين الكلي	1.7 غم كغم$^{-1}$
فسفور	0.9 غم كغم$^{-1}$
الكادميوم	Nil
النحاس	30جزء في المليون
الرصاص	6 جزء في المليون

تحضير محاليل المعادن الثقيلة

حضرت محاليل المعادن الثقيلة من المواد الاتية وحسب Celik and Arcak (3). نفذت تجربة عامليه للقطاعات الكاملة التعشية (RCBD) باستعمال ثلاثة أنواع من العناصر الثقيلة بأربعة تراكيز وثلاثة مكررات (جدول 2).

حضرت أصص بلاستيكية سعة 3.5 لتر ووضع داخلها 3 كغم تربة معقمة، وتمت إضافة الأسمدة بالمستويات الدنيا (10). أضيف السماد الفطري المخضر سابقاً لكل أصيص بطريقة الوسادة بعمق 3 سم (21). زرعت بذور زهرة الشمس بعدد خمس بذرات لكل أصيص بعد تعقيمها بالايثانول كما ذكر سابقاً مباشرة بعد وضع المحلول المغذي، وسقيت الأصص بكمية 200 مل من الماء المعقم لكل منها وتم إضافة العناصر الثقيلة Cd، Cu وPb وحسب التراكيز المذكورة في تصميم التجربة في اليوم نفسه. حصدت النباتات بعد أربعة أشهر وذلك بقطع الجزء الخضري مع مستوى سطح التربة وجفف المجموع الخضري في فرن كهربائي على حرارة 70مْ لمدة 48 ساعة. كما استخرجت

الجذور وغسلت جيداً وجففت بالطريقة السابقة نفسها. أما التربة فقد حفظت بعد التجفيف لحين استخدامها في الفحوص الكيميائية.

جدول 2: العناصر الثقيلة المضافة وتراكيزها مقاسه جزء في المليون (ملغم كغم$^{-1}$)

المعاملة	نوع الفطر	العنصر المستخدم وتركيزه
1	بدون فطر (سيطرة سالبة)	بدون أي عنصر ثقيل
2	مع الفطر (سيطرة موجبة)	بدون أي عنصر ثقيل
3	مع الفطر	كادميوم Cd بتركيز0.15 يعادل 1 ملغم كغم$^{-1}$ من $CdSO_4.8H_2O$
4	مع الفطر	كادميوم Cd بتركيز1.5 يعادل 10 ملغم كغم$^{-1}$ من $CdSO_4.8H_2O$
5	مع الفطر	كادميوم Cd بتركيز 3.0 يعادل 20 ملغم كغم$^{-1}$ من $CdSO_4.8H_2O$
6	مع الفطر	كادميوم Cd بتركيز 6.0 يعادل 40 ملغم كغم$^{-1}$ من $CdSO_4.8H_2O$
7	مع الفطر	نحاس Cu بتركيز 1.25 يعادل 5 ملغم كغم$^{-1}$ من $CuSO_4.5H_2O$
8	مع الفطر	نحاس Cu بتركيز 2.5 يعادل 10 ملغم كغم$^{-1}$ من $CuSO_4.5H_2O$
9	مع الفطر	نحاس Cu بتركيز 5 يعادل 20 ملغم كغم$^{-1}$ من $CuSO_4.5H_2O$
10	مع الفطر	نحاس Cu بتركيز 10 يعادل 40 ملغم كغم$^{-1}$ من $CuSO_4.5H_2O$
11	مع الفطر	رصاص Pb بتركيز7 يعادل 12.5ملغم كغم$^{-1}$ من $(CH_3COO)_25Pb.3H_2O$
12	مع الفطر	رصاص Pb بتركيز 14 يعادل 25ملغم كغم$^{-1}$ من $(CH_3COO)_25Pb.3H_2O$
13	مع الفطر	رصاص Pb بتركيز 28 يعادل 50ملغم كغم$^{-1}$ من $(CH_3COO)_25Pb.3H_2O$
14	مع الفطر	رصاص Pb بتركيز 56 يعادل 100ملغم كغم$^{-1}$ من$(CH_3COO)_25Pb.3H_2O$

تحليل التربة بعد الحصاد

قدر النيتروجين الكلي للمعاملات حسب الطريقة التي وصفها Bremae و Mulvaney (2). وقدر الفسفور الكلي للمعاملات كما ورد فيMosse وHepper (24). أما العناصر الثقيلة الكلية Cd، Cu وPb فقدرت في جميع المعاملات بجهاز قياس الامتصاص الذري أللهبي (17).

تحليل النبات بعد الحصاد

جرى هضم عينات الجذور، الجزء الخضري والبذور بحامض الكبريتيك المركز والعامل المساعد لغرض تقدير النيتروجين الكلي والفسفور الكلي والكادميوم والنحاس والرصاص في جميع المعاملات (17).

تأثير العناصر الثقيلة في الوزن الجاف

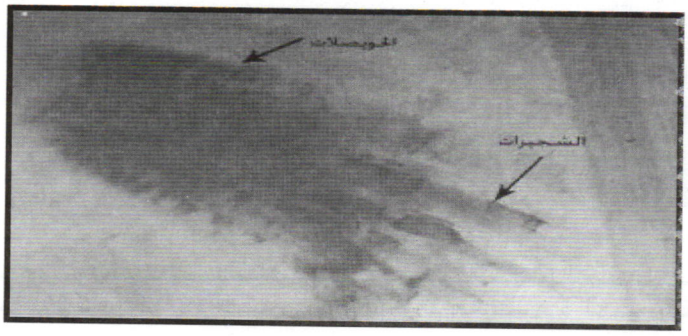
أخذت النباتات بعد قطع المجموع الجذري ثم قطعت الثمار وغسلت بالماء، وجفف كل جزء على حدة في فرن كهربائي بدرجة 80م لحين الجفاف وحسب الوزن الجاف لكل من الجذور، الجزء خضري والبذور ولجميع المعاملات لدراسة الاعتمادية المايكورايزية التي تعتبر النبات معتمداً على فطريات المايكورايزا عندما تكون قيمة الاعتمادية المايكورايزية أعلى من 50% (9).

الاعتمادية المايكورايزية = (الوزن الكلي للنبات المايكورايزي – الوزن الجاف الكلي للنبات غير المايكورايزي/ الوزن الجاف الكلي للنبات غير المايكورايزي) × 100

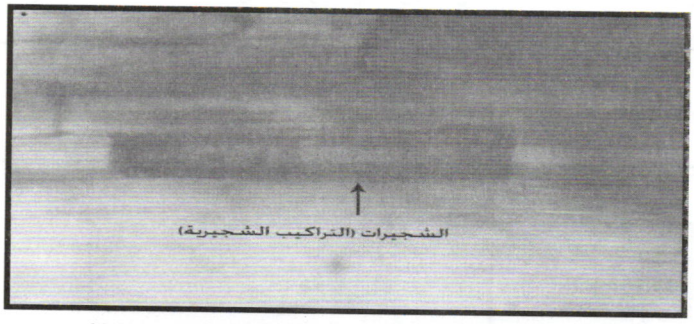
النتائج والمناقشة

أستخدم نبات البصل كنبات عائل لغرض تنشيط فطريات المايكورايزا خلال إصابتها أياه والنمو في مجموعه الجذري. واستخدمت طريقة الوسادة لإضافة السماد الفطري والتي تساعد في وضع فسقه البصل بالقرب من التراكيب

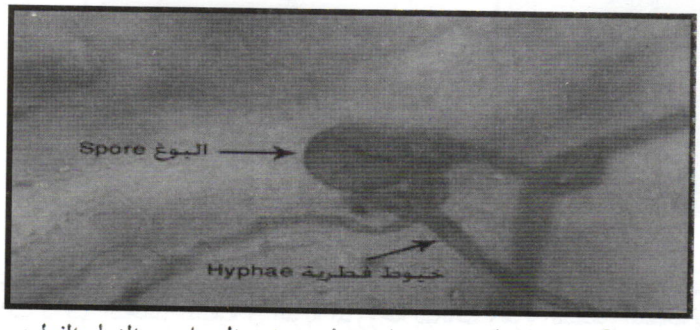
التكاثريـــة فيه ممـــا يزيد من فرصـــة هذه الجذور في الإصابة بالمايكورايزا **VAM** (22). أظهرت النتائج أن الفطـــر ***G. etunicatum*** نجح في إصابة جذور نبات البصل وذلك عند تصبيغها بصبغة الفوكسين ألحامضي، حيث كانـــت نسبة الإصابة 70-80% جرى فحص التراكيب التكاثرية بالمجهر الضوئي وكما يظهر في الصور (1، 2 و 3).



صورة 1: إصابة فطرية لجذور نبات البصل (40x).

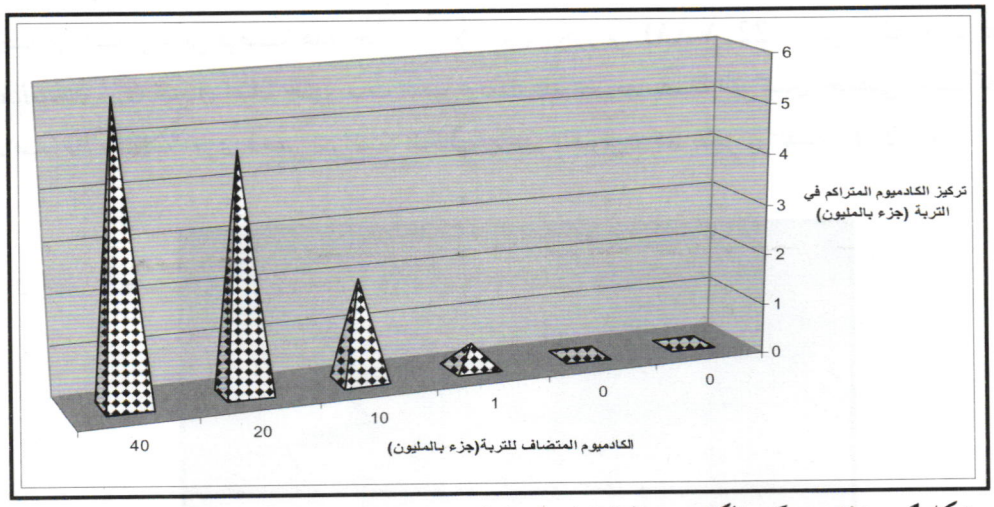


صورة 2: الشجيرات داخل خلايا الجذور لنبات البصل (400x).



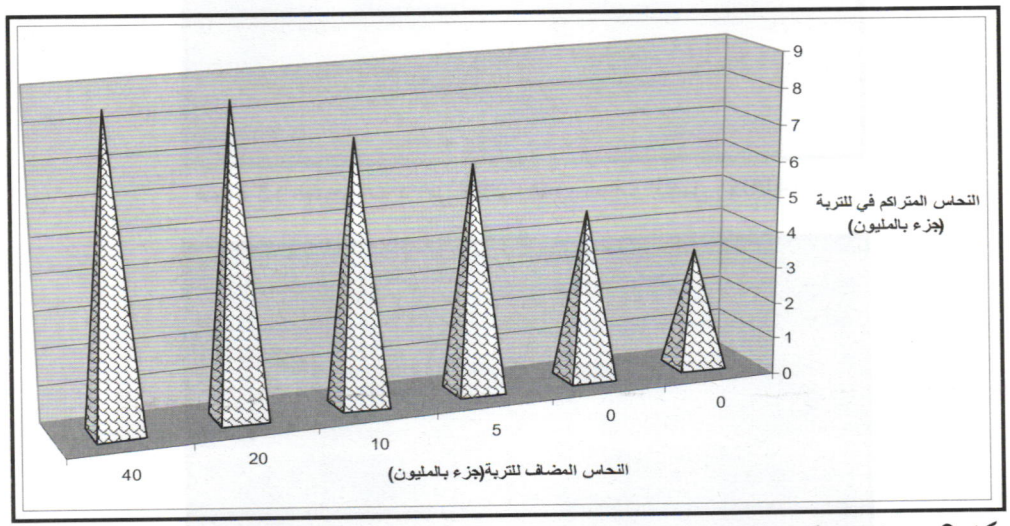
صورة 3: بوغ للفطر داخل خلايا جذور نبات البصل مع الغزل الفطري (400x).

يوضح الشكل (1) تراكم الكادميوم في التربة وارتباطه فيها حيث أن الكادميوم عنصر غير متحرك في التربة القاعدية (1) وقد يكون التغير في مستوياته في التراكيز المختلفة كان بسبب فعل المايكورايزا التي تعمل على استخلاص المكونات من التربة ونقلها إلى النبات، وإن سبب بقاء كميات كبيرة من الكادميوم في التربة يعود لتـــأثيره الـــسمي في نشاط وفعالية المايكورايزا مما أدى إلى تعطيل ميكانيكية الاستخلاص الحيوي، ويلاحظ من النتائج أنه عند المعاملة بالفطر ***G. etunicatum*** أظهر فعالية أعلى في استخلاص الكادميوم من التربة في التراكيز الواطئة منه التراكيز العالية (3). أظهر الفطر ***G. etunicatum*** فعالية أعلى في استخلاص الكادميوم من التربة بسبب الاختلافات الجينية لفطريـــات المايكورايزا مما أدى إلى الاختلاف في كفاءة الإصابة المايكورايزية في التربة الملوثة بالعناصر الثقيلة وتأثيراتها السمية (3).



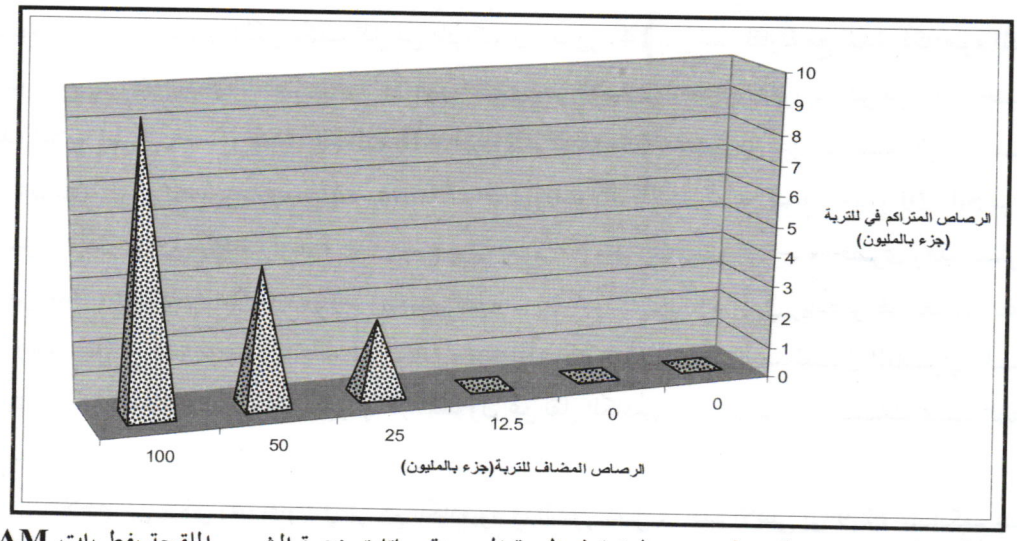
شكل1: معدلات تركيز الكادميوم المتبقية في التربة المزروعة بنباتات زهرة الشمس الملقحة بفطريات VAM

يلاحظ في الشكل (2) أن كمية النحاس الموجودة في التربة قبل إضافة معاملات النحاس اليها هي 30 جزء بالمليون وهذا ما يفسر النتائج المتحصل عليها والتي تظهر بقاء كميات كبيرة منه في التربة والتي لم تؤثر في نشاط فطريات المايكورايزا في استخلاص النحاس من التربة (5).



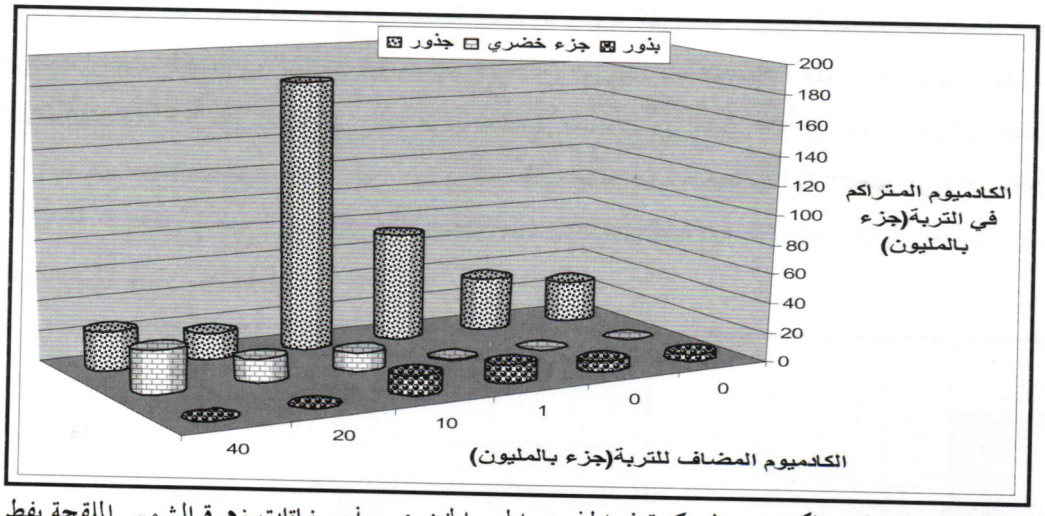
شكل 2: معدلات تركيز النحاس المتبقية في التربة المزروعة بنباتات زهرة الشمس الملقحة بفطريات VAM

يبين شكل (3) أن المايكورايزا بأنواعها الثلاثة ذات كفاءة عالية في اخذ الرصاص من التربة حيث استخلصت الملوث تماماً في المعاملة الأولى 12.5 جزء في المليون، إضافة الى الموجود منه في التربة أساساً وهو 6 جزء في المليون. واستمرت الفعالية حتى في أعلى تركيز وهو 100 جزء بالمليون. ويعتقد إن ذلك يعود إلى قابلية تأقلم هذه الفطريات في الأراضي الملوثة بالرصاص بسبب تكرار تلقيحها في ترب ملوثة، وهذا ما تؤيده التقارير العلمية المنجزة في مركز الربيع- وزارة الصناعة والمعادن مما يجعلها أكثر كفاءة وذلك بسبب التغير الذي يحدث في النظام الجيني المتخصص على الرغم من أن الحد المسموح به في التربة هو 100-300 جزء في المليون.



شكل 3: معدلات تركيز الرصاص المتبقية في التربة المزروعة بنباتات زهرة الشمس الملقحة بفطريات VAM

يبين شكل (4) زيادة تراكم الكادميوم في الجذور طردياً مع التركيز زيادة معنوية خاصة في التركيز 10 جزء بالمليون في الجذر المصاب بالفطر، وقد يعود السبب في ذلك لوجود أربعة أنواع من العوامل الجينية الناقلة لـه وهـي IRT1 عن طريق الغشاء البلازمي وTcZNT1 إضافة إلى ناقلات ABC وناقلات Cation /H^+antiporters التي تعمل على تجميع الكادميوم في الفجوات داخل خلايا الجذر (14) وذلك بسبب الجاهزية العالية للكادميوم الـتي تتصف بذوبانية عالية في محلول التربة وبالتالي زيادة امتصاصها من قبل النبات. أما في التركيز 20 و40 جزء في المليون فقد أنخفض تركيز الكادميوم بسبب موت الأنسجة النباتية المبكر مما أدى إلى موت النبات الكلي وهذا ينعكس علـى الكميات الممتصة من هذا العنصر والواصلة للبذور.

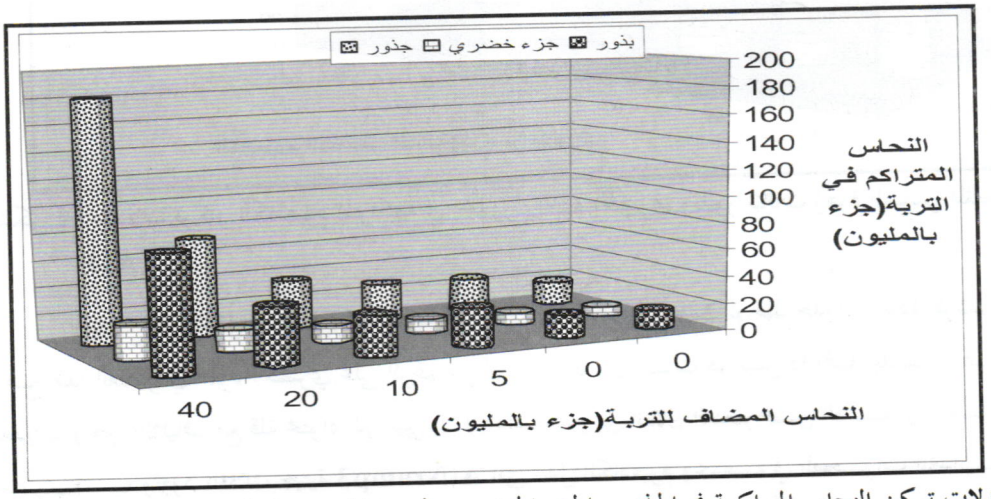


شكل 4: معدلات تركيز الكادميوم المتراكمة في الجذور والجزء الخضري وبذور نباتات زهرة الشمس الملقحة بفطريات VAM

يتضح من شكل (4) الفروق المعنوية بين معاملات الكادميوم حيث لوحظ حدوث زيادة طرديـة وتـراكم واضح لهذا العنصر في الجزء الخضري على الرغم من أن هذا الجزء في النبات هو ليس ذا أهمية غذائيـة نظـراً الى قلـة المغذيات وكثرة الألياف مع قلة محتواه ألبروتيني إلا أن ذلك يشير إلى انتقال العنصر مـن التربـة إلى الجـذور والجـزء الخضري بسبب وجود ناقلات جينية AtNramp3 التي تنقل الكادميوم وتجمعـه في الفجـوات الغذائيـة في الجـزء الخضري كذلك ناقلات TgMIP1 التي تنقل الكادميوم إلى فجـوات الأوراق ونـاقلات TcZNT1 الـتي تنقـل

الكادميوم إلى الجزء الخضري ولكن بكمية أقل من المتراكم في الجذور (14). وعند المقارنة مع كمية الكادميوم المتراكمة في الجذور مع المتراكم في الجزء الخضري نجد أن الجذور تحتوي على كمية تزيد حوالي 5 مرات أكثر من الجزء الخضري وهذه النتائج تتفق مع ما وجده Rivera-Becerril وجماعته (23) عند دراستهم للمايكورايزا نوع *G. intrakadisces* مع نبات *Pisum satium*، حيث وجدوا أن الكادميوم يتراكم في الجذور 20–50 مرة أكثر من المجموع الخضري، وفسر ذلك بوجود عدة أنواع نباتية تقف أمام نقل الكادميوم إلى الجزء الخضري وهذا السلوك هو واحد من عدة إستراتيجيات لتحمل الملوثات. وتؤدي فطريات المايكورايزا دوراً إضافياً في زيادة تراكم العناصر الثقيلة في النبات وهذا يتفق مع ما توصل إليه Leyval وJoner (15) فقد وجدا أن الغزل الفطري الخارجي (Extraradical hyphae) للمايكورايزا هو المسؤول عن نقل الكادميوم من التربة إلى النبات عند التلقيح بفطريات المايكورايزا.

نلاحظ من شكل (4) تفاوتا في تراكم الكادميوم في البذور يصل في حده الأعلى إلى 12.9 مايكغم غم$^{-1}$ وزن جاف بذور في المعاملة مع فطريات *G.etunicatum* الذي أظهر كفاءة عالية في استخلاص الكادميوم، ومن ثم انتقاله إلى البذور وهذا يتجاوز الحد المسموح به الذي يتراوح بين 0.05–0.2 جزء في المليون ويصل إلى حد السمية التي تتراوح بين 5–30 جزء في المليون. ولكن عند المقارنة مع كميات الكادميوم المتراكمة في الجذور والجزء الخضري مع البذور يلاحظ إن هنالك القليل من الكادميوم قد وصل إلى البذور، وقد تم تفسير ذلك بوجود إستراتيجية لارتباط العنصر الثقيل مع الجدار الخلوي للجذور والمجموع الخضري مما يقلل من تراكيز هذه العناصر في البذور، وهنالك ميكانيكية أخرى للنباتات المتحملة لسمية العناصر الثقيلة تعتمد على إزالة السمية (Detoxification) وإفراز مواد لفجوات الخلايا بوساطة جزيئات الميتالوثايونينات (Metallothioneins) والفايتوكلينات (Phytochelatins) (5، 6). يبين الشكل (5) دور المايكورايزا VAM في امتصاص ونقل النحاس من خلال الجذور فعند ملاحظة القيم في المعاملات الملقحة بالمايكورايزا بالمقارنة مع غير الملقحة نجد فروقاً معنوية كبيرة تشير إلى زيادة كفاءة النبات في تجميع النحاس فقد ارتفعت الكمية المتراكمة من 18 مايكغم/غم جذور إلى 26 مايكغم غم$^{-1}$ جذور عند التلقيح بفطريات *G.etunicatum*. كما تشير النتائج إلى زيادة طردية عالية في معاملات هذا الفطر نظراً الى مقاومته للتراكيز العالية من النحاس فقد كانت النتائج معنوية. ومن الجدير بالذكر أن هنالك عائلة جينية متخصصة لنقل النحاس إلى داخل الخلايا منها RANI التي تنقل النحاس إلى عموم أجزاء النبات حيث يعود هذا النوع من الجينات إلى العائلة الجينية H.M.ATPase (P12) (14).



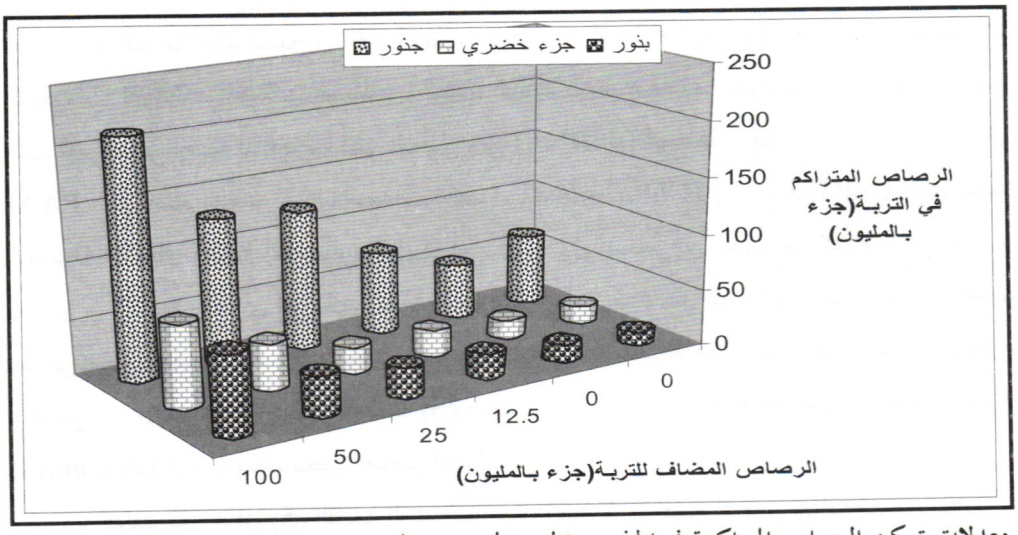
شكل 5: معدلات تركيز النحاس المتراكمة في الجذور والجزء الخضري وبذور نباتات زهرة الشمس والملقحة بفطريات VAM

إما عند ملاحظة النتائج في الجزء الخضري شكل (5) نجد أن هنالك فروقا معنوية بين المعاملات الملقحة بالمايكورايزا VAM والمعاملات غير الملقحة بسبب الفعالية المتخصصة لهذه الفطريات في نقل وتجميع عنصر النحاس حيث نجد العوائل الجينية المتخصصة لنقل النحاس مثل RNAI التي تجمع هذا العنصر في أجسام كولجي والنوع PAAI الذي يجمع النحاس في البلاستيدات الخضراء (Chloroplast) والنوع CoPT-5 الذي ينقل ويجمع النحاس في الأوراق والساق مما يساعد في زيادة احتمال وصول النحاس إلى البذور وتراكمه فيها، وكذلك يلاحظ إن المتراكم في المجموع الخضري أقل بكثير مما هو موجود في الجذور حيث يقل المتراكم من النحاس عند التلقيح بالمايكورايزا وبالعكس يزداد أخذ النحاس في المستويات الدنيا له بالمقارنة مع النباتات غير الملقحة بالمايكورايزا وهذا ما توصل إليه Weissenhorn وجماعته (25) عند دراستهم تأثير التلقيح بالمايكورايزا لنبات الذرة الصفراء (*Zea mays*) في تربة ملوثة ببعض العناصر الثقيلة.

كذلك يبين شكل (5) القابلية العالية لفطريات VAM في تجميع النحاس في البذور عند المقارنة بالمعاملات غير الملقحة بالفطريات VAM ويلاحظ ذلك أيضاً في معاملات النحاس التي يزداد فيها تراكم النحاس بزيادة التراكيز المضافة للتربة ولكن تبقى نسبة المستحصل عليها ضمن المسموح به في المعايير الدولية حيث يكون التركيز 5–20 جزء في المليون مناسباً وغير سام بينما كانت أعلى نسبة متراكمة في تركيز 40 ملغم/كغم هي 17.5 مايكغم/غم وزن جاف بذور. ويلاحظ أن أعلى امتصاص وتراكم للنحاس هو في الجذور بالمقارنة مع ما يتراكم في المجموع الخضري والبذور (7) عند دراستهم للمايكورايزا وتأثيرها في تراكم الكروم في نبات زهرة الشمس فقد وجدوا إن الكروم يتجمع في الجذور ويتراكم هنالك بنسبة أكبر من المجموع الخضري والأزهار.

يلاحظ من الشكل (6) أن كمية الرصاص في الجذور المعنوية بزيادة التراكيز وذات تأثير كبير خاصة بالنسبة للنوع G. etunicatum، على الرغم من أن هنالك ناقلاً جينياً وحيداً معروفاً حتى الآن متخصصاً ينقل الرصاص، وهو القنوات المعروفة (GNGC). هذه القنوات تنقل الرصاص عن طريق الغشاء البلازمي إلى داخل الخلية وتعمل على تجميعه داخل خلايا النبات حيث اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه عزيز (1) من أن للرصاص قابلية تراكمية عالية في أنسجة جذور النباتات، حيث وصلت أعلى كمية متراكمة للرصاص 212.5 مايكغم/غم وزن جاف وهذه الكمية ضمن الحدود غير المسموح بها عالمياً.

يوضح الشكل (6) عدم وجود زيادة معنوية في الجزء الخضري بين السيطرة الموجبة الملقحة بالمايكورايزا والسيطرة السالبة غير الملقحة بالمايكورايزا مما يشير إلى ان التأثير الإيجابي لفطريات VAM لم يكن واضحاً في هذا الجزء من النبات، وعند ملاحظة نتائج المعاملات المضافة إليها الرصاص يلاحظ أن المتراكم من هذا العنصر في الجزء الخضري أقل مما في الجذور حيث وجد أن لفطريات *G.mossese* قابلية ضعيفة على تجميع الرصاص في الجزء الخضري. وتوصلا إلى أن المايكورايزا تزيد من سطح الامتصاص عن طريق الهايفات الممتدة إضافة إلى الشعيرات الجذرية وتعمل على شكل حاجز تضيفه ضد نقل المعادن الثقيلة إلى الجزء الخضري للنبات.أما على المستوى الجيني فأن المسؤول عن نقل الرصاص إلى داخل الخلايا عن طريق الغشاء البلازمي هي قنوات GNGC التي لها دور رئيس في عملية تراكم الرصاص في النبات (11). تشير النتائج في الشكل (6) إلى أن هنالك نسبة عالية من الرصاص تتجمع في بذور زهرة الشمس تصل إلى 85 مايكغم غم$^{-1}$ وهذه الكمية تقع ضمن الحدود المسموح بها والتي تحددها المعايير العالمية 30–300 جزء بالمليون حيث لا تشكل خطراً على الصحة العامة عند تناولها مباشرة من قبل الإنسان كغذاء أو الأعلاف الحيوانية (20).



شكل 6: معدلات تركيز الرصاص المتراكمة في الجذور والجزء الخضري وبذور نباتات زهرة الشمس الملقحة بفطريات VAM.

عند تحليل نتائج دليل الاعتمادية المايكورايزية (Myccorhizal Independency Index) (جدول 3) لتأثير التلقيح بالمايكورايزا نجد بأن تأثير سمية الكادميوم لنبات زهرة الشمس قد ازداد بارتفاع التركيز ولم تتأثر نسبة الجذور إلى الجزء الخضري تأثراً معنوياً بالمقارنة مع السيطرة السالبة، وأن النسبة المئوية لتأثير VAM قد انعدمت في جميع المعاملات مما يشير إلى فشل VAM في الإصابة بسبب التأثير السام للكادميوم على فطريات VAM.

جدول 3: تأثير تراكيز مختلفة من الكادميوم في الوزن الجاف لنبات زهرة الشمس المصابة بالمايكورايزا VAM نوع *G. etunicatum* ودليل الاعتمادية المايكورايزية

المعاملة بالكادميوم جزء بالمليون	*G. etunicatum*			
	(جزء خضري/غم)	(جذر/غم)	(نبات/غم)	الاعتمادية المايكورايزية (%)	نسبة الجذر/الجزء الخضري
السيطرة السالبة	3.51	0.42	3.93	-	0.12
السيطرة الموجبة	4.13	0.57	4.7	19.592	0.138
1	4.75	0.5	5.25	33.587	0.105
10	4.53	0.46	4.99	26.972	0.102
20	4.51	0.37	4.88	24.173	0.082
40	2.45	0.34	2.79	-29.007	0.139

يوضح جدول (4) أن التلقيح بفطريات *G.etunicatum* لم يكن ذا تأثير معنوي. حيث كانت النسبة المئوية لتأثير التلقيح بالمايكورايزا 19.5%. أما عند إضافة تراكيز مختلفة من النحاس فلم يكن هنالك تأثير سلبي بل إيجابي على النبات بسبب ندرة عنصر النحاس في التربة المغسولة، حيث كان ذلك عند إضافة 5 جزء في المليون. وعند زيادة التركيز إلى 10 جزء في المليون فقد صار ذا تأثير سمي للنحاس حيث انخفض دليل الاعتمادية المايكورايزية من 31% إلى 0.76% وأستمر حتى وصلت إلى الحد القاتل للنبات. يشير ذلك إلى التثبيط الحاصل في فطريات المايكورايزا أو التأثيرات السمية التي ثبطت نمو النبات والفطر على حد سواء (18، 19)، أما في بقية المعاملات فلم تكن النباتات معتمدة على الفطر في النمو.

جدول 4 : تأثير تراكيز مختلفة من النحاس في الوزن الجاف لنبات زهرة الشمس المصابة بالمايكورايزا VAM نوع *G. etunicatum* ودليل الاعتمادية المايكورايزية

المعاملة بالنحاس جزء في المليون	*G. etunicatum*				
	(جزء خضري/غم)	(جذر/غم)	(نبات/غم)	الاعتمادية المايكورايزية (%)	(نسبة الجذر/الجزء الخضري)
السيطرة السالبة	3.51	0.42	3.93	-	0.12
السيطرة الموجبة	4.13	0.57	4.7	19.592	0.138
5	4.71	0.44	5.15	31.043	0.093
10	3.65	0.31	3.96	0.763	0.084
20	3.2	0.28	3.48	-11.45	0.087
40	2.84	0.23	3.07	-21.882	0.08

يوضح الجدول (5) اعتمادية النبات على فطريات المايكورايزا في المعاملتين 12.5 و25 جزء في المليون، إذ وصل دليل الاعتمادية المايكورايزية إلى 108% و105.3%، ولكن عند الصعود بالتركيز إلى 50 جزء في المليون كانت الاعتمادية المايكورايزية 42.7% وتدنت إلى 17.3%، مما يشير إلى إن النبات لم يكن معتمداً على المايكورايزا. لقد كانت نسبة الجذر/الجزء الخضري في معاملات الرصاص جميعاً مقاربة للسيطرة الموجبة عدا المعاملة الأخيرة 100 جزء في المليون، حيث كانت نسبة الجذر/الجزء الخضري 0.19 وذلك بسبب زيادة الوزن الجاف للمجموع الجذري مقارنة بالمجموع الخضري بسبب التأثير السام للرصاص.

جدول 5: تأثير تراكيز مختلفة من الرصاص في الوزن الجاف لنبات زهرة الشمس المصابة بالمايكورايزا VAM نوع *G. etunicatum* ودليل الاعتمادية المايكورايزية

المعاملة بالرصاص جزء في المليون	*G . etunicatum*				
	(جزء خضري/غم)	(جذر/غم)	(نبات/غم)	الاعتمادية المايكورايزية (%)	نسبة الجذر/الجزء الخضري
السيطرة السالبة	3.51	0.42	3.93	-	0.12
السيطرة الموجبة	4.13	0.57	4.7	19.592	0.138
12.5	7.26	0.95	8.21	108.905	0.13
25	7.13	0.94	8.07	105.343	0.131
50	4.95	0.66	5.61	42.748	0.133
100	2.73	0.52	3.25	-17.302	0.19

المصادر

1- عزيز، أحمد محمد (1995). تأثير بعض العناصر الثقيلة في المخلفات الصلبة ومياه المجاري على نمو نبات الخس وتلوث التربة. رسالة ماجستير–كلية الزراعة– جامعة بغداد، العراق.

2- Bremner, J. M. and C.S. Mulvaney (1982). Nitrogen-total. p: 595-624. In: A. L. Page (ed.), methods of soil analysis Agron. No. 9, Part 2: chemical and microbiological properties, 2nd ed., Am. Soc. Agron, Madison, Wisc, USA.

3- Celik, S. and S. Arcak (2002). Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on the growth and uptake of some heavy metals by oat. International conference on sustainable land use and management. Ianakkaŕa.

4- Chandrashekara, C.P.; V.C. Patil and M.N. Screenivasa (1995). VA-mycorrhiza mediated effect on growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) at different levels. Plant Soil, 176: 325-328.

5- Cobbett, C.S. and P.B. Goldsbrough (2000). Mechanisms of metal resistance: phytochelatins and metallothioneins. In: Raskin, I.and B.D. Ensley (eds). Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. London: John Wiely and Sons, 247-269.
6- Cobbett, C.S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. Plant Physiology, 123: 825-832.
7- Davies, F.T. (2005). Texas A and M University. http://aggie-horticultureedu/facultv/davies/index.htm1
8- Davies, F.T. and R.G. Linderman (1991). Short term effects of phosphorus VA-mycorrhizal fungi on nutrition, growth and development of *Capsicum annuum* L. Scientia Horticulturae, 45: 333-338.
9- Davies, F.T.; J. D. Puryear; R.J. Neuton; N.E. Janathan and J.A. Saraiva (2001). Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). J. Plant Physiol., 158: 777-786.
10- Davies, F.T.; J.D. Purgear; R.J. Newton; J.N. Egilla and J.A. Saraiva (2002). Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: Influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange. J. Plant Nutrition, 25(11): 2389-2407.
11- Gaur, A. and A. Adholeya (2004). Prospects of arbascular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. Current Science, 86(4): 528-534.
12- Gerdenann, J.W. and T.H. Nicolson (1963). Spores of mycorrhizal Endogone extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc., 46: 235-244.
13- Guo, Y.; E. Goerge and H. Marschner (1996). Contributed of an Arbuscular Mycorrhizal fungus to the uptake of Cadmium and Nickel in Bean and Maiz Plants. Plant Soil, 184: 195-205.
14- Hall, J. and L. E. Williams (2003). Transition metal transporters in plants. J. Exp. Botany, 54(393): 2601-2613.
15- Joner, E.J. and C. Leyval (1997). Uptake of Cd109 by roots and hyphae of *G. mosse*, *Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amennded with high and low concentration of cadmium. New Phytol., 135: 353-360.
16- Kormanik, P.; P. Bryan; W. Craig and R. C. Schultz (1980). Procedures and equipment for staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal assay can. J. Microbial., 26: 536-538.
17- Kumpulainen, J. and M. Paakki (1987). Analytical quality control program used by the trace elements in foods and diets subnet work of the FAO European cooperative network on trace element fresenius Z. Annual Chem., 326: 684-689.
18- Li, Y. and M.A. Trush (1993a). DNA damage resulting from the oxidation by copper: role for a Cu (II)/Cu(I) redox cycle and reactive oxygen generation. Carcinogens, 7: 1303-1311.
19- Li, Y. and M.A. Trush (1993b). Oxidation of hydroquinione by copper: chemical mechanism and biological effects. Biochemica et Biophysica Acta, 300: 346-355.
20- Medina, M.J. H.; H. Gagnon; Y. Piche; J.A. Ocampo; J.M.G. Garrido and H. Vierheilig (2003). Root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi is affected by the salicylic acid content of the plant. Plant Sci., 164(6): 993-998.
21- Mosse, B. and C. Hepper (1975). Vesicular-arbscular mucorrhizal infection in root organ culture. Physiol. Plant Pathol., 5: 215-218.
22- Owusn-Bennoah, E. and B. Mosse (1979). Components of VA mycorrhizal inoculum and their effects on growth of onion. New Phytol., 87: 355-361.

23- Rivera-Becerril, F.; C. Calantzis; K. Turnau; J. Caussanel; A. Belimov; S. Gianinazzi; R.J. Strasser and V. Gianinazzi-Pearson (2002). Cadmium accumulation and buffering of Cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. J. Exp. Botany, 53(371): 1177-1185.

24- Watanable, F.S. and S.R. Olsen (1965). Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and $NaHCO_3$ extracts from soil. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 29: 677-678.

25- Weissenhorn, I.; C. Leyval; G. Belgy and J. Berthelin (1995). Arbuxscular mycorrhizal contribution to heavy metal on maize (*Zea mays* L.). In pot culture with contamination soil. Mycorrhizae, 5: 245-251.

THE INFLUENCE OF VAM MYCORRHIZA TYPE *Glomus etunicatum* ON GROWTH OF SUNFLOWER (*Helianthus annuus*) AND UPTAKE OF Cd, Cu and Pb IN POLUTED LOAM SOIL

M. S. Y. Al-Attabi* M. T. Al-Kaisey** B. Z. Ali***

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the possibility of utilization of three vesicular-arbuscular mycorrhizae (VAM) to bioremediate the soil contaminated with three heavy metals, included Cd, Cu and Pb using sunflower plants (*Helianthus annuus*) as test plants, VAM fungi used were *Glomus etunicatum*. Study on the effect of these heavy metals on VAM fungi and plants were carried out under controlled conditions and sterilized soil. The results showed the following:

1- Significant increase in dry weight of the root system of the VAM inoculated plants compared to the negative control, results showed also variable effect of heavy metals on the dry weight of shoot system.

2- Significant adverse or negative effect of Cd and Cu on the dry weight of the root and shoot system with the increasing concentrations of heavy metals applied to the soil and non significant effect at the concentration 50 and 100 ppm. of the metal Pb on the root and shoot system of plants inoculated with VAM fungi.

3- The VAM showed high efficiency for extraction of the three heavy metals from the soil at low concentrations and reduction of this efficiency at high concentrations.

4- Increase in accumulation rate of heavy metals in root system with the increasing concentrations of the three heavy metals, compared to shoot system, which showed rate of accumulation almost five times, lower than the roots.

5- The rate of Cd accumulation in the seeds of the plant was within the toxic levels, it recorded 12.9 ppm. In the plants inoculated with *G. etunicatum*, this indicates the efficiency of this VAM species to remove this metal from the soil, i.e. within the toxic levels and probably present a risk to human health.

Part of PhD. Theses of the first author

* General Board of Date Palm, Ministry of Agric., Baghdad, Iraq.

** Ministry of Agric., Baghdad, Iraq.

*** College of Education Ibn Al-Haitham, Baghdad Univ., Iraq.