فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۶۳، آذر و دی‌ماه ۱۴۰۳ صفحه: ۳۷۷-۳۸۸
https://doi.org/10.22034/13.63.377

مقاله پژوهشی

اثر قارچ اندوفیت *Serendipita indica* بر برخی از ویژگی‌های رشدی گیاه ریحان بنفش تحت سمیت فلز سرب در خاک

صالح شهابی‌وند*، احمد آقایی* و الناز یوسف‌نژاد
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۰۸)

چکیده
قارچ‌های آندوفیت همزیست ریشه، نقش مهمی در افزایش کارایی میزبان در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین دارند. در این پژوهش به منظور بررسی اثرات مفید قارچ *Serendipita indica* در کاهش اثرات منفی سمیت سرب در گیاه ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.)، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه در چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد استفاده شامل دو سطح قارچ *S. indica* (حضور قارچ و فقدان قارچ) و تیمار سرب در چهار غلظت (صفر، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بود. تنش سرب اثر منفی روی گیاه ریحان داشت، به‌طوریکه باعث کاهش درصد همزیستی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شد. کاربرد قارچ آندوفیت به عنوان محرک زیستی اثرات مثبت معنی‌داری بر پارامترهای مورد بررسی داشت، به‌طوریکه در سطوح مختلف سرب باعث افزایش در وزن خشک اندام هوایی (۴۶/۷-۱۴/۹ درصد)، وزن خشک ریشه (۵۴-۵ درصد) غلظت کلروفیل *a* (۲۷/۸- ۸ درصد) کلروفیل *b* (۵۴- ۹/۷ درصد) و فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز (۵۸۰-۲۱۸ درصد) و آسکوربات پراکسیداز (۲۷۳-۱۵۰) شد. با افزایش میزان سرب در خاک، تجمع سرب در ریشه و اندام هوایی بیشتر شد و در همه سطوح سرب در خاک، مقدار سرب در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود. با کاربرد قارچ، مقدار سرب افزایش معنی‌دار در ریشه (۴۲۸-۱۲۵ درصد) و برگ (۲۴۸-۵۶ درصد) حاصل کرد. با استفاده از این نتایج می‌توان گفت که قارچ *S. indica* به عنوان یک محرک زیستی با افزایش شاخص‌های رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، می‌تواند تا حدی با سمیت سرب در همه سطوح سرب در خاک، مقابله کرده و با کاهش اثرات زیان‌بار سرب، باعث افزایش تحمل گیاه ریحان در خاک آلوده به سرب شود.

کلمات کلیدی: گیاه دارویی، فلز سنگین، اندوفیت ریشه، همزیستی

مقدمه
ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی دارویی و از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است. کاربردهای مختلف ریحان شامل استفاده دارویی، کاربرد در تهیه ادویه‌جات و ترشی‌جات و نیز استفاده به صورت سبزی تازه است. در طب سنتی از گیاه ریحان به‌عنوان داروی ضدسردرد، ضدسرفه، ضدبیماری‌های گوارشی و همچنین ضدنارسایی کلیوی استفاده می‌شود (Falowo *et al.*, 2019). از ترکیبات شیمیایی اسانس دخیل در تولید طعم‌های متمایز واریته‌های ریحان می‌توان از اوژنول،

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: shahabi70@yahoo.com; aghaee2001@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]

سیترات، سینامات، سیترونلول، ژرانیول، متیل چاویکول و میرسن نام برد (Stanojevic *et al.*, 2017).

قارچ اندوفیت *Serendipita indica* با نام قبلی *Piriformospora indica* یک بازیدیومیست از راسته Sebacinales است که در سال ۱۹۹۷ از صحرای تار هند جدا شد (Narayan *et al.*, 2021). مهمترین مزیت این قارچ نسبت به قارچ‌های مایکوریزای آربوسکولار این است که همزیست اختیاری است و به راحتی می‌توان آن را روی محیط‌های مصنوعی مختلف کشت داد. تأثیر مثبت همزیستی با قارچ *P. indica* در بهبود پارامترهای رشدی و میزان جذب عناصر غذایی در گیاهان مختلف مانند نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) گزارش شده است (Khalvandi *et al.*, 2017). در تحقیقی Khademian و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که در گیاه کنجد (*Sesamum indicum*) تلقیح با قارچ *P. indica* موجب بهبود پارامترهای رشدی و افزایش میزان جذب عناصر غذایی از قبیل نیتروژن، فسفر و پتاسیم شد. از طرف دیگر، تلقیح ریشه گیاه با قارچ‌های مفید خاک نه تنها می‌تواند رشد و عملکرد گیاه را در شرایط بدون تنش بهبود بخشد، بلکه می‌تواند تحمل گیاه را در شرایط استرس‌زا مانند سمیت فلزات سنگین افزایش دهد (Alam *et al.*, 2019). در گزارشی، Sabra و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که *P. indica* تحمل ریحان (*Ocimum basilicum* L.) را به مسمومیت مس و سرب بهبود می‌بخشد. در گزارشی دیگر Shahabivand و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که *P. indica* تحمل آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) به سمیت کادمیوم (Cd) را با بی‌حرکت کردن Cd در ریشه افزایش داد. در گیاه کلزا، قارچ *P. indica* در سطوح مختلف سرب در خاک، بر صفات رویشی اثر مثبتی داشت به طوریکه باعث افزایش ارتفاع بوته، سطح برگ، وزن تر و خشک ساقه و اندام هوایی و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و بدین ترتیب تا حدودی اثر سمیت سرب را در گیاه کاهش داد (امامیان طبرستانی و همکاران، ۱۳۹۸). سخایی و همکاران (۱۴۰۰) نشان دادند که گیاهان شنبلیله تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* در مقایسه با گیاهان شاهد از رشد و عملکرد بیشتری در شرایط تنش کادمیوم برخوردار بودند.

امروزه پیشرفت صنعتی و شهرنشینی موجب گستردگی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین شده که منابع این فلزات می‌تواند شامل کارخانه‌های تولید سیمان، فعالیت‌های مربوط به صنعت، زباله‌های شهری و صنعتی، آفت‌کش‌ها، کودها، و آلاینده‌های جوی باشد (Amin *et al.*, 2014). فلز سنگین سرب به‌عنوان یکی از آلاینده‌های هوا و همین‌طور به‌عنوان یکی از معضلات اصلی خاک‌های کشاورزی و کاهش‌دهنده شدید عملکرد محصولات کشاورزی گزارش شده است (Jiang *et al.*, 2019). به‌علت تجمع بالای این فلز در سطح خاک، سرب به‌راحتی در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد و با جذب از طریق ریشه برخی از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهی و رشد آنها را دچار اختلال می‌کند (Laidlaw *et al.*, 2018). علاوه‌براین، سرب با تأثیر منفی بر میتوز، ایجاد کلروز برگی، توقف رشد ریشه و ساقه و کاهش دهنده فتوسنتز و سنتز DNA شناخته می‌شود و بر بسیاری از فعالیت‌های آنزیمی اثر مضر دارد (Ghnaya *et al.*, 2013). این عنصر نه تنها بر رشد گیاهان تأثیر منفی دارد بلکه با ورود به رژیم غذایی موجب بروز خطراتی برای سلامتی انسان و جانوران می‌شود.

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر قارچ آندوفیت ریشه *S. indica* بر درصد همزیستی، پارامترهای رشدی، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط سمیت سرب در خاک در گیاه دارویی و ارزشمند ریحان بنفش بود. همچنین میزان سرب ریشه و برگ در شرایط حضور و فقدان قارچ در محیط‌کشت نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

اعمال تیمارها و شرایط کشت: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در گلخانه پژوهشی گروه علوم و مهندسی باغبانی در دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه اجرا شد. در تحقیق حاضر، اثر فلز سرب در چهار سطح

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]

مختلف (صفر، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و تأثیر قارچ در دو سطح (فقدان قارچ و حضور قارچ) بر روی پارامترهای رشد و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه ریحان بررسی شد. در این آزمایش از گلدان‌های ۵ کیلوگرمی و در شرایط گلخانه‌ای استفاده شد. خاک مورد استفاده برای گلدان‌ها از خاک مزرعه دانشگاه مراغه تهیه شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک به صورت: شن ۷۶٪، سیلت ۱۵٪، رس ۹٪، ماده آلی ۱/۲۸٪، سرب ۱/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نیتروژن کل ۰/۱۳٪، فسفر ۳۱/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم، پتاسیم ۲۹۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، pH ۷/۴ و EC ۱/۷ dS/m بود. خاک آزمایشی با بخار در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت (۳ بار در ۳ روز متوالی) به منظور از بین بردن میکروارگانیسم‌ها اتوکلاو شد. به مدت چهار هفته هر دو روز یکبار به خاک‌های آزمایشی (در چهار سطح مختلف) آب داده و بهم زده شد تا سرب در اجزای تشکیل‌دهنده خاک کاملاً پخش شود. گلدان‌ها ابتدا با آب شستشو و با محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد ضدعفونی و سپس ۵ کیلوگرم خاک به گلدان‌ها اضافه شد البته برای زه‌کشی بهتر دانه‌های ماسه درشت‌تر در ته گلدان‌ها قرار داده شدند.

بذر گیاه ریحان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذور به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به همراه چند قطره توئین ۲۰ ضدعفونی شدند و سپس بذور چند بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. برای جوانه‌زنی، کاغذ صافی را درون پتری‌دیش‌های ۸ سانتی‌متری قرار داده و ۳۰ عدد بذر درون هر پتری‌دیش قرار گرفت و ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر به هر پتری اضافه شد. در هر گلدان ۸ عدد بذر ریحان کاشته شد و بعد از استقرار کامل گیاه اقدام به تنک کردن گلدان‌ها شد و در هر گلدان پنج گیاه باقی ماند. برای گلدان‌هایی که دارای تیمار قارچ بودند در زیر هر بذر تعداد یک تکه از محیط‌کشت جامد قارچ به ابعاد ۱×۱×۰/۲ سانتی‌متر قرار گرفت (Shahabivand *et al.*, 2017). پس از کاشت بذرها ابتدا هر گلدان به میزان ۴۰۰ سی‌سی آبیاری شد پس از این مرحله هر دو روز یک‌بار به میزان ۴۰۰ سی‌سی (نزدیک به ظرفیت زراعی گلدان‌ها) آبیاری شد. با توجه به نتایج آنالیز خاک و به منظور افزایش رشد گیاهان، از محلول نیم‌هوگلند بعد از مرحله سه برگچه‌ای در سه مرحله و در فواصل زمانی منظم به مقدار ۴۰۰ سی‌سی استفاده شد. گلدان‌های آزمایشی در دمای روزانه و شبانه گلخانه به ترتیب ۲ ± ۲۵ و ۲ ± ۱۸ درجه سانتی‌گراد، شدت نور حدود ۲۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و رطوبت نسبی ۶۵ الی ۷۵ درصد کشت شدند.پس از اینکه نمونه‌های گیاهی به رشد کافی رسیدند (۱۱۰ روز پس از کاشت دانه‌ها) نمونه‌برداری از ریشه و اندام‌های هوایی انجام گرفت. برای آنالیز بیوشیمیایی، نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شدند. بعد از جداکردن قسمت هوایی گیاه از ریشه، طول و وزن تر ریشه و اندام هوایی کلیه گیاهان مربوط به تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها درون پاکت کاغذی قرار داده شده و به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون قرار داده شد و وزن خشک نمونه‌ها به کمک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم تعیین گردید.

اندازه‌گیری کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها: برای اندازه‌گیری کلروفیل*a*، *b* و کاروتنوئیدها، ۰/۲ گرم از برگ تر گیاه با استفاده از نیتروژن مایع در هاون چینی له شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه و همگن شد و در ادامه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. میزان جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل *a*، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل *b* خوانده شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های آرنون غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد (Arnon, 1967).

درصد کلونیزاسیون: نمونه‌های ریشه به قطعات کوچک (۱ سانتی‌متری) تقسیم شد و به مدت ۱۰ دقیقه در KOH ۱۰٪ قرار گرفته سپس با HCl ۲٪ در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه اسیدی شدند. ریشه‌ها بعد از صاف‌کردن، به مدت ۲۰ دقیقه در محلول با نسبت ۱:۱ تریپان بلو ۰/۰۵ درصد و لاکتوفنول جوشانده و رنگ‌آمیزی شد. کلونیزاسیون ریشه همزیست با استفاده از روش خطوط منقطع پیشنهادشده توسط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]

Giovannetti و Mosse (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: میزان پروتئین محلول کل به روش برادفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. برای استخراج عصاره گیاهی، ابتدا حدود ۰/۵ گرم از هر نمونه گیاهی در هاون و به کمک نیتروژن مایع به‌خوبی پودر شد. پودر حاصله به تیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل و به آن ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم اضافه گردید. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۳۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، کمپلکس واکنش شامل ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار، ۲۵۰ میکرولیتر آسکوربات یک میلی‌مولار، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۴ میلی‌مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج بود. تغییرات جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از ضریب خاموشی ۲/۸ cm^{-1} $mmol^{-1}$ محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981). فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) از طریق روش Cakmak و Horst (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷)، ۱۰۰ میکرولیتر H_2O_2 (۷۰ میلی‌مولار)، ۷۵۰ میکرولیتر گایاکول (۱۰ میلی‌مولار) و عصاره پروتئینی بود. فعالیت آنزیم GPX در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی معادل ۲۶/۶ mM^{-1} cm^{-1} در محاسبه فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری غلظت عنصر سرب: ریشه و برگ خشک‌شده در آون (۰/۱ گرم) پس از پودرشدن در آسیاب با مخلوطی از HNO_3 و $HClO_4$ به نسبت (۷:۱ حجمی/حجمی)، هضم شدند. محتوای سرب در عصاره‌های گیاهی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی (Shimadzu، ژاپن) تعیین شد.

مطالعه حاضر بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی و در چهار تکرار اجرا شد. داده‌های بدست آمده از آزمایش‌های انجام‌شده با نرم‌افزار MSTAT-C تجزیه و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2016 انجام شد.

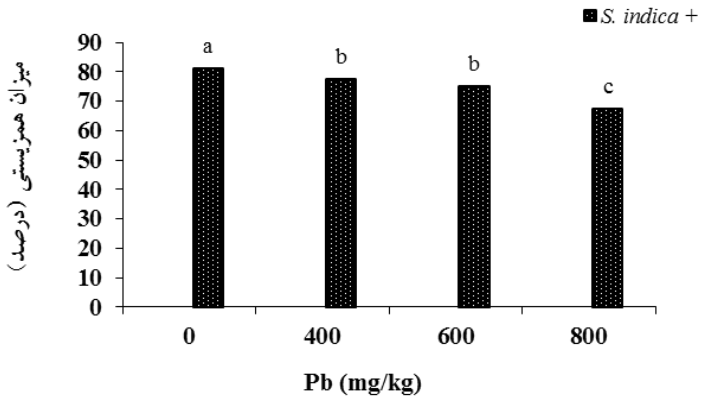
نتایج و بحث

درصد همزیستی: نتایج شکل ۱ نشان داد که قارچ با موفقیت باعث کلونیزه‌شدن ریشه ریحان در حضور سرب تا مقدار ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک شده است. افزایش غلظت سرب در خاک باعث کاهش درصد همزیستی شده است. بیشترین درصد همزیستی در گیاهان بدون تیمار سرب بدست آمد و کمترین درصد همزیستی در تیمار سرب ۸۰۰ میلی‌گرم حاصل شد (شکل ۱). در مطالعه قبلی ما، کاهش کلونیزاسیون *S. indica* با افزایش آلودگی خاک با کادمیوم در گیاهان آفتابگردان مشاهده شد (Shahabivand *et al*., 2017). این کاهش در کلونیزاسیون ریشه با افزایش غلظت عناصر سنگین در خاک ممکن است به دلیل اثرات منفی فلز سمی بر سرعت جوانه‌زنی هاگ و یا رشد هیف قارچ باشد. همان‌طور که انتظار می‌رفت در تیمارهای تلقیح‌نشده ریحان با قارچ، هیچگونه همزیستی با قارچ مذکور مشاهده نگردید (شکل ۱).

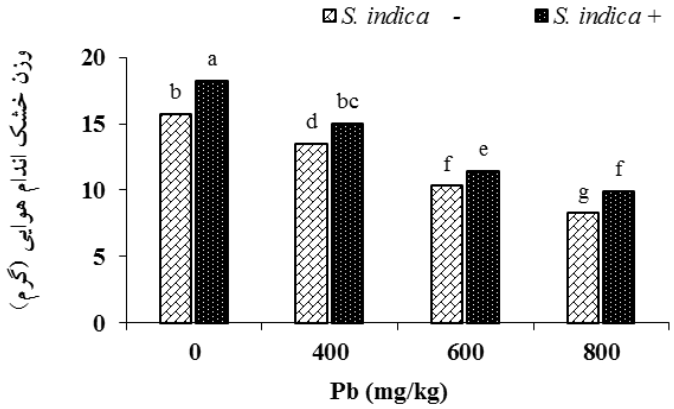
وزن خشک گیاه: نتایج شکل ۲ و ۳ نشان داد که افزایش غلظت سرب (هم در محیط دارای قارچ و هم بدون حضور قارچ) سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد. مشخص شده که حضور سرب در خاک می‌تواند اثرات منفی بر رشد و تجمع زیست‌توده در گیاه داشته باشد. کاهش رشد تحت تنش سرب ممکن است به دلیل اختلال در فعالیت آنزیم‌هایی که در چرخه فتوسنتزی کالوین دخالت دارند، کاهش غلظت Ca^{2+} که ناشی از مهار ناقل‌های کلسیم توسط سرب و جایگزینی سرب بجای کلسیم و یا تولید گونه‌های فعال اکسیژن یا ROS (Reactive Oxygen Species) که منجر به تنش اکسیداتیو و آسیب به غشای سلولی می‌شود، باشد (Sharma and Dubey, 2005; Wojas *et al*., 2007). داده‌های مربوط به شکل ۲ و ۳ مشخص کرد که تیمار قارچ باعث افزایش معنی‌دار در وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

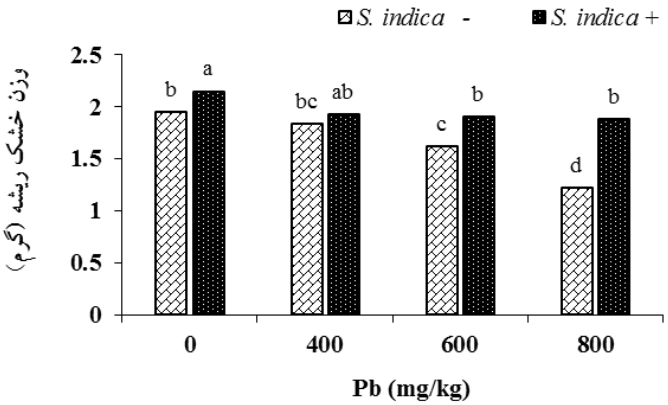
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف تیمار سرب بر درصد همزیستی گیاه ریحان. حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica*: تیمار فاقد قارچ



شکل ۲- اثر متقابل غلظت‌های مختلف سرب و قارچ *S. indica* بر وزن خشک اندام هوایی ریحان. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica*: تیمار فاقد قارچ



شکل ۳- اثر متقابل غلظت‌های مختلف سرب و قارچ *S. indica* بر وزن خشک ریشه ریحان. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica*: تیمار فاقد قارچ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]

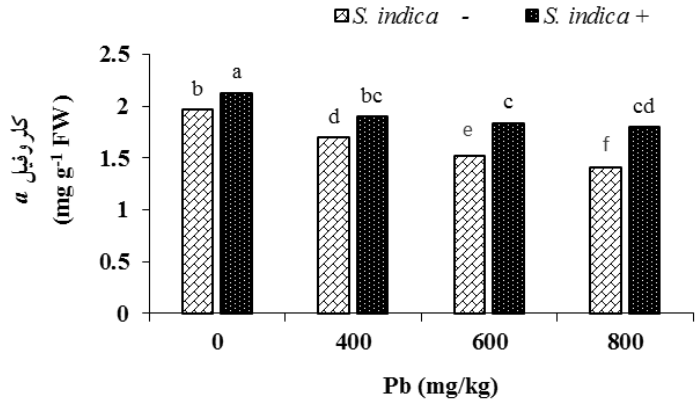
بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی (۲۸/۲۳ گرم) و ریشه (۲/۱۵ گرم) در سطح صفر سرب و حضور قارچ *S. indica* و کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی (۱۹/۲۵ گرم) و ریشه (۱/۸۸ گرم) در تیمار ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و عدم کاربرد قارچ *S. indica* مشاهده گردید (شکل ۲ و ۳). کریمی و همکاران (Karimi *et al*., 2022) نشان دادند که هم‌زیستی قارچ *P. indica* با گیاه جو باعث افزایش زیست‌توده و ارتفاع گیاه جو نسبت به گیاه تلقیح‌نشده شد و همچنین باعث افزایش تحمل گیاه نسبت به غلظت بالای سرب شد. تعدیل هورمون‌های گیاهی دخیل در رشد گیاه، افزایش جذب درشت‌مغذی‌ها و ریزمغذی‌ها از خاک و افزایش کارایی فتوسنتز میزبان از مکانیسم‌های دخیل در افزایش رشد گیاهان به واسطه همزیستی با *S. indica* هستند (Qiang *et al*., 2012; Varma *et al*., 2012).

میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (مربوط به شکل ۴ و ۵) نشان داد که با افزایش غلظت سرب هم در محیط فاقد قارچ و هم در محیط دارای قارچ غلظت کلروفیل *a* و *b* کاهش معنی‌داری یافته است، به طوریکه در گیاهان فاقد تیمار قارچ که این کاهش بیشتر بود و در بالاترین سطح سرب در خاک، کلروفیل *a* به میزان ۲۸/۶٪ و کلروفیل *b* به میزان ۴۱/۷٪ نسبت به گیاهان فاقد تیمار سرب کاهش یافت. کاهش در بیوسنتز کلروفیل را می‌توان با کاهش فعالیت آنزیم δ-آمینو لوولینیک اسید دهیدراتاز (یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز تتراپیرول در هسته کلرفیل) در گیاهان تیمارشده توسط سرب مرتبط دانست (Rossato *et al*., 2012). همچنین، مشخص شده که کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل به حداقل رسیدن جذب آهن و منیزیم توسط گیاه تحت تنش سرب، تخریب کلروفیل توسط فعالیت کلروفیلاز و کاهش سرعت تولید کلروفیل به دلیل تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت سرب باشد (Sharma and Dubey, 2005). از طرف دیگر تیمار قارچ در محیط باعث افزایش معنی‌دار در کلروفیل *a* و b شده است، به طوریکه بیشترین میزان کلروفیل *a* (۲/۱۲mg) و کلروفیل *b* (۰/۸۰mg) مربوط به تلقیح قارچ *S. indica* و محیط فاقد سرب بود و کمترین میزان کلروفیل *a* (۱/۴۰mg) و کلروفیل *b* (۰/۴۲mg) مربوط به تیمار ۸۰۰ میلی‌گرم سرب و بدون تلقیح قارچ *S. indica* بود (شکل ۴ و ۵). افزایش قابل توجه در محتوای کلروفیل a و b در حضور *S. indica* می‌تواند با افزایش جذب مواد معدنی مرتبط باشد به طوریکه مشخص شده *S. indica* در همزیستی با جو و آناناس محتوای منیزیم را (به عنوان یک بخش اصلی و محوری در ساختار کلروفیل) افزایش می‌دهد. همچنین، افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ *S. indica* می‌تواند به دلیل بهبود وضعیت آبی گیاه باشد (Karimi *et al*., 2022).

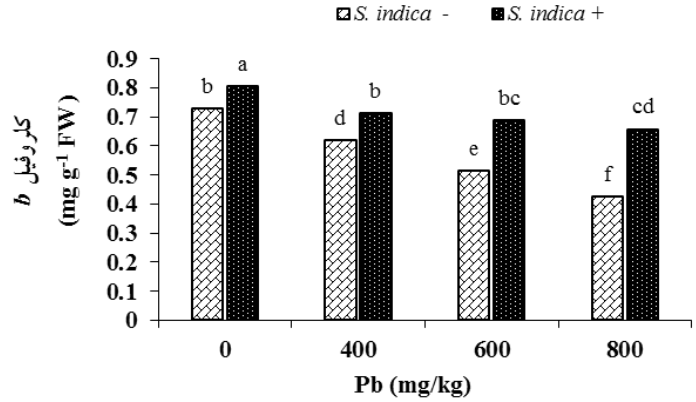
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج شکل ۶ و ۷ نشان داد که افزایش غلظت سرب هم در محیط فاقد قارچ و هم در محیط دارای قارچ باعث افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز ریحان شده است. این نتایج مشابه با نتایج تحقیق قبلی ما در گیاه گلرنگ تحت سمیت سرب در خاک است، به طوریکه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش معنی‌دار حاصل کرد و این امر باعث کاهش میزان پراکسید هیدروژن ناشی از تنش اکسیداتیو سرب در گلرنگ شد (Shahabivand *et al*., 2019). مشخص شده که گیاهان در شرایط تنش، با دارا بودن سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی معمولاً سطوح ROS را در سلول در حد متعادل نگه می‌دارند. از طرفی، تیمار قارچ در همه سطوح سرب در خاک، باعث افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه شده است. بیشترین میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز (۱/۴۳ واحد) و آسکوربات پراکسیداز (۱/۶۲ واحد) مربوط به تیمار سرب در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم و حضور قارچ *S. indica* است و کمترین میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز (۰/۱۶۰ واحد) و آسکوربات پراکسیداز (۰/۴۱ واحد) مربوط به تیمار شاهد است (شکل ۶ و ۷). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در گیاه ریحان تحت همزیستی *S. indica* نشان‌دهنده نقش حفاظتی این قارچ در شرایط تنش فلز سمی سرب است تا گیاه بتواند تأثیر مضر تنش اکسیداتیو ناشی از سرب را کاهش داده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

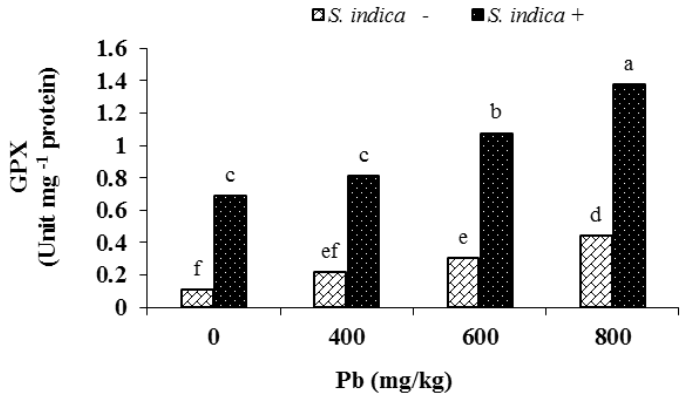
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف سرب و تلقیح قارچ *S. indica* بر میزان کلروفیل *a* گیاه ریحان. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica*: تیمار فاقد قارچ



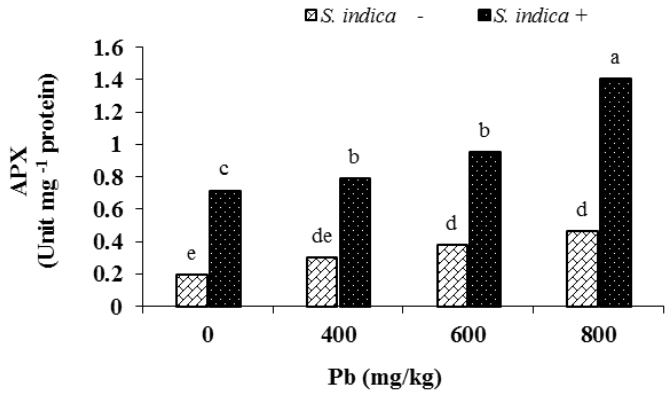
شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف سرب و تلقیح قارچ *S. indica* بر میزان کلروفیل *b* گیاه ریحان. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica*: تیمار فاقد قارچ



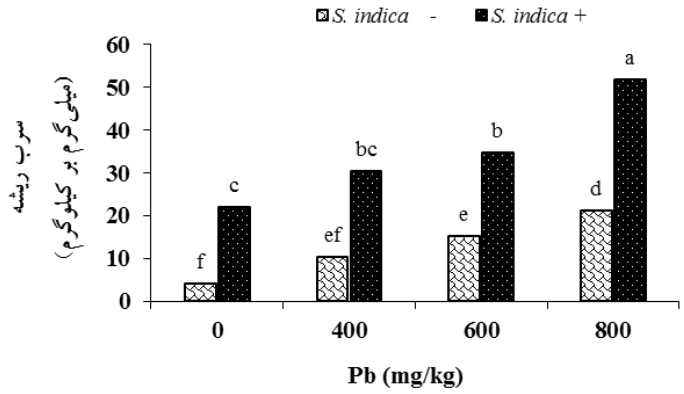
شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف سرب و قارچ *S. indica* بر آنزیم گایاکول پراکسیداز گیاه ریحان. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica*: تیمار فاقد قارچ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

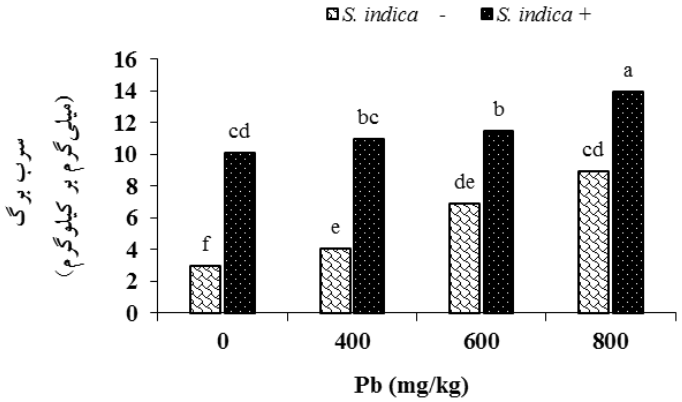
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف سرب و قارچ *S. indica* بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاه ریحان. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica* : تیمار فاقد قارچ



شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف سرب و قارچ *S. indica* بر میزان سرب ریشه گیاه ریحان. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica*: تیمار فاقد قارچ



شکل ۹- اثر غلظت‌های مختلف سرب و قارچ *S. indica* بر میزان سرب برگ گیاه ریحان. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. + *S. indica*: تیمار دارای قارچ؛ - *S. indica*: تیمار فاقد قارچ

و سطوح ROS را در سطح کنترل‌شده حفظ کند. این امر اثبات شده که فعال‌شدن سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدان هدف اصلی این

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]

قارچ در شرایط تنش در برگ‌های گیاه همزیست است (Baltruschat *et al.*, 2008).

میزان سرب ریشه و برگ: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۸ و ۹) نشان داد که افزایش غلظت سرب هم در تیمار فاقد قارچ و هم در تیمار دارای قارچ باعث افزایش سرب ریشه و برگ گیاه ریحان شده است و نیز غلظت سرب در ریشه در همه سطوح سرب در خاک بیشتر از اندام هوایی بود که نشان‌دهنده محدودیت در انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی است. در مطابقت با نتایج این آزمایش، بالابودن غلظت سرب در ریشه نسبت به اندام هوایی در گیاه *Coronopus didymus* گزارش شده است (Sidhu *et al.*, 2016).

تیمار قارچ (در هر سطح سرب) باعث افزایش در سرب ریشه و برگ شده و بیشترین میزان سرب ریشه (۵۱/۹ میلی‌گرم) و برگ (۱۳/۹۷ میلی‌گرم) در تیمار با غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب با قارچ *S. indica* و کم‌ترین میزان سرب ریشه (۴/۱ میلی‌گرم) و برگ گیاه ریحان (۲/۹۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به سطح صفر سرب و بدون تلقیح قارچ تعلق داشت. نتایج این تحقیق با نتایج قبلی ما که در حضور قارچ مقدار فلز سنگین در ریشه بیشتر شده است، مشابهت دارد (Shahabivand *et al.*, 2017; Shahabivand *et al.*, 2019). گزارش شده است که قارچ‌ها حلالیت فلزات سنگین را در خاک افزایش داده و از این رو جذب آنها توسط ریشه را از طریق تولید اسیدهای آلی مختلف بهبود می‌بخشند (Fontenelle *et al.*, 2017). علاوه‌براین، به‌نظر می‌رسد که سطح بزرگ‌تر ایجادشده توسط *S. indica* در ریشه گیاهان و حفظ سرب توسط میسلیوم‌های قارچی (به‌عنوان یک مخزن مهم برای فلز سنگین از طریق کلاته‌شدن یون‌های سرب در داخل قارچ) یا جذب یون‌ها به کیتین در دیواره سلولی قارچ می‌تواند در تجمع سرب در ریشه و کاهش انتقال سرب نقش داشته باشد. دیواره‌های سلولی قارچ دارای گروه‌های عاملی مانند هیدروکسیل، کربوکسیل و فسفوریل هستند که به‌عنوان محل اتصال برای جذب فلزات سنگین عمل می‌کنند (Javanbakht *et al.*, 2014). نتایج تحقیقات قبلی که در بالا به آنها اشاره شد به همراه نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که با وجود افزایش میزان سرب در ریشه و ساقه گیاه، حضور قارچ احتمالاً با افزایش هورمون‌های محرک رشد، جذب مواد غذایی از خاک، بالابردن کارایی فتوسنتز و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با کم‌کردن اثر سمی فلز سرب، باعث افزایش زیست‌توده در گیاه دارویی ریحان شده است.

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که قارچ *S. indica* با موفقیت می‌تواند ریشه گیاه ریحان را در غلظت‌های بالای سرب در خاک کلونیزه کند. هر چند که تیمار سرب در خاک باعث کاهش زیست‌توده و غلظت کلروفیل در گیاه ریحان شد ولی همزیستی قارچ *S. indica* با ریشه گیاه علاوه بر اثر مثبت بر روی رشد و افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی و همچنین میزان کلروفیل، باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شد. از طرف دیگر، حضور قارچ باعث افزایش غلظت سرب در ریشه و برگ ریحان شد. می‌توان گفت قارچ *S. indica* با بهبود شرایط برای گیاه (از طریق سازوکارهایی که نیاز به بررسی بیشتر دارد) می‌تواند جهت افزایش زیست‌توده و به‌عنوان کود زیستی در شرایط تنش فلز سرب در خاک، در گیاه مهم دارویی ریحان بکار رود.

منابع

امامیان طبرستانی، مهرانوش، پیردشتی، همت‌اله، تاجیک قنبری، محمدعلی، و صادق‌زاده، فردین (۱۳۹۸). کمی‌سازی اثر همزیستی با قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma longibrachiatum* بر برخی صفات رشدی و فیزیولوژیک کلزا تحت تنش سرب. *مجله تولید گیاهان زراعی ایران*، ۱۲(۳)، ۱۵۶-۱۳۹.

سخایی، فاطمه‌السادات، موحدی، زهرا، قبولی، مهدی، و محسنی‌فرد، احسان (۱۴۰۰). اثر قارچ *Piriformospora indica* بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه شنبلیله تحت تنش کادمیوم. *نشریه علوم و فناوری بذر ایران*، ۱۰(۱)، ۱۴۰-۱۲۳.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]

Alam, M. F., Akhter, M., Mazumder, B., Ferdous, A., Hossain, M. D., Dafader, N. C., & Atique Ullah, A. K. M. (2019). Assessment of some heavy metals in selected cosmetics commonly used in Bangladesh and human health risk. *Journal of Analytical Science and Technology*, *10*(1), 1-8.

Amin, A., Fazal, S., Mujtaba, A., & Singh, S. K. (2014). Effects of land transformation on water quality of Dal Lake, Srinagar, India. *Journal of the Indian Society of Remote Sensing*, *42*(1), 119-128.

Arnon, A. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, *23*, 112-121.

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B. D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., et al. (2008). Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, *180*, 501-510.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry*, *72*, 248-254.

Cakmak, I. & Horst, J. H. (1991). Effects of Aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine Max*). *Physiologia Plantarum*, *83*, 463-468.

Falowo, A. B., Mukumbo, F. E., Idamokoro, E. M., Afolayan, A. J., & Muchenje, V. (2019). Phytochemical constituents and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil on ground beef from boran and Nguni cattle. *International Journal of Food Science*, *21*, 1-8.

Fontenelle, R. O. D. S., Sobrinho, A. C. N., Soares, B. V., Aguiar, F. L. L. D., Brito, E. H. S. D., Cavalcante, C. S. D. P., ... & Morais, S. M. D. (2017). Effect of essential oils from *Mangifera indica* L. cultivars on the antifungal susceptibility of Candida spp. strains isolated from dogs. *Revista Brasileira de Saude e Producao Animal*, *18*, 337-346.

Ghnaya, T., Zaier, H., Baioui, R., Sghaier, S., Lucchini, G., Sacchi, G. A., & Abdelly, C. (2013). Implication of organic acids in the long-distance transport and the accumulation of lead in *Sesuvium portulacastrum* and *Brassica juncea*. *Chemosphere*, *90*(4), 1449-1454.

Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, *84*, 489-500.

Javanbakht, V., Alavi, S. A., & Zilouei, H. (2014). Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent. *Water Science and Technology*, *69*(9), 1775-1787.

Jiang, N. J., Liu, R., Du, Y. J., & Bi, Y. Z. (2019). Microbial induced carbonate precipitation for immobilizing Pb contaminants: Toxic effects on bacterial activity and immobilization efficiency. *Science of The Total Environment*, *672*, 722-731.

Karimi, R., Amini, H., & Ghabooli, M. (2022). Root endophytic fungus *Piriformospora indica* and zinc attenuate cold stress in grapevine by influencing leaf phytochemicals and minerals content. *Scientia Horticulturae*, *293*, 110665.

Khademian, R., Asghari, B., Sedaghati, B., & Yaghoubian, Y. (2019). Plant beneficial rhizospheric microorganisms (PBRMs) mitigate deleterious effects of salinity in sesame (*Sesamum indicum* L.): Physio-biochemical properties, fatty acids composition and secondary metabolites content. *Industrial Crops and Products*, *136*, 129-139.

Khalvandi, M., Amerian, M. R., Pirdashti, H., Baradaran Firoozabadi, M., & Gholami, A. (2017). Effects of *Piriformospora indica* fungi symbiotic on the quantity of essential oil and some physiological parameters of peppermint in saline conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*, *9*(2), 1-20.

Laidlaw, M. A., Alankarage, D. H., Reichman, S. M., Taylor, M. P., & Ball, A. S. (2018). Assessment of soil metal concentrations in residential and community vegetable gardens in Melbourne, Australia. *Chemosphere*, *199*, 303-311.

Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, *22*, 867-880.

Narayan, O. P., Verma, N., Jogawat, A., Dua, M., & Johri, A. K. (2021). Sulfur transfer from the endophytic fungus *Serendipita indica* improves maize growth and requires the sulfate transporter SiSulT. *The Plant Cell*, *33*(4), 1268-1285.

Qiang, X., Zechmann, B., Reitz, M. U., Kogel, K. H., & Schafer, P. (2012). The mutualistic fungus *Piriformospora indica* colonizes Arabidopsis roots by inducing an endoplasmic reticulum stress-triggered caspase-dependent cell death. *Plant Cell*, *24*, 794-809.

Rossato, L. V., Nicoloso, F. T., Farias, J. G., Cargnelluti, D., Tabaldi, L. A., Antes, F. G., Dressler, V. L., Morsch, V. M., & Schetinger, M. R. (2012). Effects of lead on the growth, lead accumulation and physiological responses of *Pluchea sagittalis*. *Ecotoxicology*, *21*, 111-123.

Sabra, M., Aboulnasr, A., Franken, P., Perreca, E., Wright, L. P., & Camehl, I. (2018). Beneficial root endophytic fungi increase growth and quality parameters of sweet basil in heavy metal contaminated soil. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1726.

Shahabivand, S., Tayebnia, V., & Aliloo, A. (2019). Impact of endophyte fungus *Serendipita indica* on fungus-assisted phyto-stabilization and performance of *Carthamus tinctorius* in a lead polluted soil. *Journal of Plant Research*, *31*(4), 838-851.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]

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.

Sharma, P. & Dubey, R. S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology, 17*(1), 35-52.

Sidhu, G. P. S., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2016). Effect of lead on oxidative status, antioxidative response and metal accumulation in *Coronopus didymus*. *Plant Physiology and Biochemistry, 105*, 290-296.

Stanojevic, L. P., Marjanovic-Balaban, Z. R., Kalaba, V. D., Stanojevic, J. S., Cvetkovic, D. J., & Cakic, M. D. (2017). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 20*(6), 1557-1569.

Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A., & Oelmuller, R. (2012). *Piriformospora indica*: A novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. *Agriculture Research, 1*, 117-131.

Wojas, S., Ruszczynska, A., Bulska, E., Wojciechowski M., & Antosiewicz, D. M. (2007). Ca^{2+}−dependent plant response to Pb^{2+} is regulated by LCT1. *Environmental Pollution, 147*, 584-592.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]

The effect of the endophytic fungus *Serendipita indica* on some growth characteristics of basil plants under lead toxicity in soil

Saleh Shahabivand*, Ahmed Aghaee* and Elnaz Yosefnezhad

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh, Maragheh, Iran
(Received: 2024/01/20, Accepted: 2024/05/28)

Abstract

Root symbiotic endophyte fungi play an important role in increasing host efficiency in soils contaminated by heavy metals. In this research, in order to investigate the beneficial effects of *S. indica* in reducing the negative effect of lead toxicity in basil (*Ocimum basilicum* L.), a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design as a pot experiment with four replicates in the research greenhouse of the University of Maragheh. The treatments were the application of *S. indica* (presence of fungus and absence of fungus) and lead treatment at four levels (400, 600 and 800 mg/kg soil). The lead stress had a negative effect on the basil plant, so that it decreased the percentage of colonization, dry weights of root and shoot, the amount of photosynthetic pigments, and also increased the activity of the antioxidant enzymes guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase. Application of endophytic fungus as a beneficial stimulant had positive effects on the studied parameters, so that it significantly increased the percentage of colonization, dry weight of shoot (14.9-46.7%), dry weight of root (5-54%), the amounts of chlorophyll *a* (8-27.8%) and *b* (9.7-54%) and the activity of guaiacol peroxidase (218-580%) and ascorbate peroxidase (150-273%) enzymes. By increasing lead concentration in the soil, the accumulation of lead in the roots (125-428%) and leaves (56-248%) increased, and at all levels of lead in the soil, the amount of lead in the roots was higher than that of shoots. Application of the fungus in the soil significantly increased the amount of lead in the roots and shoot. These results showed that *S. indica*, as a biological stimulant, by increasing growth indicators, photosynthetic pigments and the activity of antioxidant enzymes, can partially deal with lead toxicity, and by reducing the harmful effects of lead under all concentrations of lead in soil, it increases basil plant performance in lead-contaminated soil.

Keywords: Heavy metal, Medicinal plant, Root Endophyte, Symbiosis

Corresponding author, Email: Shahabi70@yahoo.com; aghaee2001@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-04]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.377]