

Original article

Effect of polyvinyl chloride and cadmium on absorption and accumulation of nutrients under symbiotic fungi in foxtail millet (*Setaria italica* L.) seedling

Sepideh Nikoumaram¹, Ali Sepehri^{2*}

1. Ph.D student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received 8 August 2024; Revised 27 September 2024; Accepted 7 October 2024

Extended abstract

Introduction

Polyvinyl chloride is one of the dominant microplastic types used in agricultural land and is mainly concentrated in shallow soils (Yang et al., 2022). Cadmium toxicity can damage the metal absorption metabolic mechanisms and affect essential element level control (Mourato et al., 2019). Co-presence of microplastics and heavy metals can cause synergistic, antagonistic, or reinforcing effects on plants, but definitive information is still limited (Kumar et al., 2022). Using symbiotic fungi is a cost-effective and environmentally friendly method to increase plant growth and tolerance to cadmium stress (Kumar and Verma, 2018). We aimed to investigate the polyvinyl chloride effect under cadmium stress and *S. indica* role in modulating the combined stress on the absorption, translocation, and accumulation of important nutrients in foxtail millet root and shoot.

Materials and methods

A factorial, completely randomized design experiment with three replicates was conducted. The investigated factors included 0, 2.5, 5, and 10 mg cadmium kg⁻¹ soil, 0, 0.1, and 1% polyvinyl chloride, and *S. indica* symbiosis (fungus absence and presence). The sterilized seeds were placed in a plastic pot containing 1.5 kg cadmium and microplastic-contaminated soil. Then fungus spore suspension was applied to the seeds. After 60 days, the plant organs were harvested and the plant organs were dried for 48 hours in an oven at 70°C and then weighed. The 0.5 g of milled dry leaves and roots were ashed at 550°C for 5 hours, after the digestion, element contents were measured by an atomic absorption device. The fungal colonization percentage, root-to-shoot ratio, heavy metal tolerance index, and content of macronutrients and micronutrients were calculated. Data were analyzed through the SAS (9.4) statistical program and means values were compared by LSD test ($P < 0.05$).

Results and discussion

The results of the data variance analysis showed that the combined effect of cadmium and polyvinyl chloride on the examined traits was significant at the 1% probability level, except for the Ca and K contents in root, Cd contents in root and shoot, which was at the 5% probability level. The presence of microplastic improved colonization percentage, metal tolerance index, root and shoot dry weight, so decreased root/shoot in cadmium-stressed plants. Microplastic reduces the negative effects of heavy metal on the dry weight of roots and shoots due to the property of maintaining heavy metal on their surface (Dong et al., 2022). Cadmium reduced contents of Na, K, Mg, Ca, Cu, Mn, and Zn in root and shoot, and the presence of a microplastic increased their contents in shoot and root only in 10 mg cadmium except Ca and Zn that was in shoot. Microplastics can bind to root surfaces (Yang et al., 2021),

* Corresponding author: Ali Sepehri; E-Mail: a_sepehri@basu.ac.ir

reduce root activity and heavy metal absorption (Dong et al., 2022), and increase nutrient absorption. Moreover, microplastics have a lower absorption capacity for metal pollutants in the soil, and due to their diluting properties; they can increase metal mobility and availability (Zhang et al., 2020). Fe content decreased in the shoot and increased in the root under cadmium toxicity. Co-treatment of cadmium and microplastic just increased Fe root content in 0.1% PVC and 2.5 mg Cd. The formation of Fe-Mn plaques on the roots increases the cadmium chelation in the rhizosphere and root surfaces, which can act as a barrier to protect the plant against cadmium toxicity (Liu et al., 2010). *S. indica* increased plant dry weight and macronutrient and micronutrient contents in the shoots and the roots. It is due to plant hormone production and increased absorption of micronutrients and macronutrients by the roots (Zahoor, 2017). The mentioned fungus also improves the metal tolerance index by elevating cadmium content in the root and alleviating it in the shoot. This can be related to the binding of metals to the fungal hyphae cell walls and their transfer reduction to the plant's above-ground parts (Baghaie et al., 2021).

Conclusion

The results showed that polyvinyl chloride can modulate cadmium's adverse effect on the foxtail millet shoot in cadmium-contaminated soil and reduce the entry of cadmium into the food chain. In addition, *S. indica* increases the plant's tolerance to cadmium and microplastic stress conditions by increasing water availability and nutrient absorption, increasing cadmium accumulation in the roots, and reducing its transfer to the shoots. Considering the complexity of different soil-plant systems, this conclusion needs further investigation and cannot be generalized to other cases.

Keywords: Cadmium, Microplastic, Micronutrient, Macronutrient, *Serendipita indica*

<https://doi.org/10.22077/escs.2025.8011.2303>

مقاله پژوهشی

اثر پلی‌وینیل کلراید و کادمیوم بر وضعیت تغذیه‌ای و شاخص تحمل گیاهچه‌های ارزن دم‌روباهی (*Setaria italica* L.) تحت تأثیر قارچ همزیست

سپیده نیکومرام^۱، علی سپهری^{۲*}

۱. دانشجوی دکتری آگروتکنولوژی- فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
۲. دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی: کادمیوم عناصر پرمصرف عناصر کم‌مصرف میکروپلاستیک <i>Serendipita indica</i>	استفاده گسترده از محصولات پلاستیکی و صنعتی شدن یک نگرانی جهانی در مورد میکروپلاستیک‌ها و ترکیب آنان با فلزات سنگین در اراضی کشاورزی ایجاد کرده است. با توجه به نقش مهم عناصر غذایی در رشد گیاه، حضور میکروپلاستیک‌ها در اراضی آلوده به کادمیوم می‌تواند منجر به اختلال در جذب، انتقال و تجمع آن‌ها در اندام گیاه شود. از طرفی دیگر، قارچ‌های همزیست با بهبود جذب عناصر غذایی و حفظ رشد به گیاه میزبان در تحمل تنش‌های محیطی کمک می‌کنند. این پژوهش با هدف بررسی اثر قارچ همزیست <i>Serendipita indica</i> بر جذب، انتقال و تجمع عناصر مهم مغذی در گیاه ارزن دم‌روباهی تحت تنش کادمیوم و آلودگی میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل چهار سطح کادمیوم (صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، سه سطح میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید (صفر، ۱/۱ و ۱ درصد)، در دو سطح همزیستی و عدم همزیستی با قارچ مذکور به‌صورت گلدانی انجام گرفت. نتایج نشان داد با افزایش کادمیوم در خاک محتوای عناصر سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلسیم، مس، روی و منگنز در اندام هوایی و ریشه کاهش می‌یابد. همچنین محتوای آهن در اندام هوایی کاهش ولی در ریشه افزایش یافت. به دنبال تنش کادمیوم وزن خشک ریشه و اندام هوایی و شاخص تحمل فلز کاهش یافته که در نهایت منجر به افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی شد. میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید باعث افزایش تحمل گیاه به فلز سنگین، محتوای برخی عناصر و رشد گیاهچه‌ها تحت تنش کادمیوم شد. همزیستی با قارچ <i>S. indica</i> جذب عناصر ضروری برای رشد مطلوب گیاه در شرایط سمیت کادمیوم و در حضور میکروپلاستیک را افزایش داد. این موضوع نشان‌دهنده نقش مفید قارچ مذکور در تعدیل تنش کادمیوم و آلاینده‌های میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید در گیاه ارزن دم‌روباهی است.

مقدمه

مواد پلاستیکی بزرگ‌تر حاصل می‌شوند (de Souza Machado et al., 2018). از آنجایی که این ترکیبات در سال‌های اخیر به‌طور مداوم در حال ورود به محیط‌های طبیعی و کشاورزی هستند توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (Saud et al., 2023). در میان انواع میکروپلاستیک‌ها، پلی‌وینیل کلراید (PVC) یکی از انواع غالب مورد مصرف در زمین‌های کشاورزی بوده که عمدتاً در خاک‌های کم‌عمق متمرکز می‌شود (Yang et al., 2022).

پلاستیک‌ها مجموعه‌ای از مواد پلیمری سنتز شده شیمیایی هستند که کاربرد فراوانی در زندگی روزمره انسان دارند (Galloway et al., 2017). با این حال استفاده زیاد، پایین بودن سرعت بازیافت و تداوم اثرات نامطلوب احتمالی این مواد بر اکوسیستم‌های خاکی، به‌طور بالقوه پیامدهای منفی قابل توجهی را به دنبال داشته و به یک نگرانی زیست‌محیطی جهانی تبدیل شده است (Zhou et al., 2020). میکروپلاستیک‌ها ذرات پلاستیکی با اندازه کوچک‌تر از ۵ میلی‌متر بوده و عموماً از انتشار مستقیم محیطی یا تجزیه

زیستی و غیرزیستی از جمله کادمیوم در گیاه مؤثر است؛ چراکه این قارچ از طریق سیستم جداسازی یا کلاته کردن باعث تجمع فلز سنگین در ریشه شده و از انتقال آن به اندام هوایی جلوگیری می‌کند (Sepehri and Khatabi, 2021). نقش مثبت قارچ‌های اندوفیت ریشه‌ای در افزایش تحمل به تنش کادمیوم در گیاهان مختلفی نظیر تنباکو (Hui et al., 2015)، یونجه (Sepehri and Khatabi, 2021) و آفتابگردان (Shhabivand et al., 2020) گزارش شده است. با توجه به مطالعات اندک در رابطه با اثر تنش هم‌زمان میکروپلاستیک‌ها و کادمیوم بر فیزیولوژی گیاهان زراعی و اثر قارچ‌های اندوفیت بر تعدیل این تنش‌های محیطی، هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید در شرایط تنش کادمیوم و نقش قارچ همزیست *S. indica* در تعدیل تنش ترکیبی بر وضعیت عناصر غذایی در ریشه و اندام هوایی گیاه ارزن دمروباهی بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل با سه عامل میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید در سه سطح شامل ۰، ۰/۱ و ۱ درصد وزنی، کادمیوم ($CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$) در چهار غلظت ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک ($mg\ kg^{-1}\ soil$) و قارچ *S. indica* در دو سطح تلقیح و عدم تلقیح، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام شد. خاک آزمایشی از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر مزرعه تحقیقاتی دانشگاه جمع‌آوری و سپس در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت اتوکلاو شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اولیه خاک در جدول ۱ ارائه شده است. تعیین غلظت نیتروژن خاک، از طریق هضم با سولفوسالسیلیک اسید و دستگاه کج‌دال صورت گرفت. غلظت عناصر فسفر، پتاسیم و کادمیوم در خاک نیز به روش هضم خشک و به ترتیب قرائت با دستگاه اسپکتروفتومتر، فلیم‌فتومتر و جذب اتمی تعیین گردید (Kalra, 1997; Jackson, 1967).

بذر ارزن دمروباهی (*Setaria italica* L.) رقم باستان، از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در تابستان سال ۱۴۰۰ تهیه شد.

آلوده سازی خاک به عنصر کادمیوم با استفاده از کلرید کادمیوم و ذرات میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید (با قطر ذرات ۷۵ میکرومتر) انجام گرفت. ابتدا مقدار کلرید کادمیوم

فلزات سنگین نیز از آلاینده‌های رایج موجود در خاک به‌ویژه در مزارع کشاورزی هستند (Li et al., 2019). این فلزات از مسیرهای مختلف وارد خاک شده و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. برخی از فعالیت‌ها مانند کوددهی، استخراج معادن و آبیاری مزارع با استفاده از فاضلاب منجر به ایجاد آلودگی فلزات سنگین در خاک می‌شوند (Liu et al., 2023b). فلز سنگین کادمیوم به دلیل تجزیه‌ناپذیری، انتقال پویا و تجمع آسان در موجودات زنده مختلف از جمله گیاهان، به‌عنوان یک عنصر خطرناک برای محیط‌زیست و سلامت انسان شناخته شده است (Shah et al., 2021). تجمع بیش‌ازحد کادمیوم فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان را مختل کرده و منجر به کمبود تغذیه‌ای، تشدید تنش اکسیداتیو و کاهش رشد و نمو گیاه می‌شود (Ahmad et al., 2021). همچنین سمیت کادمیوم به‌خودی‌خود می‌تواند به مکانیسم‌های متابولیکی جذب فلز آسیب برساند و بر تعادل طبیعی ایجاد شده برای کنترل سطوح عناصر غذایی ضروری تأثیر بگذارد (Mourato et al., 2019).

غلظت عناصر غذایی در گیاه در شرایط تنش کادمیوم به نوع گونه و اندام گیاهی بستگی دارد (Ismael et al., 2019). گزارش شده میکروپلاستیک‌ها می‌توانند فلزات را جذب کرده و به‌عنوان حامل آن‌ها در سامانه‌های خاک-گیاه عمل کنند (Abbasi et al., 2020). انتظار می‌رود که حضور میکروپلاستیک‌ها در خاک، تحرک فلزات سنگین را تغییر دهد (Feng et al., 2022). حضور هم‌زمان میکروپلاستیک‌ها و فلزات سنگین می‌تواند اثرات هم‌افزایی، متضاد یا تقویت‌کننده روی گیاهان ایجاد کند، اما اطلاعات فعلی در این زمینه هنوز محدود هستند (Kumar et al., 2022)؛ بنابراین ممکن است اثرات ترکیبی میکروپلاستیک‌ها و فلزات بر رشد گیاه و تجمع فلز سنگین در بافت‌های آن با عوامل ناشناخته تغییر کند (Liu et al., 2023a).

به‌منظور کاهش پیامدهای منفی تنش‌های محیطی، افزایش و حفظ رشد و همچنین تقویت تحمل گیاه میزبان به تنش کادمیوم، استفاده از قارچ‌های مفید همزیست با ریشه گیاهان یک روش مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط‌زیست است (Kumar and Verma, 2018). قارچ اندوفیت *Serendipita indica* با طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی همزیستی ایجاد کرده و در افزایش رشد و عملکرد گیاه میزبان، بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه، افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و همچنین بهبود تحمل به تنش‌های مختلف

پس از ۶۰ روز، گیاهان از سطح خاک برداشت و ریشه‌ها با دقت از خاک استخراج شدند. ریشه‌ها ابتدا به‌طور کامل با استفاده از محلول اتیلن دی‌آمین تتراستیک اسید دی‌سدیم ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$) برای حذف کاتیون‌های چسبیده شسته شده و سپس سه بار با آب مقطر شسته شدند. برای تعیین وزن خشک و غلظت عناصر موردبررسی، اندام‌های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک شده و سپس با ترازوی دقیق (۰/۰۰۱) وزن شدند. شاخص تحمل کادمیوم با استفاده از رابطه ۱ به دست آمد (Marchiol et al., 2004):

$$\text{وزن خشک گیاه تحت تنش} \\ \text{وزن خشک گیاه شاهد} = \text{شاخص تحمل فلز سنگین} \quad [1]$$

برای تعیین درصد کلونیزاسیون قارچ *S. indica* با ریشه گیاه، برش‌های ریشه به قطعات ۱ سانتی‌متری تهیه و رنگ‌بری آن‌ها با هیدروکسید پتاسیم ۱۰ (KOH) درصد و اسیدکلریدریک ۱ (HCl) درصد انجام شد. سپس میزان رنگ‌آمیزی با متیلن بلو ۰/۰۵ درصد در لاکتوفنل، توسط میکروسکوپ نوری موردبررسی قرار گرفت (Phillips and Hayman, 1970). در نهایت درصد کلونیزاسیون ریشه بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد (Oelmüller et al., 2009):

$$\text{کلونیزاسیون قارچ} = \frac{\text{تعداد نمونه‌های ریشه دارای همزیستی قارچ}}{\text{تعداد کل نمونه‌های مورد بررسی}} \times 100 \quad [2]$$

به‌منظور تعیین غلظت عناصر در ریشه و اندام هوایی به میزان ۰/۵ گرم از بافت‌های خشک و آسیاب شده ریشه و اندام هوایی در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ ساعت در کوره الکتریکی قرار گرفت؛ پس از ۲۴ ساعت ۱۰ سی‌سی اسید هیدروکلریک به آن‌ها اضافه شد. سپس به نمونه‌ها حرارت داده شد و در پایان به حجم موردنظر رسانده شدند (Jia et al., 2015). در نهایت پس از فرآیند هضم غلظت عناصر سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فلیم‌فتومتر (Corning 2655-00 Digital Flame Phometer) و غلظت عناصر کلسیم، منیزیم، آهن، منگنز، مس، روی و کادمیوم توسط دستگاه جذب اتمی (Varian Spectr AA 220) اندازه‌گیری شدند (Kalra, 1997).

بر اساس سطوح موردنیاز کادمیوم (صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و پلی وینیل کلراید (صفر، ۰/۱ و ۱ درصد وزنی) برای هر گلدان (با ظرفیت ۱/۵ کیلوگرم خاک) محاسبه و توزین گردید. سپس در حجمی از آب که خاک را به نقطه ظرفیت زراعی می‌رساند حل شده و به خاک اضافه گردید و به‌طور یکنواخت با خاک استریل مخلوط شد. به‌منظور نفوذ بهتر عنصر موردنظر، خاک‌های آلوده به مدت ۳۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. طی این مدت، با توزین روزانه گلدان‌ها، رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی حفظ گردید (Shahabivand et al., 2017; Zhang et al., 2022b).

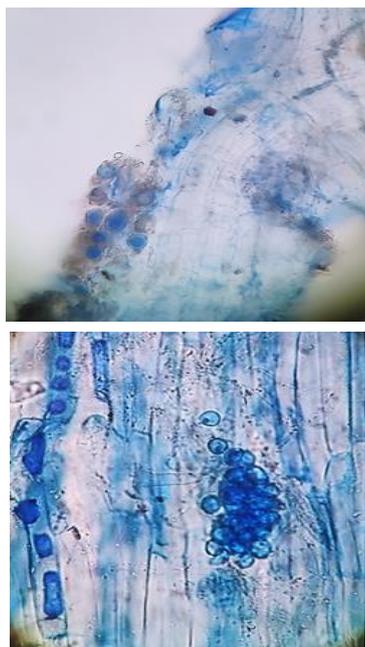
جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آزمایشی

Table 1. The physiochemical characteristics of experimental soil

pH		7.1
EC	هدایت الکتریکی	dS.m^{-1} 1.08
Soil texture	بافت خاک	لومی رسی شنی Clay silty loam
C	کربن آلی	g.kg^{-1} 7.8
N	نیتروژن کل	g.kg^{-1} 0.7
P_{ava}	فسفر قابل‌دسترس	mg.kg^{-1} 17
K_{ava}	پتاسیم قابل‌دسترس	mg.kg^{-1} 274
Cd_{ava}	کادمیوم قابل‌دسترس	mg.kg^{-1} 0.024

قارچ *S. indica* خالص از گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه بوعلی سینا تهیه و سپس در محیط دکستروز آگار سیب-زمینی (PDA) تکثیر و به مدت ۲ هفته در تاریکی و دمای ۲۵ سلسیوس نگهداری شد تا رشد کامل حاصل گردد. سپس سوسپانسیون اسپور با غلظت $10^5 \times 5$ هاگ در میلی‌لیتر تهیه شد (Ghabooli et al., 2013). بذرها به‌مدت ۱ دقیقه چندین بار با آب مقطر استریل شسته شده و سپس در گلدان‌های پلاستیکی حاوی ۱/۵ کیلوگرم خاک کاشته شدند. محلول حاوی هاگ قارچ با غلظت موردنظر روی بذرها کاشته شده در خاک ریخته شد. این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای با دمای متوسط روز ۳۰ درجه سلسیوس و شب ۲۰ درجه سلسیوس، چگالی شار فوتون فتوسنتزی (PPFD) 600 میکرومول در مترمربع بر ثانیه ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) و مدت‌زمان نور/تاریکی ۱۴/۱۰ ساعت انجام شد. در طول آزمایش، گلدان‌ها روزانه وزن شده و تقریباً به میزان ۹۰ درصد ظرفیت مزرعه آبیاری شدند.

کاهش یافت. قابل ذکر است درصد کلونیزاسیون قارچ در تنش توأم ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم و میکروپلاستیک ۱ درصد به میزان ۶۸٪ بیشتر از تیمار ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم به‌تنهایی بود. این مسئله را می‌توان به جذب فلز کادمیوم توسط میکروپلاستیک نسبت داد (Wang et al., 2020) که می‌تواند در کاهش تنش فلز سنگین نقش داشته باشد (Mangal et al., 2020).



شکل ۱. ریشه گیاه تلقیح شده با قارچ *S. indica*.

Fig. 1. Root colonized by *S. indica*.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

کلونیزاسیون قارچ *Serendipita indica* در ریشه

کلامیدوسپورهای قارچ *S. indica* در سطح خارجی ریشه پس از بررسی‌های میکروسکوپی مشاهده شدند (شکل ۱). قارچ اندوفیت موردنظر به راحتی در ریشه گیاه ارزن دم‌روبهایی کلونی ایجاد کرد. تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده نشان داد که اثرات اصلی کادمیوم، پلی وینیل کلراید و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر درصد کلونیزاسیون قارچ معنی‌دار بود (جدول ۲). تنش توأم کادمیوم و میکروپلاستیک باعث کاهش درصد کلونیزاسیون قارچ شد که با افزایش غلظت کادمیوم بیشتر مشهود بود (شکل ۲، A). مطالعات پیشین نیز کاهش درصد کلونیزاسیون در گیاهانی نظیر سویا (Wang et al., 2022b) و آفتابگردان (Shahabivand et al., 2017) تحت تنش کادمیوم را گزارش کرده‌اند. حضور ذرات پلی وینیل کلراید در غلظت‌های بالای کادمیوم باعث بهبود درصد کلونیزاسیون نسبت به تنش کادمیوم به‌تنهایی شد به طوری که اثرات نامطلوب کادمیوم تا حدودی توسط ذرات میکروپلاستیک

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس برای کلونیزاسیون، نسبت ریشه به ساقه و شاخص تحمل فلز

Table 2. Analysis of variance for colonization, root/shoot ratio and metal tolerance index

Source of variation	منبع تغییرات	درجه آزادی df	کلونیزاسیون Colonization	درجه آزادی df	نسبت ریشه به ساقه Root/Shoot ratio	شاخص تحمل فلز Metal tolerance index
Cadmium (Cd)	کادمیوم	3	2963.63**	3	0.0125**	5839.55**
Microplastic (MP)	میکروپلاستیک	2	100.20**	2	0.0064**	165.72**
<i>S. indica</i> (S)	قارچ	-	-	1	0.0394**	8130.84**
Cd × MP	کادمیوم × میکروپلاستیک	6	118.09**	6	0.0019**	459.8**
Cd × S	کادمیوم × قارچ	-	-	3	0.0035**	60.73**
MP × S	میکروپلاستیک × قارچ	-	-	2	0.0017*	90.79**
Cd × MP × S	کادمیوم × میکروپلاستیک × قارچ	-	-	6	0.0025**	62.85**
Error	خطا	24	4.93	48	0.0005	10.53
C.V. (%)	ضریب تغییرات	-	6.01	7.87	9.06	4.01
برش اثر قارچ در اثر متقابل سه‌گانه کادمیوم، میکروپلاستیک و قارچ (Cd*MP*S Effect Sliced by S)						
without <i>S. indica</i>	غیاب قارچ	-	-	-	0.0076**	920.7**
with <i>S. indica</i>	حضور قارچ	-	-	-	0.0006 ^{ns}	1020.19**

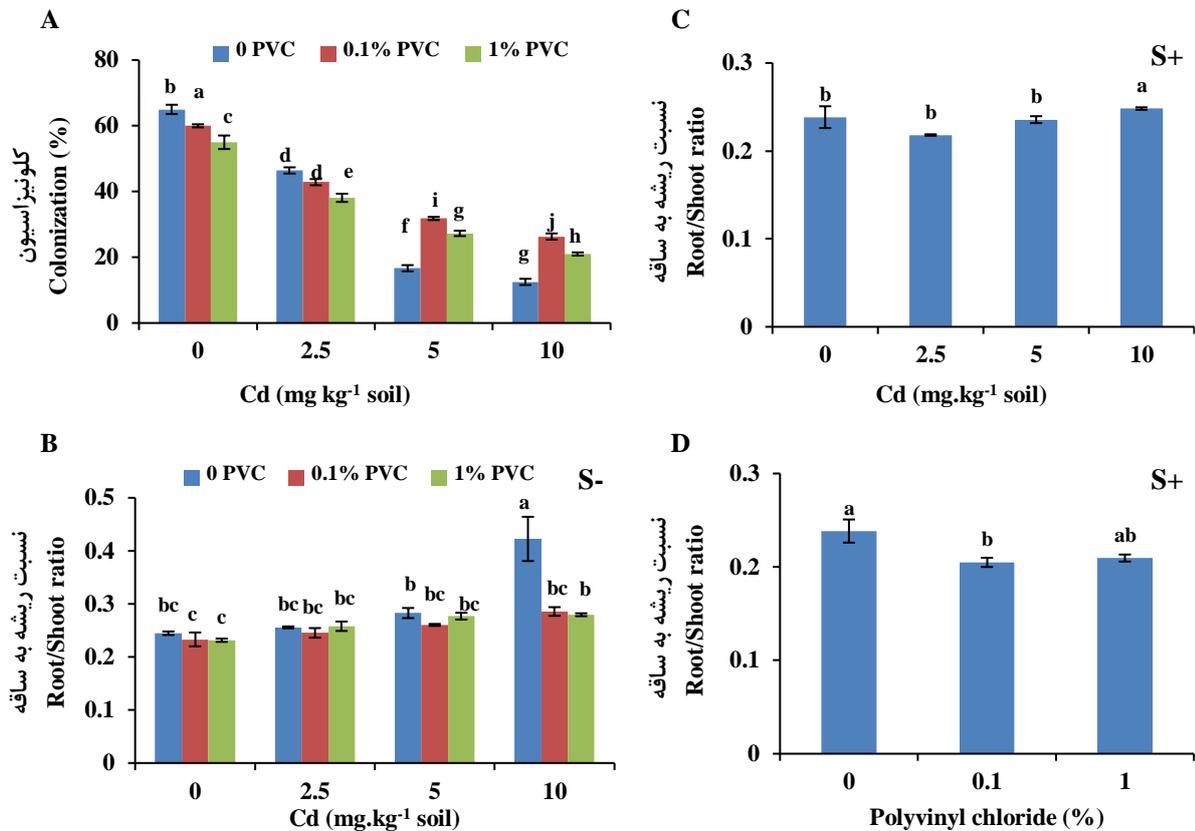
*, ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

**, * and ^{ns} is significant at the 5 and 1 percent probability level, respectively and non-significant

که منجر به افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی شد (شکل ۲، B). غلظت ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم در حضور قارچ همزیست، بیشترین مقدار نسبت ریشه به اندام هوایی را نشان داد که ۴/۰۹ بیشتر از شاهد بود. کادمیوم با اختلال در واکنش‌های فیزیولوژیکی نظیر محدود کردن فتوسنتز و جذب عناصر غذایی، رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Cornu et al., 2020). همچنین پلی وینیل کلراید در غلظت ۰/۱ درصد، نسبت ریشه به ساقه کمتری را نشان داد که بر سمیت کمتر آن نسبت به غلظت ۱ درصد دلالت دارد (شکل ۲، C).

نسبت ریشه به اندام هوایی

پس از تجزیه واریانس داده‌ها در هر دو وضعیت همزیستی و عدم همزیستی قارچ، اثرات کادمیوم و میکروپلاستیک بر نسبت ریشه به اندام هوایی معنی‌دار بود، درحالی‌که اثرات متقابل آن‌ها تنها در حالت عدم همزیستی با قارچ اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲). آلاینده‌های موردبررسی باعث کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی شدند، این کاهش در عدم حضور قارچ و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم بیشتر از سایر تیمارها به‌ویژه در صفت وزن خشک ریشه بود



شکل ۲. اثر کادمیوم و میکروپلاستیک بر کلونیزاسیون قارچ (A) و نسبت ریشه به ساقه (B, C) در شرایط غیاب (-S) و حضور (+S) قارچ *S. indica*

Fig. 2. Impacts of Cd and MP on the colonization (A), root/shoot ratio (B, C) in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).

به دلیل خاصیت نگهداری فلز سنگین در سطح خود، کاهش دهد (Dong et al., 2022). علاوه بر این در تیمارهای همزیستی با قارچ *S. indica* در هر دو حالت تنش کادمیوم و میکروپلاستیک نسبت ریشه به ساقه کمتری در مقایسه با حالت عدم همزیستی مشاهده شد. به‌طور کلی، تلقیح گیاهان با *S. indica* باعث افزایش قابل توجه ماده خشک ریشه و اندام هوایی در مقایسه با گیاهان غیر تلقیح شده شد. این نتایج با

در شرایط عدم همزیستی با قارچ، استفاده از میکروپلاستیک تنها در بالاترین غلظت کادمیوم سبب کاهش این نسبت در مقایسه با تنش کادمیوم به‌تنهایی بود؛ به‌طوری‌که تنش هم‌زمان ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم و ۰/۱ درصد پلی وینیل کلراید منجر به کاهش ۳/۳۲٪ نسبت ریشه به اندام هوایی شد. از این رو می‌توان انتظار داشت که میکروپلاستیک اثرات منفی فلز سنگین بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی را

همچنین قارچ *S. indica* می‌تواند تولید هورمون گیاهی مانند اکسین را به‌عنوان عامل مهم برای افزایش زیست‌توده تقویت نماید (Su et al., 2017). گزارش شده این قارچ در بازآرایی میکروتوبول ریشه شرکت کرده و با تحریک فرآیند مربوطه، باعث افزایش رشد ریشه گیاه میزبان می‌شود (Zhang et al., 2017).

تحقیقات قبلی در گیاهان تحت سمیت کادمیوم مطابقت دارد (Wang et al., 2022b (Mohd et al., 2017;) گزارش شده که استفاده از قارچ *S. indica* سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه را بهبود بخشیده، پراکسیداسیون لیپیدی غشاء را کاهش، فعالیت آنزیمی و توانایی گیاه برای مقاومت در برابر تنش کادمیوم را افزایش می‌دهد (Liu et al., 2022).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس برای غلظت عناصر سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در ریشه و اندام هوایی

Table 3. Analysis of variance for sodium, potassium, magnesium, and calcium in root and shoot

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	ریشه (Root)				اندام هوایی (Shoot)			
		سدیم Na	پتاسیم K	کلسیم Ca	منیزیم Mg	سدیم Na	پتاسیم K	کلسیم Ca	منیزیم Mg
کادمیوم Cadmium (Cd)	3	8.88**	41.83**	653.45**	68.06**	6.58**	1013.45**	492.33**	112.31**
میکروپلاستیک Microplastic (MP)	2	0.79**	1.74**	19.62**	0.80**	0.46**	8.37 ^{ns}	7.87 ^{ns}	2.20*
قارچ <i>S. indica</i> (S)	1	3.04**	20.16**	45.12**	6.30**	1.64**	136.12**	264.50**	26.28**
کادمیوم × میکروپلاستیک Cd × MP	6	0.46**	1.98**	40.95**	5.25**	0.10**	114.20**	103.20**	19.07**
کادمیوم × قارچ Cd × S	3	0.31**	2.13**	0.45 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.09**	13.12*	36.83**	3.55**
میکروپلاستیک × قارچ MP × S	2	0.09*	0.63 ^{ns}	13.62*	0.45*	0.07*	23.62**	45.12**	2.64*
کادمیوم × میکروپلاستیک × قارچ Cd × MP × S	6	0.22**	0.54*	6.95*	0.25*	0.08**	12.12**	23.45**	1.98**
خطا Error	48	0.02	0.22	2.83	0.10	0.01	3.70	4.62	0.55
ضریب تغییرات C.V%	-	6.08	7.87	11.19	7.42	10.23	6.59	9.35	7.48
برش اثر قارچ در اثر متقابل سه‌گانه کادمیوم، میکروپلاستیک و قارچ (Cd*MP*S Effect Sliced by S)									
without <i>S. indica</i>									
غیاب قارچ		1.21**	9.19**	96.06**	10.58**	**0.93	185.36**	64.61**	21.14**
with <i>S. indica</i>									
حضور قارچ		1.82**	4.60**	114.45**	11.23**	**1.08	169.34**	158.43**	22.82**

*, * و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

** , * and ^{ns} is significant at the 5 and 1 percent probability level, respectively and non-significant.

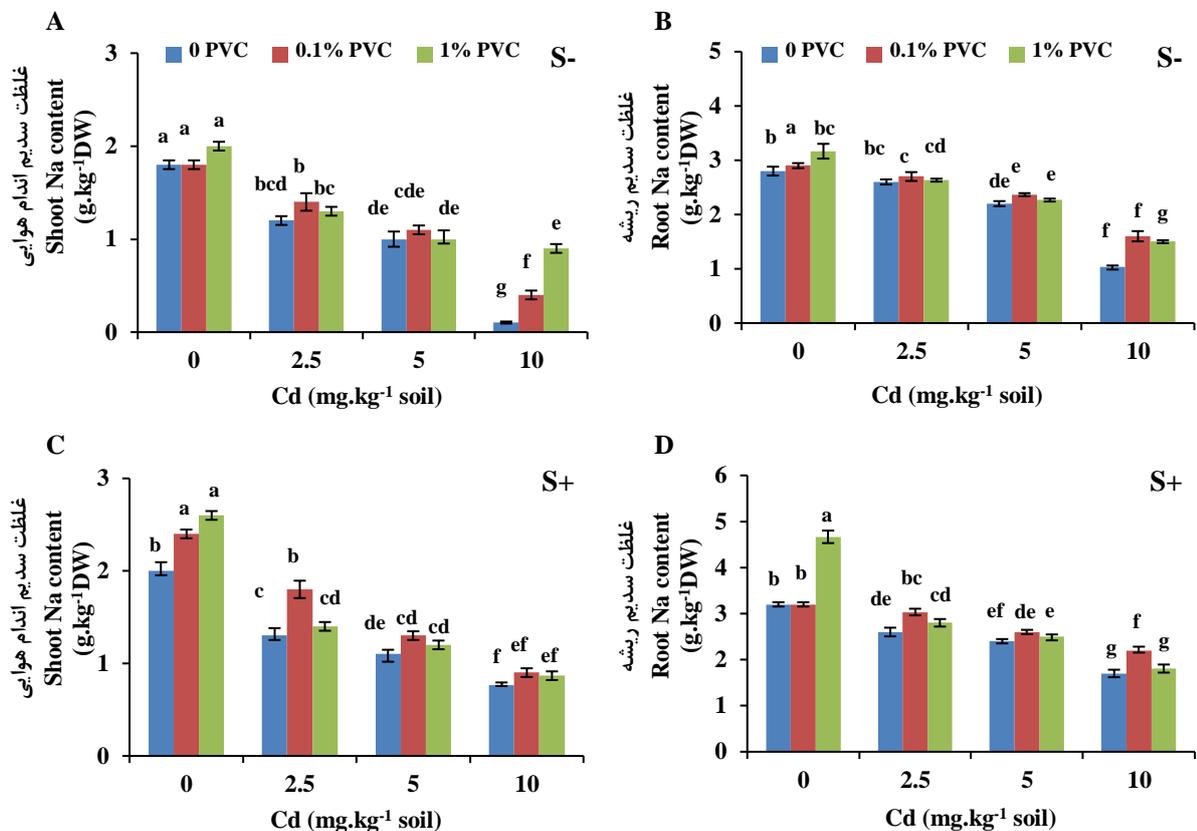
کادمیوم در ریشه و اندام هوایی کاهش یافت که در تحقیقات قبلی نیز گزارش شده (Leitão et al., 2021)؛ و ممکن است به دلیل استفاده کادمیوم از ناقل‌های کلسیم و منیزیم برای عبور از دیواره‌های سلولی ریشه باشد (Ismael et al., 2019). علاوه بر این گزارش شده عنصر کادمیوم با برهم زدن پتانسیل غشاء، می‌تواند جذب کلسیم و پتاسیم را کاهش دهد (Li et al., 2012). درحالی‌که حضور پلی وینیل کلراید اثرات

غلظت عناصر سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در ریشه و اندام هوایی

تجزیه واریانس داده‌ها معنی‌دار بودن اثر برهمکنش کادمیوم و میکروپلاستیک را در حضور و عدم حضور قارچ *S. indica* بر غلظت عناصر سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در اندام هوایی و ریشه را نشان داد (جدول ۳). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، غلظت عناصر پرمصرف، به دنبال تنش

۴، ۳). بر این اساس، می‌توان استنباط کرد که قارچ *S. indica* تحمل گیاه به تنش را افزایش داده است. کاهش تنش فلزات سنگین توسط قارچ *S. indica* پیش‌تر در گیاهچه‌های برنج (Sagonda et al., 2021) و ارزن پروسو (Saman and Sepehri, 2021) گزارش شده است. قارچ همزیست دارای اثرات بافری بالقوه در برابر اثرات نامطلوب آلاینده‌ها در خاک است (Moreno-Jimenez et al., 2022)؛ همچنین از طریق تولید هورمون‌های گیاهی و افزایش جذب ریشه‌ای عناصر کم و پرمصرف، نقش مهمی در ارتقای رشد گیاه ایفا می‌کند (Zahoor, 2017).

نامطلوب کادمیوم را تعدیل کرد (شکل ۶ و ۵، ۴، ۳). در غیاب قارچ همزیست، استعمال ۰/۱ درصد پلی وینیل کلراید در بستر گیاهان تحت تنش ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم، منجر به افزایش ۲۸۷٪ سدیم، ۱۴۰٪ پتاسیم، ۹۰٪ کلسیم و ۱۲۸/۵٪ منیزیم در اندام هوایی ارزن دم‌روباهی در مقایسه با تیمار ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم شد. چراکه میکروپلاستیک‌ها می‌توانند به سطوح ریشه متصل شده (Yang et al., 2021)، تحرک فلزات سنگین را کاهش داده (Dong et al., 2022) و در نهایت جذب عناصر غذایی را افزایش دهند. استفاده از قارچ *S. indica* باعث افزایش غلظت عناصر پرمصرف موردبررسی در بافت‌های گیاهی شد (شکل ۶ و ۵).



شکل ۳. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر غلظت سدیم در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در شرایط غیاب (S-) و حضور (S+) قارچ *S. indica*.

Fig. 3. Impacts of Cd and PVC on the shoot (A) and root (B) Na content in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).

کم‌مصرف موردبررسی در هر دو شرایط حضور و عدم حضور قارچ معنی‌دار بود (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که غلظت عناصر مس، روی و منگنز در ریشه و اندام هوایی پس از اعمال تنش کادمیوم کاهش یافت. اخیراً کین و همکاران (Qin et al., 2020) کاهش قابل توجه غلظت عناصر

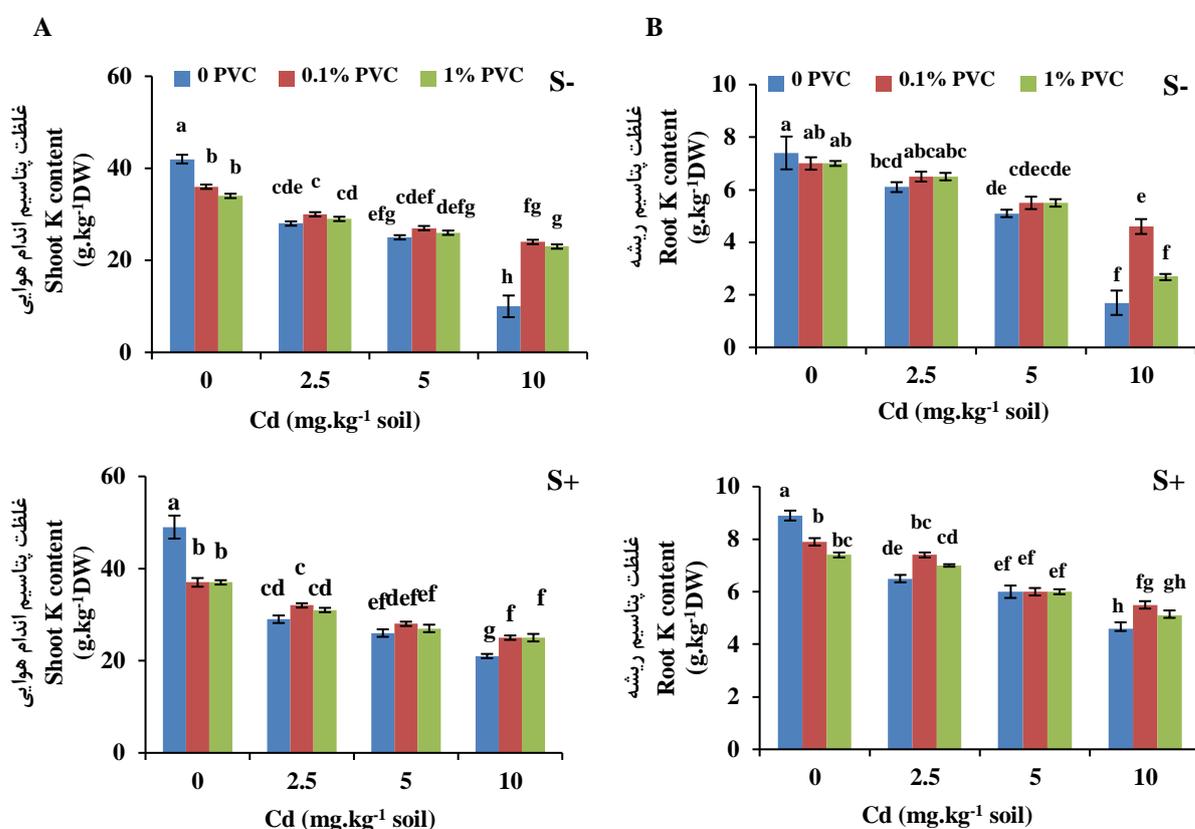
غلظت عناصر کادمیوم، آهن، مس، روی و منگنز در ریشه و اندام هوایی

بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها، اثر کادمیوم و میکروپلاستیک، همچنین اثر دوگانه آن‌ها بر غلظت عناصر

۵۴/۵، ۱۵/۸ و ۵۲/۳٪ نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم به‌تنهایی افزایش یافت.

اظهارشده میکروپلاستیک‌ها ظرفیت جذب کمتری برای آلاینده‌های فلزی در خاک دارند و به دلیل دارا بودن خاصیت رقیق‌سازی فلزات می‌توانند تحرک و در دسترس بودن آن‌ها را افزایش دهند (Zhang et al., 2020). همچنین گزارش شده در دسترس بودن فلزات می‌تواند توسط عوامل مختلف غیرزیستی و زیستی مانند کربن آلی محلول، ترشحات ریشه، اسیدیته خاک و جامعه میکروبی خاک تغییر کند (Shahid et al., 2017) که همگی می‌توانند تحت تأثیر میکروپلاستیک قرار گیرند (Dong et al., 2022).

روی و منگنز در گیاهچه‌های گندم در مواجهه با تنش کادمیوم را گزارش کردند. مطالعات قبلی این موضوع را به شباهت عناصر نسبت داده‌اند، احتمالاً کادمیوم می‌تواند با استفاده از ناقل‌های مشابه سایر عناصر غذایی کم‌مصرف، جذب شده و جذب آن‌ها را کاهش دهد (Li et al., 2018)؛ اما غلظت عناصر مس، روی و منگنز در تنش هم‌زمان کادمیوم و پلی‌وینیل کلراید بیشتر از تنش کادمیوم به‌تنهایی بود (شکل‌های ۹ و ۸، ۷). به‌گونه‌ای که در تنش ترکیبی ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم به همراه ۰/۱ درصد پلی‌وینیل کلراید غلظت عناصر مس، روی و منگنز در ریشه ارزن دم‌روبهایی به ترتیب به میزان



شکل ۴. اثر کادمیوم و پلی‌وینیل کلراید بر غلظت پتاسیم در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در شرایط غیاب (S-) و حضور (S+) قارچ *S. indica*.
Fig. 4. Impacts of Cd and PVC on the shoot (A) and root (B) K content in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).

غلظت آهن بیشتری نسبت به تیمار ۲/۵ میلی‌گرم کادمیوم به‌تنهایی داشت؛ اما میزان این عنصر در اندام هوایی با افزایش غلظت کادمیوم در خاک کاهش نشان داد و استفاده از میکروپلاستیک در تنش کادمیوم، تفاوت معنی‌داری در غلظت این عنصر ایجاد نکرد. از دلایل احتمالی این تفاوت

تنش کادمیوم و میکروپلاستیک اثرات متضادی بر غلظت آهن در ریشه و اندام هوایی داشت؛ که به گونه گیاهی و شرایط آزمایشی وابسته است (شکل ۱۰). کادمیوم باعث افزایش غلظت آهن در ریشه شد و حضور میکروپلاستیک نیز غلظت آهن را در ریشه گیاه افزایش داد. به‌طوری‌که تیمار ۲/۵ میلی‌گرم کادمیوم با ۰/۱ درصد پلی‌وینیل کلراید ۱/۱۷٪

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس برای غلظت عناصر کادمیوم، آهن، مس، روی و منگنز در ریشه و اندام هوایی

Table 4. Analysis of variance for cadmium, iron, copper, zinc, and manganese in root and shoot

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	ریشه (Root)				
		کادمیوم Cd	آهن Fe	مس Cu	روی Zn	منگنز Mn
کادمیوم Cadmium (Cd)	3	17072**	6379050.1**	130.29**	*1719*	22423**
میکروپلاستیک Microplastic (MP)	2	422.05**	1068210.4**	34.94**	**87.72	1938.74**
قارچ <i>S. indica</i> (S)	1	386.92**	2246387.4**	32.26**	661.26**	3646.58**
کادمیوم × میکروپلاستیک Cd × MP	6	102.55**	722187.7**	15.88**	**221.12	124.26**
کادمیوم × قارچ Cd × S	3	92.32**	824937.5**	10.43**	180.33**	464.61**
میکروپلاستیک × قارچ MP × S	2	1.07 ^{ns}	81792.9 ^{ns}	0.44 ^{ns}	42.63*	7.51 ^{ns}
کادمیوم × میکروپلاستیک × قارچ Cd × MP × S	6	9.94*	171718.1*	1.48*	47.93**	110.5**
Error	خطا	3.74	72307.8	0.38	10.76	34.22
C.V.%	ضریب تغییرات	6.03	9.01	8.2	8.8	4.72
برش اثر قارچ در اثر متقابل سه‌گانه کادمیوم، میکروپلاستیک و قارچ (Cd*MP*S Effect Sliced by S)						
غیاب قارچ (without <i>S.indica</i>)		2094.52**	1333403**	15.61**	132.72**	3786.91**
حضور قارچ (with <i>S. indica</i>)		2724.99**	1327998**	38.67**	555.75**	2937.11**

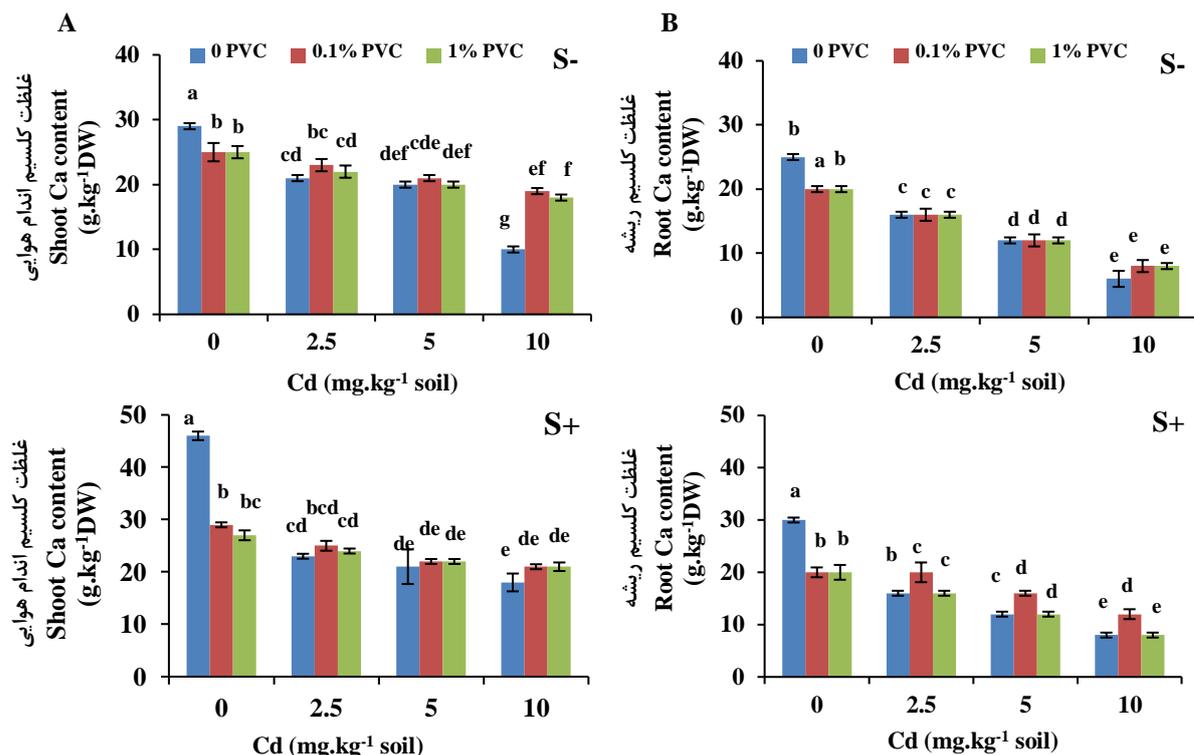
Table 4. Continued

جدول ۴. ادامه

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	اندام هوایی (Shoot)				
		کادمیوم Cd	آهن Fe	مس Cu	روی Zn	منگنز Mn
کادمیوم Cadmium (Cd)	3	372.53**	185134.2**	172.19**	10279.48**	8694.6**
میکروپلاستیک Microplastic (MP)	2	49.29**	25706.7**	41.98**	300.18**	757.06**
قارچ <i>S. indica</i> (S)	1	32.29**	37821.6**	56.71**	908.09**	2004.5**
کادمیوم × میکروپلاستیک Cd × MP	6	8.74**	12506.8**	5.17**	769.23**	127.3**
کادمیوم × قارچ Cd × S	3	4.7**	15175.1**	0.64 ^{ns}	62.25**	234.57**
میکروپلاستیک × قارچ MP × S	2	0.15 ^{ns}	3719.9**	2.25 ^{ns}	0.11 ^{ns}	19.58 ^{ns}
کادمیوم × میکروپلاستیک × قارچ Cd × MP × S	6	0.25*	2321.4**	5.3**	38.49**	98.69**
Error	خطا	0.10	661.4	0.86	11.8	28.24
C.V.%	ضریب تغییرات	5.58	9.43	7.55	6.84	7.22
برش اثر قارچ در اثر متقابل سه‌گانه کادمیوم، میکروپلاستیک و قارچ (Cd*MP*S Effect Sliced by S)						
غیاب قارچ (without <i>S.indica</i>)		61.72**	17731**	32.73**	1585.5**	993.44**
حضور قارچ (with <i>S. indica</i>)		55.05**	50337**	28.16**	1730.1**	1706.2**

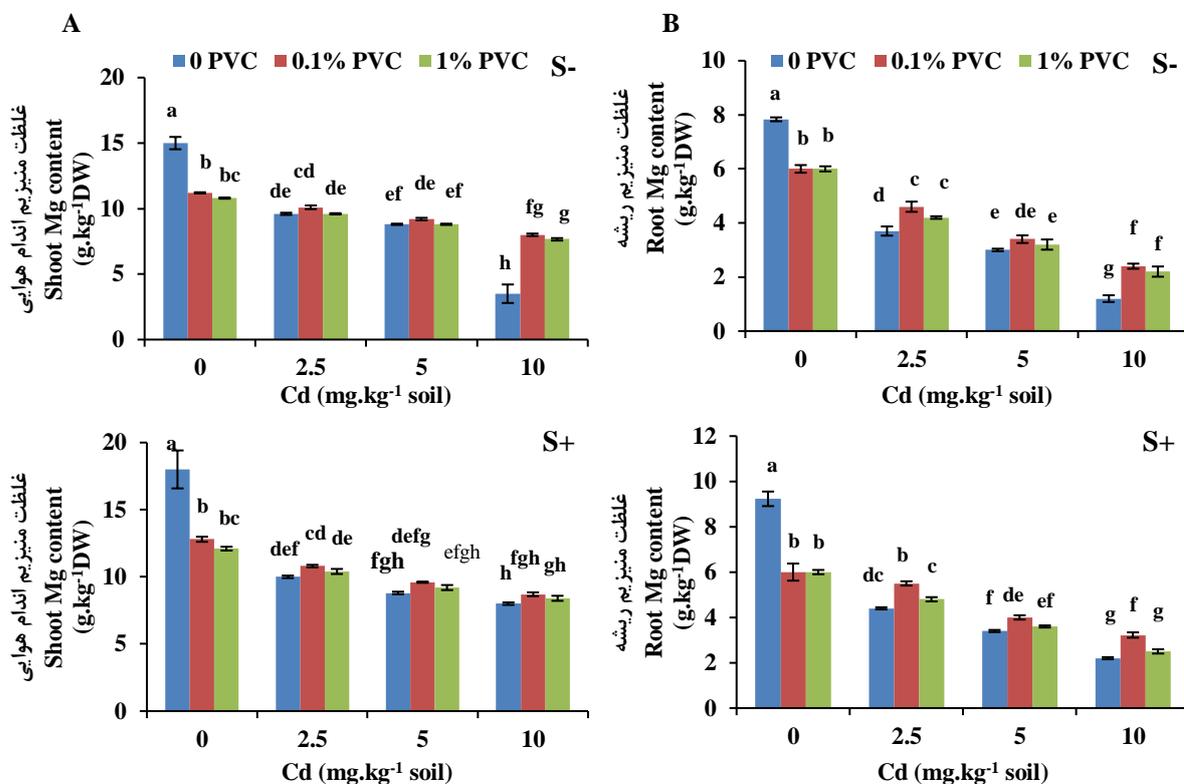
*, ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

*, ** and ^{ns} is significant at the 5 and 1 percent probability level, respectively and non-significant.



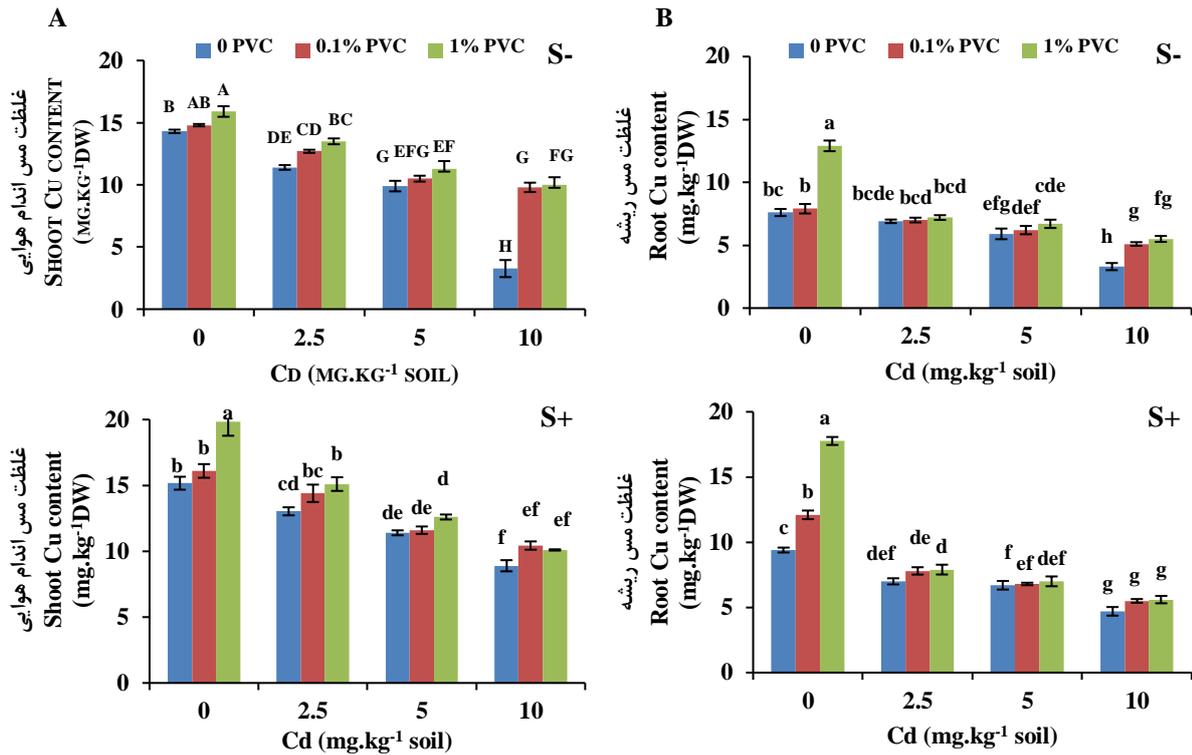
شکل ۵. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر غلظت کلسیم در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در شرایط غیاب (-S) و حضور (+S) قارچ *S. indica*.

Fig. 5. Impacts of Cd and PVC on the shoot (A) and root (B) Ca content in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).

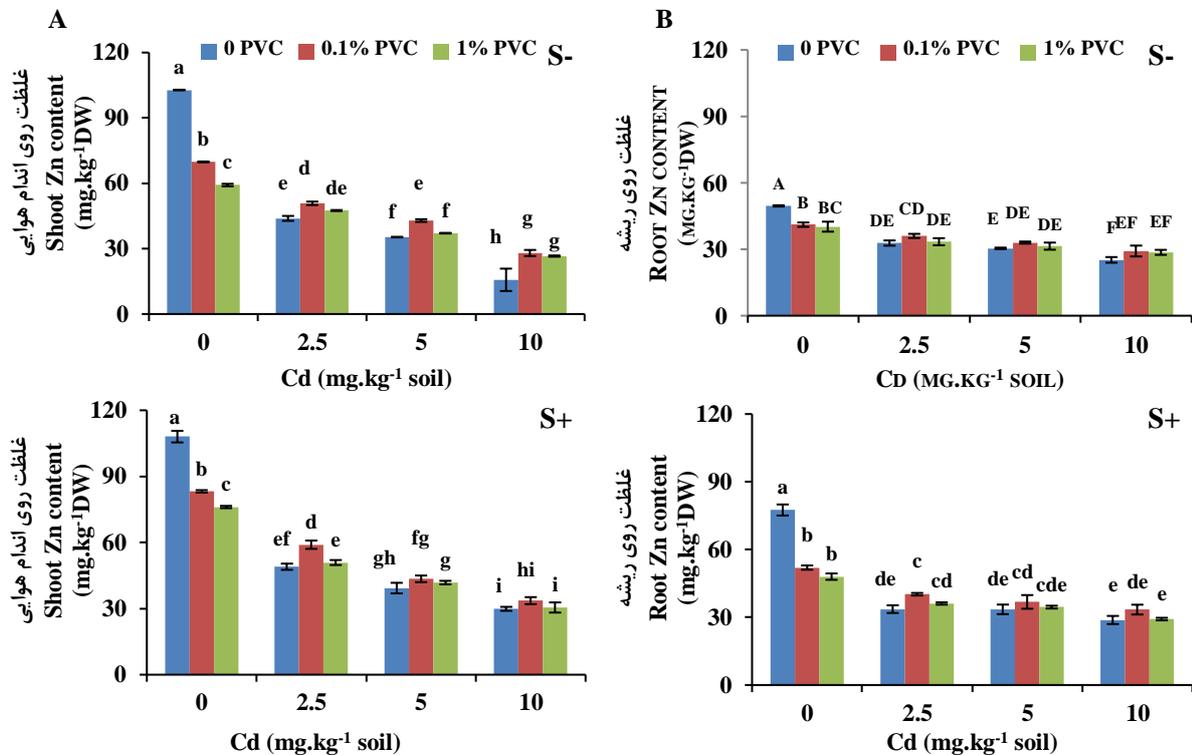


شکل ۶. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر غلظت منیزیم در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در شرایط غیاب (-S) و حضور (+S) قارچ *S. indica*.

Fig. 6. Impacts of Cd and PVC on the shoot (A) and root (B) Mg content in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).



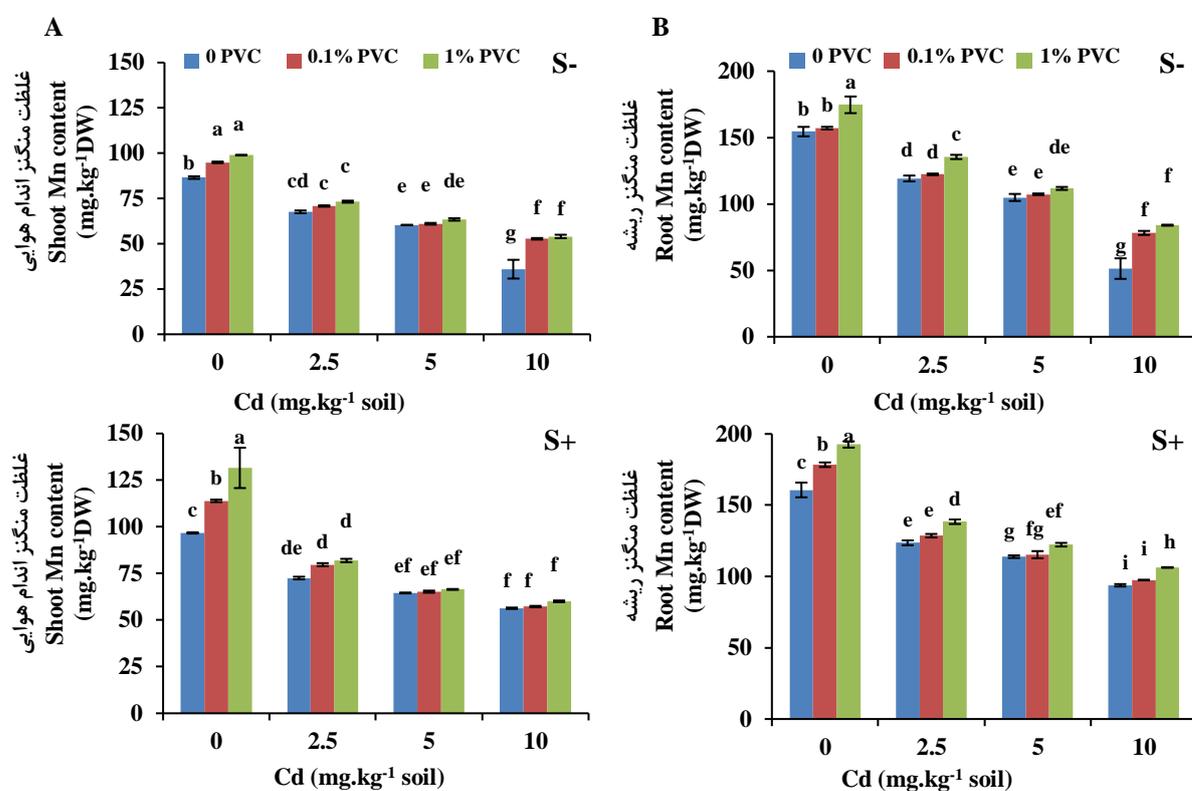
شکل ۷. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر غلظت مس در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در شرایط غیاب (-S) و حضور (+S) قارچ *S. indica*.
 Fig. 7. Impacts of Cd and PVC on the shoot (A) and root (B) Cu content in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).



شکل ۸. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر غلظت روی در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در شرایط غیاب (-S) و حضور (+S) قارچ *S. indica*.
 Fig. 8. Impacts of Cd and PVC on the shoot (A) and root (B) Zn content in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).

می‌تواند آسیب ناشی از کادمیوم به غشای پلاسمایی ریشه باشد که بر نفوذپذیری آن تأثیر می‌گذارد که به‌عنوان مکانیسمی برای کاهش جذب عناصر دیگر گزارش شده است (He'diji et al., 2015). همچنین ممکن است تنش کادمیوم منجر به عدم تعادل بیش‌ازحد پتانسیل غشای پلاسمایی ریشه، افزایش پتانسیل انتقال عناصر و تسهیل جذب یون شود (Mourato et al., 2019) و یا می‌توان آن را به تأثیرات متنوع میکروپلاستیک بر سامانه‌های خاک-گیاه نسبت داد (Zhang et al., 2022a). قبلاً گزارش شده میکروپلاستیک‌ها می‌توانند باعث ایجاد تغییراتی در عناصر تغذیه‌ای گیاه و متابولیت‌ها، از جمله ترشحات ریشه شوند (Wang et al., 2022a; Dong et al., 2022).

از این رو ممکن است جذب فلزات توسط ریشه و انتقال آن‌ها به قسمت‌های هوایی گیاه را تغییر دهند. بهبود تغذیه آهن و منگنز در حضور میکروپلاستیک‌ها در تنش ترکیبی با کادمیوم تجمع کادمیوم در گیاه را کاهش داده است (Liang et al., 2022). تشکیل پلاک‌های آهن منگنز روی ریشه‌ها، کلاته شدن کادمیوم در ریزوسفر و سطوح ریشه را افزایش داده و می‌تواند به‌عنوان مانعی برای محافظت از گیاه در برابر سمیت کادمیوم عمل کنند (Liu et al., 2010). یافته‌های ما نشان داد که پلی وینیل کلراید می‌تواند فراهمی زیستی آهن، مس، روی و منگنز در خاک و جذب آن‌ها در ریشه‌های ارزن دمروباهی را بهبود بخشد و تجمع کادمیوم را در اندام هوایی کاهش دهد.



شکل ۹. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر غلظت منگنز در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در غیاب (S-) و حضور (S+) قارچ *S. indica*.
Fig. 9. Impacts of Cd and PVC on the shoot (A) and root (B) Mn content in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).

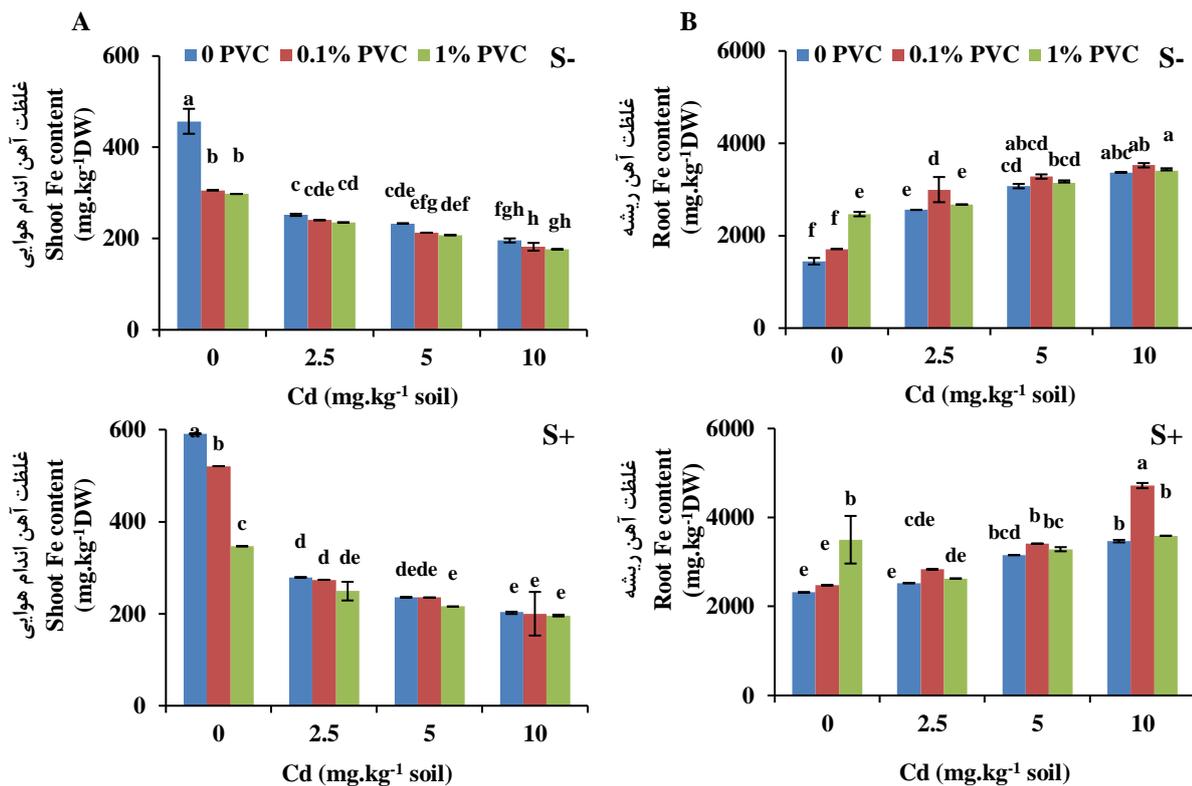
ریشه و اندام هوایی نیز افزایش یافت و پلی وینیل کلراید باعث کاهش غلظت آن شد (شکل ۱۱). به‌طوری‌که حضور ۰/۱ درصد پلی وینیل کلراید در تنش ۵ میلی‌گرم کادمیوم باعث کاهش ۲۵٪ کادمیوم در اندام هوایی نسبت به تیمار ۵ میلی‌گرم کادمیوم به‌تنهایی شد. اگرچه کادمیوم توسط ذرات میکروپلاستیک قابل جذب است ولی مقدار جذب به نسبت

به دنبال همزیستی قارچ *S. indica* جذب عناصر آهن، مس، روی و منگنز نیز افزایش یافت. مطابق با نتایج به‌دست‌آمده، گزارش شده قارچ *S. indica* با افزایش فعالیت آنزیم‌های خاک جذب آسان‌تر عناصر غذایی ضروری را فراهم کرده و زیست‌توده گیاهی را بهبود می‌بخشد (Bertolazi et al., 2019). با افزایش تنش کادمیوم غلظت این عنصر در

می‌گذارد که می‌تواند سبب افزایش تحمل گیاه به این آلاینده‌ها شود (Thijs et al., 2017). همزیستی قارچ *S. indica* غلظت کادمیوم در ریشه را افزایش ولی مقدار آن در اندام هوایی را کاهش داد. کاهش غلظت فلزات سنگین در اندام‌های هوایی را می‌توان با اتصال فلزات سنگین به دیواره‌های سلولی هیف‌های قارچ و کاهش انتقال آن‌ها به قسمت‌های بالایی گیاه مرتبط دانست (Baghaie et al., 2021).

ذرات آلی، ترکیبات آلی معدنی و مواد معدنی در خاک بستگی داشته و ترکیبات آلی معدنی نقش غالب در جذب کلی کادمیوم دارند (Ma et al., 2022).

بر اساس گزارش‌های قبلی میکروپلاستیک هم‌افزایی سمیت با کادمیوم نداشته و می‌توان این مسئله را با کاهش تجمع کادمیوم در بافت گیاهی توسط میکروپلاستیک توضیح داد (Liu et al., 2023a). از سوی دیگر قارچ همزیست به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر جذب فلزات سنگین تأثیر



شکل ۱۰. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر غلظت آهن در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در شرایط غیاب (S-) و حضور (S+) قارچ *S. indica*.

گیاه است، میکروپلاستیک ممکن است رشد گیاه را با افزایش در دسترس بودن عناصر غذایی افزایش دهد (Yang et al., 2021). از سوی دیگر میکروپلاستیک می‌تواند از طریق آبشویی ترکیبات آلی که برای رشد گیاه مفید هستند، تثبیت عناصر غذایی را تغییر دهد (Lei and Engeseth, 2022). می‌توان چنین استنباط کرد که میکروپلاستیک با غلبه نسبی بر تنش کادمیوم منجر به افزایش وزن خشک گیاه و تحمل به فلز کادمیوم شده است.

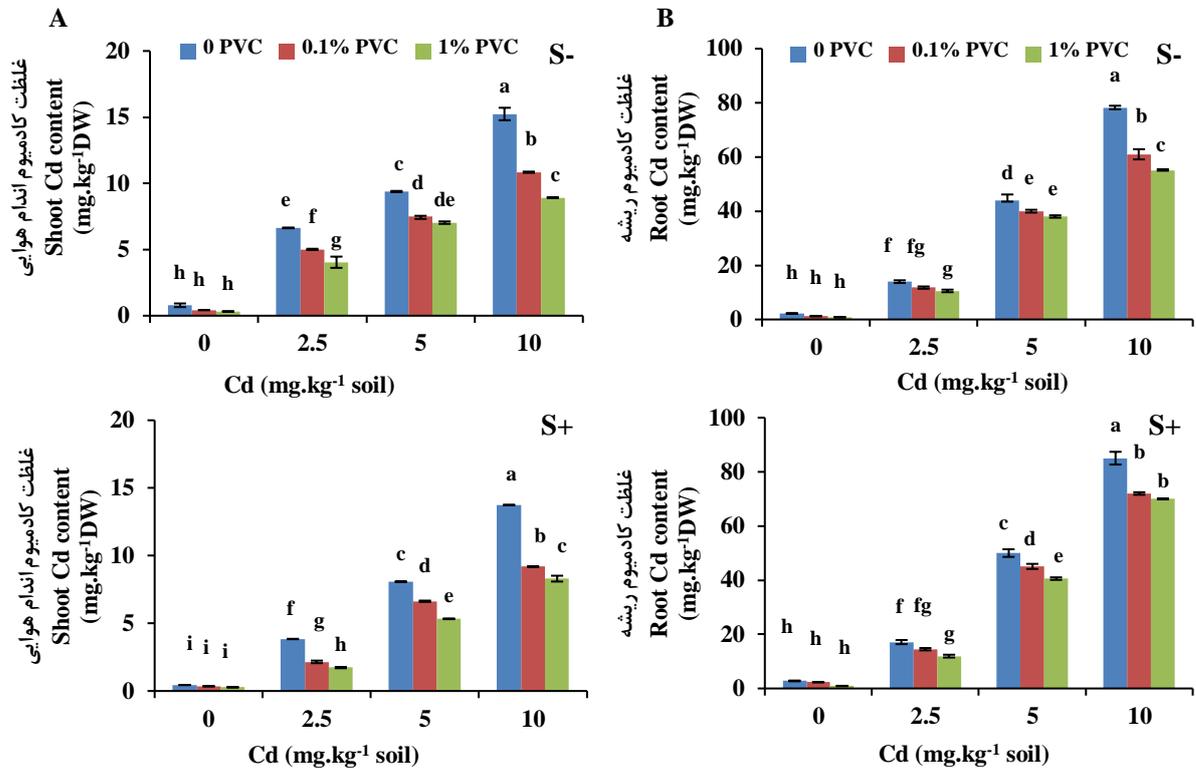
شاخص موردنظر به دنبال همزیستی قارچ *S. indica*، در هر دو صورت تنش ترکیبی و منفرد آلاینده‌ها افزایشی بود

شاخص تحمل فلز

تجزیه واریانس داده‌ها، معنی‌داری اثرات کادمیوم، پلی وینیل کلراید و برهمکنش آن‌ها بر شاخص تحمل فلز را در سطح ۱ درصد نشان داد (جدول ۲). به دنبال افزایش سطوح کادمیوم شاخص تحمل فلز کاهش یافت و ذرات پلی وینیل کلراید در این شرایط باعث افزایش این شاخص، به‌ویژه در بالاترین سطح کادمیوم شدند (شکل ۱۲). در حضور ۰/۱ درصد پلی وینیل کلراید در تنش ۲/۵ میلی‌گرم کادمیوم شاخص تحمل فلز ۹/۷۸٪ نسبت به غلظت ۲/۵ میلی‌گرم کادمیوم به‌تنهایی افزایش داشت. از آنجاکه شاخص تحمل فلز تابع وزن خشک

گزارش شده که با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد؛ بنابراین *S. indica* می‌تواند از طریق کاهش جذب کادمیوم توسط ریشه، تحمل به کادمیوم را افزایش دهد (Wang et al., 2022b).

به‌گونه‌ای که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم که گیاه کمترین میزان تحمل به کادمیوم را داشت، اختلاف شاخص تحمل فلز در تیمار کادمیوم با تیمار ترکیبی کادمیوم و میکروپلاستیک کمتر شد (شکل ۱۲). پیش‌تر افزایش تحمل به تنش فلز سنگین با استفاده از همزیستی قارچ *S. indica*



شکل ۱۱. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر غلظت کادمیوم در اندام هوایی (A) و ریشه (B) در شرایط غیاب (-S) و حضور (+S) قارچ *S. indica*.

Fig. 11. Impacts of Cd and PVC on the shoot (A) and root (B) Cd content in the *S. indica* absence (S-) and presence (S+).

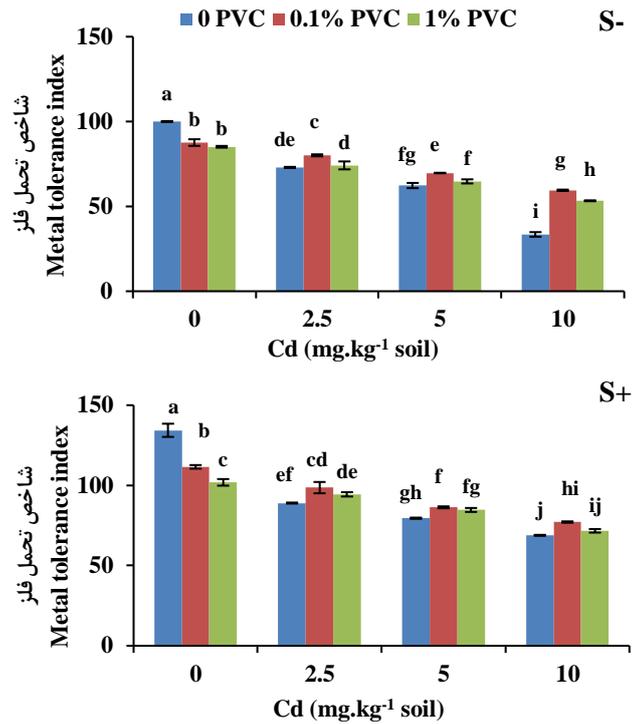
قادر است تحمل گیاه به شرایط تنش کادمیوم و میکروپلاستیک را افزایش دهد؛ اما با توجه به پیچیدگی سامانه‌های مختلف خاک-گیاه، این نتیجه‌گیری نیاز به بررسی بیشتر داشته و به‌سادگی نمی‌توان آن را به موارد دیگر تعمیم داد.

قدردانی

از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه بوعلی‌سینا که در پیشبرد این پژوهش همکاری و مساعدت نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که حضور ذرات میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید به‌ویژه در غلظت کم آن باعث کاهش اثرات نامطلوب کادمیوم بر صفات موردبررسی می‌شود. این نوع میکروپلاستیک علی‌رغم آلاینده بودن می‌تواند تا حدودی اثرات نامطلوب عنصر کادمیوم بر اندام هوایی ارزن دم‌روباهی را در خاک آلوده بهبود بخشد و از ورود کادمیوم به زنجیره غذایی بکاهد. علاوه بر این قارچ همزیست *S. indica* از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش تجمع کادمیوم در ریشه و کاهش انتقال آن به اندام هوایی،



شکل ۱۲. اثر کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر شاخص تحمل فلز در شرایط غیاب (S-) و حضور (S+) قارچ *S. indica*.
 Fig. 12. Impacts of Cd and PVC on metal tolerance index in the *S. indica* absence and presence.

منابع

- Abbasi, S., Moore, F., Keshavarzi, B., Hopke, P.K., Naidu, R., Rahman, M.M., Oleszczuk, P., Karimi, J., 2020. PET-microplastics as a vector for heavy metals in a simulated plant rhizosphere zone. *Science of the Total Environment*. 744, 140984. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140984>
- Ahmad, A., Shahzadi, I., Mubeen, S., Yasin, N.A., Akram, W., Khan, W.U., Wu, T., 2021. Karrikinolide alleviates BDE-28, heat and Cd stressors in *Brassica alboglabra* by correlating and modulating biochemical attributes, antioxidative machinery and osmoregulators. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 213, 112047. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112047>
- Baghaie, A.H., Aghili, F., 2021. Contribution of *Piriformospora indica* on improving the nutritional quality of greenhouse tomato and its resistance against Cu toxicity after humic acid addition to soil. *Environmental Science and Pollution Research*. 28, 64572-64585. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15599-3>
- Bertolazi, A.A., de Souza, S.B., Ruas, K.F., Camprostrini, E., de Rezende, C.E., Cruz, C., Melo, J., Colodete, C.M., Varma, A., Ramos, A.C., 2019. Inoculation with *Piriformospora indica* is more efficient in wild-type rice than in transgenic rice over-expressing the vacuolar H⁺-PPase. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01087>
- Cornu, J.Y., Bussi re, S., Coriou, C., Robert, T., Maucourt, M., Deborde, C., Moing, A., Nguyen, C., 2020. Changes in plant growth, Cd partitioning and xylem sap composition in two sunflower cultivars exposed to low Cd concentrations in hydroponics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 205, 111145. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111145>
- de Souza Machado, A.A., Lau, C.W., Till, J., Kloas, W., Lehmann, A., Becker, R., Rillig, M.C., 2018. Impacts of microplastics on the soil biophysical environment. *Environmental Science & Technology*. 52, 9656-9665. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02212>
- Dong, Y., Bao, Q., Gao, M., Qiu, W., Song, Z., 2022. A novel mechanism study of microplastic and As co-contamination on indica rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Hazardous Materials*. 421, 126694. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126694>
- Feng, X., Wang, Q., Sun, Y., Zhang, S., Wang, F., 2022. Microplastics change soil properties,

- heavy metal availability and bacterial community in a Pb-Zn-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 424, 127364. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127364>
- Galloway, T.S., Cole, M., Lewis, C., 2017. Interactions of microplastic debris throughout the marine ecosystem. *Nature Ecology and Evolution*. 1, 116. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0116>
- Ghabooli, M., Khatabi, B., Ahmadi, F.S., Sepehri, M., Mirzaei, M., Amirkhani, A., Jorrín-Novo, J.V., Salekdeh, G.H., 2013. Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. *Journal of Proteomics*. 94, 289-301. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.09.017>
- Hédiji, H., Djebali, W., Belkadhi, A., Cabasson, C., Moing, A., Rolin, D., Brouquisse, R., Gallusci, P., Chaïbi, W., 2015. Impact of long-term cadmium exposure on mineral content of *Solanum lycopersicum* plants: consequences on fruit production. *South African Journal of Botany*. 97, 176-181. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.01.010>
- Hui, F., Liu, J., Gao, Q., Lou, B., 2015. *Piriformospora indica* confers cadmium tolerance in *Nicotiana tabacum*. *Journal of Environmental Sciences*. 37, 184-191. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.06.005>
- Ismael, M.A., Elyamine, A.M., Moussa, M.G., Cai, M., Zhao, X., Hu, C., 2019. Cadmium in plants: uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. *Metallomics*. 11, 255-277. <https://doi.org/10.1039/c8mt00247a>
- Jackson, M.L., 1967. *Soil Chemical Analysis*, 1st ed. Prentice Hall of India Pvt. Ltd, New Delhi, 144-197
- Jia, N., Zhihui, C., Khan, A.R., Ahmad, I., 2015. Effects of temperature during seedling stage on growth and nutrient absorbance of *Gerbera jamesonii* growing in organic substrate. *Journal of Plant Nutrition*. 38, 700-711. <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.934481>
- Kalra, Y., (Ed.). 1997. *Handbook of reference methods for plant analysis*. CRC press.
- Kumar, A., Verma, J.P., 2018. Does plant microbe interaction confer stress tolerance in plants: A review? *Microbiological Research*. 207, 41-52. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.004>
- Kumar, R., Ivy, N., Bhattacharya, S., Dey, A., Sharma, P., 2022. Coupled effects of microplastics and heavy metals on plants: Uptake, bioaccumulation, and environmental health perspectives. *Science of the Total Environment*. 836, 155619. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155619>
- Lei, C., Engeseth, N.J., 2022. Comparison of growth and quality between hydroponically grown and soil-grown lettuce under the stress of microplastics. *ACS ES&T Water*. 2, 1182-1194. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.1c00485>
- Leitão, I., Sales, J., Martins, L.L., Mourato, M.P., 2021. Response to stress induced by different potentially toxic elements (As, Cd, Cu and Na) in rapeseed leaves. *Plant Physiology Reports*. 26, 478-490. <https://doi.org/10.1007/s40502-021-00601-4>
- Li, C., Zhou, K., Qin, W., Tian, C., Qi, M., Yan, X., Han, W., 2019. A review on heavy metals contamination in soil: effects, sources, and remediation techniques. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 28, 380-394. <https://doi.org/10.1080/15320383.2019.1592108>
- Li, N., Xiao, H., Sun, J., Wang, S., Wang, J., Chang, P., Zhou, X., Lei, B., Lu, K., Luo, F., Shi, X., Li, J., 2018. Genome-wide analysis and expression profiling of the HMA gene family in *Brassica napus* under cd stress. *Plant and Soil*. 426, 365-381. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3637-2>
- Li, S.U.N., Yu, J., Zhu, M., Zhao, F., Luan, S., 2012. Cadmium impairs ion homeostasis by altering K⁺ and Ca²⁺ channel activities in rice root hair cells. *Plant, Cell & Environment*. 35, 1998-2013. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02532.x>
- Liang, Y., Wu, Q.-T., Lee, C.C.C., Jiang, C.a., Wei, Z., 2022. Evaluation of manganese application after soil stabilization to effectively reduce cadmium in rice. *Journal of Hazardous Materials*. 424, 127296. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127296>
- Liu, B., An, C., Jiao, S., Jia, F., Liu, R., Wu, Q., Dong, Z., 2022. Impacts of the inoculation of *Piriformospora indica* on photosynthesis, osmoregulatory substances, and antioxidant enzymes of Alfalfa seedlings under cadmium

- stress. *Agriculture*, 12, 1928. <https://doi.org/10.3390/agriculture12111928>
- Liu, J., Cao, C., Wong, M., Zhang, Z., Chai, Y., 2010. Variations between rice cultivars in iron and manganese plaque on roots and the relation with plant cadmium uptake. *Journal of Environmental Sciences*. 22, 1067-1072. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60218-7](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60218-7)
- Liu, Y., Cui, W., Li, W., Xu, S., Sun, Y., Xu, G., Wang, F., 2023a. Effects of microplastics on cadmium accumulation by rice and arbuscular mycorrhizal fungal communities in cadmium-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*. 442, 130102. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130102>
- Liu, Y.-Q., Chen, Y., Ren, X.-M., Li, Y.-Y., Zhang, Y.-J., Zhang, H., Han, H., Chen, Z.-J., 2023b. Plant growth-promoting bacteria modulate gene expression and induce antioxidant tolerance to alleviate synergistic toxicity from combined microplastic and Cd pollution in sorghum. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 264, 115439. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115439>
- Ma, J., Aqeel, M., Khalid, N., Nazir, A., Alzuaibr, F.M., Al-Mushhin, A.A.M., Hakami, O., Iqbal, M.F., Chen, F., Alamri, S., Hashem, M., Noman, A., 2022. Effects of microplastics on growth and metabolism of rice (*Oryza sativa* L.). *Chemosphere*. 307, 135749. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135749>
- Mangal, V., Nguyen, T.Q., Fiering, Q., Guéguen, C., 2020. An untargeted metabolomic approach for the putative characterization of metabolites from *Scenedesmus obliquus* in response to cadmium stress. *Environmental Pollution*. 266, 115123. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115123>
- Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P., Zerbi, G., 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environmental Pollution*. 132, 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.04.001>
- Mohd, S., Shukla, J., Kushwaha, A. S., Mandrah, K., Shankar, J., Arjaria, N., Saxena, P.N., Narayan, R., Roy, S.K., Kumar, M., 2017. Endophytic fungi *Piriformospora indica* mediated protection of host from arsenic toxicity. *Frontiers in Microbiology*. 8, 754. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00754>
- Moreno-Jiménez, E., Leifheit, E.F., Plaza, C., Feng, L., Bergmann, J., Wulf, A., Lehmann, A., Rillig, M.C., 2022. Effects of microplastics on crop nutrition in fertile soils and interaction with arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Sustainable Agriculture and Environment*. 1, 66-72. <https://doi.org/10.1002/sae2.12006>
- Mourato, M., Pinto, F., Moreira, I., Sales, J., Leitão, I., Martins, L.L., 2019. Chapter 13 - The effect of Cd stress in mineral nutrient uptake in plants. In: Hasanuzzaman, M., Prasad, M.N.V., Fujita, M. (Eds.), *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants*. Academic Press, pp. 327-348. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814864-8.00013-9>
- Oelmüller, R., Sherameti, I., Tripathi, S., Varma, A., 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis*. 49, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s13199-009-0009-y>
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55, 158-IN118. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Qin, S., Liu, H., Rengel, Z., Gao, W., Nie, Z., Li, C., Hou, M., Cheng, J., Zhao, P., 2020. Boron inhibits cadmium uptake in wheat (*Triticum aestivum*) by regulating gene expression. *Plant Science*. 297, 110522. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110522>
- Sagonda, T., Adil, M.F., Sehar, S., Rasheed, A., Joan, H.I., Ouyang, Y., Shamsi, I.H., 2021. Physio-ultrastructural footprints and iTRAQ-based proteomic approach unravel the role of *Piriformospora indica*-colonization in counteracting cadmium toxicity in rice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 220, 112390. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112390>
- Saman, M., Sepehri, A., 2021. Alleviating effects of *Serendipita indica* and nitric oxide in proso millet plants (*Panicum miliaceum* L.) exposed to copper toxicity. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 21, 3065-3075. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00589-8>
- Saud, S., Yang, A., Jiang, Z., Ning, D., Fahad, S., 2023. New insights in to the environmental behavior and ecological toxicity of microplastics. *Journal of Hazardous Materials*

- Advances. 10, 100298.
<https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100298>
- Sepehri, M., Khatabi, B., 2021. Combination of siderophore-producing bacteria and *Piriformospora indica* provides an efficient approach to improve cadmium tolerance in Alfalfa. *Microbial Ecology*. 81, 717-730.
<https://doi.org/10.1007/s00248-020-01629-z>
- Shah, A.A., Aslam, S., Akbar, M., Ahmad, A., Khan, W.U., Yasin, N.A., Ali, B., Rizwan, M., Ali, S., 2021. Combined effect of *Bacillus fortis* IAGS 223 and zinc oxide nanoparticles to alleviate cadmium phytotoxicity in Cucumis melo. *Plant Physiology and Biochemistry*. 158, 1-12.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.011>
- Shahabivand, S., Parvaneh, A., Aliloo, A.A., 2017. Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 145, 496-502.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.064>
- Shahabivand, S., Parvaneh, A., Aliloo, A.A., 2020. Different response of *Alyssum montanum* and *Helianthus annuus* to cadmium bioaccumulation mediated by the endophyte fungus *Serendipita indica*. *Acta Ecologica Sinica*. 40, 315-322.
<https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2019.09.002>
- Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Niazi, N.K., Antunes, P.M.C., 2017. Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system. In: de Voogt, P., Gunther, F.A. (Eds.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Volume 241. Springer International Publishing, Cham, pp. 73-137.
https://doi.org/10.1007/398_2016_8
- Su, Z-z., Wang, T., Shrivastava, N., Chen, Y-y., Liu, X., Sun, C., Yin, Y., Gao, Q-k., Lou, B-g., 2017. *Piriformospora indica* promotes growth, seed yield and quality of *Brassica napus* L. *Microbiological Research*. 199, 29-39.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.02.006>
- Thijs, S., Langill, T., Vangronsveld, J., 2017. Chapter Two - The bacterial and fungal microbiota of hyperaccumulator plants: small organisms, large influence. In: Cuypers, A., Vangronsveld, J. (Eds.), *Advances in Botanical Research*. Academic Press, pp. 43-86.
<https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.12.003>
- Wang, F., Feng, X., Liu, Y., Adams, C.A., Sun, Y., Zhang, S., 2022a. Micro(nano)plastics and terrestrial plants: up-to-date knowledge on uptake, translocation, and phytotoxicity. *Resources, Conservation and Recycling*. 185, 106503.
<https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106503>
- Wang, F., Zhang, X., Zhang, S., Zhang, S., Sun, Y., 2020. Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil. *Chemosphere*. 254, 126791.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.12.6791>
- Wang, X., Fan, X., Wang, W., Song, F., 2022b. Use of *Serendipita indica* to improve soybean growth, physiological properties, and soil enzymatic activities under different Cd concentrations. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 9, 66.
<https://doi.org/10.1186/s40538-022-00331-1>
- Yang, L., Kang, S., Wang, Z., Luo, X., Guo, J., Gao, T., Chen, P., Yang, C., Zhang, Y., 2022. Microplastic characteristic in the soil across the Tibetan Plateau. *Science of The Total Environment*. 828, 154518.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154518>
- Yang, W., Cheng, P., Adams, C.A., Zhang, S., Sun, Y., Yu, H., Wang, F., 2021. Effects of microplastics on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in a soil spiked with ZnO nanoparticles. *Soil Biology and Biochemistry*. 155, 108179.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108179>
- Zahoor, M., Irshad, M., Rahman, H., Qasim, M., Afridi, S.G., Qadir, M., Hussain, A., 2017. Alleviation of heavy metal toxicity and phytostimulation of *Brassica campestris* L. by endophytic *Mucor* sp. MHR-7. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 142, 139-149.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.005>
- Zhang, S., Han, B., Sun, Y., Wang, F., 2020. Microplastics influence the adsorption and desorption characteristics of Cd in an agricultural soil. *Journal of Hazardous Materials*. 388, 121775.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121775>
- Zhang, W., Wang, J., Xu, L., Wang, A., Huang, L., Du, H., Qiu, L., Oelmüller, R., 2017. Drought stress responses in maize are diminished by *Piriformospora indica*. *Plant*

- Signaling & Behavior. 13.
<https://doi.org/10.1080/15592324.2017.1414121>
- Zhang, Z., Cui, Q., Chen, L., Zhu, X., Zhao, S., Duan, C., Zhang, X., Song, D., Fang, L., 2022a. A critical review of microplastics in the soil-plant system: distribution, uptake, phytotoxicity and prevention. Journal of Hazardous Materials. 424(Pt D), 127750. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127750>
- Zhang, Z., Li, Y., Qiu, T., Duan, C., Chen, L., Zhao, S., Zhang, X., Fang, L., 2022b. Microplastics addition reduced the toxicity and uptake of cadmium to *Brassica chinensis* L. Science of the Total Environment. 852, 158353. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158353>
- Zhou, Y., Wang, J., Zou, M., Jia, Z., Zhou, S., Li, Y., 2020. Microplastics in soils: a review of methods, occurrence, fate, transport, ecological and environmental risks. Science of the Total Environment. 748, 141368. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141368>