فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۲، شماره ۵۷، آذر و دی‌ماه ۱۴۰۲ صفحه: ۲۹۹-۳۱۹
https://doi.org/10.22034/12.57.299

مقاله پژوهشی

اثر قارچ *Piriformospora indica* و اکسید نیتریک بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیکی-بیوشیمیایی ارزن معمولی (*Panicum miliaceum*) تحت سمیت روی

مریم ثمن و علی سپهری*
گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۲/۱۲)

چکیده

آلودگی اراضی زراعی به فلزات سنگین یکی از مشکلات مهم زیست‌محیطی است که سبب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌گردد. استفاده از پتانسیل زیستی میکروارگانیسم‌های مفید و بهره‌گیری از ترکیبات بیوشیمیایی کاهنده تنش اکسیداتیو از جمله راهکارهایی است که می‌تواند در کاهش سمیت فلزات سنگین و افزایش تحمل گیاهان به تنش مفید باشد. بر این اساس، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح عنصر روی (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، دو سطح قارچ *P. indica* (تلقیح و عدم تلقیح) و دو سطح محلول‌پاشی برگی (نیتروپروساید سدیم ۱۵۰ میکرومولار و آب) در گیاه ارزن معمولی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که کلونیزاسیون ریشه گیاهان در معرض تنش روی توسط قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم به‌طور مؤثری محتوای روی در اندام هوایی گیاهان در معرض تنش را کاهش داد. علاوه بر این، بیشترین محتوای کلروفیل و وزن خشک ریشه و اندام هوایی در شرایط حضور قارچ و استفاده همزمان از نیتروپروساید سدیم حاصل گردید. در گیاهان در معرض تنش، استفاده از قارچ *P. indica* و بکارگیری نیتروپروساید سدیم فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد که با کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دآلدئید همراه بود. در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد که بهره‌گیری از هم‌افزایی بین اکسید نیتریک و قارچ *P. indica* در جهت کاهش اثرات منفی سمیت روی و افزایش تحمل گیاه ارزن معمولی طی تنش روی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ارزن معمولی، اکسید نیتریک، فلز سنگین، قارچ اندوفیت

مقدمه

تنش‌های محیطی مهم‌ترین عامل کاهش‌دهنده عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان محسوب می‌شوند. در بین این تنش‌ها، سمیت فلزات سنگین تنش مهمی است که نه تنها سبب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود بلکه کیفیت مواد غذایی را نیز متأثر می‌سازد (Adrees *et al.*, 2015). آلودگی بیوسفر توسط فلزات سنگین با شروع انقلاب صنعتی به شدت سرعت گرفته و امروزه معضل آلودگی فلزات سنگین در خاک‌های زراعی در بسیاری از کشورهای جهان به‌طور فزاینده‌ای رایج شده است (کافی و همکاران، ۱۳۹۱). در طی چند دهه گذشته، استفاده طولانی مدت از کودها و سموم حاوی روی به‌همراه آلودگی ناشی از فعالیت‌های صنعتی سبب

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a_sepehri@basu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

شده تا سمیت روی و چگونگی تحمل آن در گیاهان امروزه مورد توجه ویژه قرار گیرد (Kabata-Pendias, 2010). فعالیت‌های صنعتی مانند استخراج و ذوب فلزات و زغال سنگ، احتراق زباله، تجزیه لجن، تولید سیمان، فرآوری فولاد و غیره مقادیر عظیمی از روی را به محیط می‌افزاید. استفاده از لجن تشکیل‌شده در مناطق صنعتی به عنوان کود در مزارع کشاورزی نیز باعث افزایش سطح روی در محیط می‌شود (Sidhu, 2016). علاوه بر این، مصرف روزافزون کودهای شیمیایی نیز خطر افزایش محتوای روی در خاک سطحی را به دنبال دارد (Kabata-Pendias, 2010). مقادیر زیاد روی با تداخل در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و فرآیندهای متابولیکی گیاه، سبب کاهش رشدونمو گیاه می‌گردد. غلظت‌های سمی روی، تقسیم سلولی و طویل‌شدن سلول‌ها را مختل می‌نماید. در حضور غلظت‌های زیاد روی، رشد و زیست‌توده تولیدی گیاهان کاهش یافته و بسیاری از فعالیت‌های متابولیکی مهم مختل می‌شود. علاوه بر این، غلظت فوق بهینه روی سبب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و اکسیداسیون اندامک‌های سلولی می‌گردد (Sidhu, 2016).

امروزه بهره‌گیری از برهمکنش گیاهان با میکروارگانیسم‌های مفید، یکی از رویکردهای مطرح برای افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش‌ها محسوب می‌شود (Achatz *et al.*, 2010; Khanna *et al.*, 2018). قارچ *Piriformospora (Serendipita) indica* که به زیر شاخه بازیدیومایکوتا (Basidiomycota) و راسته سباسینالز (Sebacinales) تعلق دارد، از جمله این میکروارگانیسم‌ها است. این قارچ اندوفیت همانند قارچ‌های مایکوریزای آربوسکولار (Arbuscular mycorrhizal fungi-AMF) به داخل ریشه گیاه میزبان نفوذ پیدا می‌کند. به‌طوری‌که ابتدا هیف‌های قارچ سطح ریشه گیاه میزبان را اشغال نموده، سپس وارد ریشه شده و درون بافت کورتکس ریشه گسترش می‌یابند (Oelmuller *et al.*, 2009). قارچ *P. indica* توانایی همزیستی با ریشه بسیاری از گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای را دارد و رشد و عملکرد گیاهان را بهبود می‌بخشد (Oelmuller *et al.*, 2009). علاوه بر این، سبب افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نظیر تنش ناشی از فلزات سنگین، شوری و خشکی می‌گردد (Li *et al.*, 2017; Nanda and Agrawal, 2018; Tyagi *et al.*, 2017). مکانیسم دقیق چگونگی تأثیر مثبت این قارچ بر رشد گیاهان در حال حاضر ناشناخته است (Aslam *et al.*, 2019). افزایش تولید ایندول-۳- استیک اسید در گیاهان همزیست با این قارچ و توسعه بیشتر ریشه‌ها از جمله دلایل احتمالی افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود رشد در این دسته از گیاهان محسوب می‌شود. علاوه بر این، تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش بیان ژن‌های مرتبط با تنش در گیاهان کلونیزه شده سبب افزایش تحمل نسبت به تنش‌ها می‌گردد (Gill *et al.*, 2016). یکی دیگر از راهکارهای مهم در جهت افزایش تحمل گیاهان زراعی نسبت به تنش‌های محیطی استفاده از ترکیبات بیوشیمیایی کاهنده تنش اکسیداتیو است که از جمله این ترکیبات می‌توان به اکسید نیتریک (NO) اشاره نمود. ثابت شده است که اکسید نیتریک در مکانیسم‌های مختلف واکنش نسبت به تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش فلزات سنگین مشارکت دارد (Wei *et al.*, 2020). اکسید نیتریک می‌تواند سمیت فلزات سنگین را از طریق تنظیم محتوای یون این دسته از فلزات و فعال‌سازی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) کاهش دهد (Cerana and Malerba, 2015; Sahay and Gupta, 2017; Wei *et al.*, 2020). علاوه بر این، اکسید نیتریک به‌طور مستقیم نیز در سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد تولیدشده طی تنش فلزات سنگین نقش دارد (Sahay and Gupta, 2017; Sharma *et al.*, 2020). امروزه در بسیاری از پژوهش‌ها از نیتروپروساید سدیم (SNP) به‌عنوان منبع اکسید نیتریک استفاده می‌شود. توانایی این ترکیب برای آزادسازی اکسید نیتریک در بافت گیاهی برای یک بازه زمانی نسبتاً طولانی و همچنین مقرون به صرفه بودن آن از جمله دلایلی است که سبب شده در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گیرد (Gupta *et al.*, 2020; Mur *et al.*, 2013).

ارزن معمولی (*Panicum miliaceum*) که ارزن پروسو (Proso Millet) نیز نامیده می‌شود یکی از قدیمی‌ترین گیاهان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

اهلی‌شده توسط بشر است و از نظر تولید دانه در ایران و جهان مهم‌ترین نوع ارزن محسوب می‌شود (Habiyaremye *et al*., 2017؛ خواجه‌پور، ۱۳۹۲). این گیاه در تغذیه انسان، خوراک دام و طیور استفاده می‌شود (Reddy *et al*., 2014). با توجه به اینکه در ارتباط با واکنش ارزن معمولی نسبت به سمیت ناشی از افزایش غلظت عنصر روی اطلاعاتی در دسترس نیست، پژوهش حاضر با هدف بررسی واکنش‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه تحت سمیت روی و همچنین بررسی وضعیت انباشت عنصر روی در ریشه و اندام هوایی گیاه تحت تأثیر همزیستی با قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی اکسید نیتریک انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۹ در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا اجرا شد. طرح آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بود. عوامل مورد بررسی عبارت بوند از: افزودن چهار غلظت روی (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، قارچ *P. indica* در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) و محلول‌پاشی برگی در دو سطح (نیتروپروساید سدیم (SNP) و آب). خاک مورد استفاده از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی تهیه و پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری به نسبت ۲ به ۱ با ماسه مخلوط گردید. برخی از مشخصات فیزیکی و شیمیایی این خاک در جدول ۱ آمده است. به منظور حذف اثرات ناخواسته میکروارگانیسم‌های موجود، خاک مورد استفاده توسط اتوکلاو طی دو مرحله و هر مرحله به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس استریل گردید. آلوده نمودن خاک به عنصر روی با استفاده از سولفات روی انجام گرفت (Ibiang *et al*., 2017; Sidhu *et al*., 2020). ابتدا مقدار سولفات روی مورد نیاز برای هر گلدان (با ظرفیت ۳ کیلوگرم خاک) توزین و پس از حل نمودن در حجمی از آب که خاک را به نقطه ظرفیت زراعی می‌رساند، به خاک اضافه گردید. به منظور نفوذ بهتر روی، خاک‌های آلوده به مدت ۱۵ روز در دمای اتاق نگهداری شده سپس مورد استفاده قرار گرفتند. طی این مدت، به صورت دوره‌ای درصد رطوبت خاک مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و با افزودن آب از دست رفته بر اثر تبخیر، رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی حفظ گردید.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

جدایه اولیه قارچ از گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا تهیه و پس از کشت در محیط PDA (Potato Dextrose Agar) به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس سوسپانسیون اسپور با غلظت ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر حاوی ۰/۰۲ درصد توئین تهیه گردید (Dabral *et al*., 2019). بذور اصلاح‌شده ارزن معمولی رقم پیشاهنگ از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه و پس از ضدعفونی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در دستگاه ژرمیناتور قرار گرفته و جوانه‌دار شدند. سپس بذور جوانه‌زده در سوسپانسیون اسپور غوطه‌ور شده و به مدت ۴ ساعت بر روی شیکر با سرعت چرخش ۵۰ دور در دقیقه قرار گرفتند (Mohd *et al*., 2017). همچنین قبل از کشت بذور در گلدان، حدود ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به محل کشت هر بذر در عمق ۱ سانتی‌متری اضافه گردید و بلافاصله پس از کشت بذور آبیاری صورت گرفت. گلدان‌ها در گلخانه با دمای۲± ۲۲/۳۲ درجه سلسیوس (روز/ شب) قرار گرفتند. در هر گلدان ۱۲ بذر کشت گردید که در نهایت پس از گذشت ۱۰ روز و اطمینان از استقرار کامل گیاهچه‌ها، تعداد بوته‌ها به ۷ بوته در هر گلدان کاهش یافت. در طول دوره رشد، گلدان‌ها به صورت روزانه وزن شده و رطوبت خاک در حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی حفظ شد. طول دوره روشنایی ۱۲ ساعت در نظر گرفته و کمبود نور مورد نیاز گیاهان با ترکیبی از لامپ‌های بخار سدیم و فلورسنت تأمین شد.

۲۵ روز پس از کاشت، محلول نیتروپروساید سدیم با غلظت ۱۵۰ میکرومولار (Shams *et al*., 2019) با استفاده از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

بافت خاک	اسیدیته	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	روی قابل جذب
			(٪)		(میلی‌گرم بر کیلوگرم)		
لوم شنی رسی	۷/۵	۱/۰۸	۰/۷۸	۰/۰۷	۷	۲۷۴	۲/۶

سمپاش دستی مجهز به نازل سه قلو شماره ۰۲ و زاویه پاشش ۱۱۰ در سطح گیاهان (۱۰ میلی‌لیتر برای هر بوته) اسپری شد. به منظور کاهش کشش سطحی از سورفکتانت غیریونی تریتون X-100 با غلظت ۰/۰۲ درصد استفاده شد. در مجموع در طول دوره آزمایش سه نوبت محلول‌پاشی انجام گرفت. در مورد گیاهان شاهد، محلول‌پاشی برگی صرفاً با استفاده از محلول تریتون X-100 با غلظت ۰/۰۲ درصد صورت گرفت. در مرحله هشت برگی (مرحله ۳۱ براساس مقیاس BBCH)، گیاهان از سطح خاک برداشت و پس از توزین و تهیه نمونه برگی تازه، به منظور اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. نمونه‌های برگ مورد استفاده برای اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی در نیتروژن مایع نگهداری شدند. علاوه بر این، ریشه گیاهان نیز از خاک جدا و پس از شستشو و حذف ذرات خارجی در آون خشک گردید.

به منظور بررسی همزیستی قارچ *P. indica* با ریشه گیاه و تعیین درصد کلونیزاسیون، بلافاصله پس از جداسازی ریشه‌ها از خاک و شستشو، نمونه‌های ریشه به طول یک سانتی‌متر تهیه و رنگ‌آمیزی شد (Phillips and Hayman, 1970). در مرحله بعد، قطعات ریشه رنگ‌آمیزی‌شده در زیر میکروسکوپ نوری از لحاظ وجود ساختارهای قارچ (هیف و کلامیدوسپورهای گلابی شکل) مورد بررسی قرار گرفت و درصد کلونیزاسیون ریشه براساس رابطه زیر محاسبه شد (Rai *et al.*, 2001).

$$\text{درصد کلونیزاسیون} = \frac{\text{تعداد قطعات حاوی ساختارهای قارچ}}{\text{مجموع قطعات ریشه مشاهده شده}} \times ۱۰۰$$

برای تعیین میزان کلروفیل کل، ۰/۵ گرم برگ تازه در ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ هموژن، و مخلوط حاصل با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از عصاره شفاف بالای لوله‌ها با افزودن استون ۸۰٪ به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسید و میزان جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر Varian مدل Cary100 در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b تعیین شد (Arnon, 1949).

برای سنجش محتوای روی، ابتدا ۰/۲ گرم نمونه آسیاب شده هضم گردید. محلول حاصل از هضم پس از عبور از کاغذ صافی، توسط آب‌مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید و محتوای عنصر روی توسط دستگاه جذب اتمی Varian مدل AA 220 اندازه‌گیری شد (Hoenig, 2003).

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دآلدئید از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده شد. در این روش، ۰/۲۵ گرم برگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده و عصاره حاصل سانتریفوژ شد. در مرحله بعد یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ، با ۴ میلی‌لیتر محلول حاوی تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و تیوباربیتیوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد در لوله آزمایش ریخته و مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس در بن‌ماری حرارت داده شد. سپس بلافاصله در آب یخ سرد شده و دوباره سانتریفوژ گردید. جذب این محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از مقدار حاصل کسر گردید. ضریب خاموشی ۱۵۵ $mM\ cm^{-1}$ در نظر گرفته شد.

برای اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن، از روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) استفاده شد. در این روش ۰/۵ گرم برگ تازه در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده و عصاره حاصل سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ با ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار و ۱

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

میلی‌لیتر یدید پتاسیم (KI) ۱ مولار مخلوط شد و جذب آن در ۳۹۰ نانومتر خوانده گردید. از مقادیر مختلف پراکسید هیدروژن برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۸)، اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید ۲ میلی‌مولار، ال- متیونین ۹/۹ میلی‌مولار، نیتروبلو تترازولیوم ۵۵ میکرومولار، تریتون X-100 ۰/۰۲ درصد، ریبوفلاوین ۱ میلی‌مولار و ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. پس از افزودن ریبوفلاوین در آخرین مرحله، نمونه‌ها برای شروع واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفتند. سپس میزان جذب نمونه در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. هر یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان مقداری از آنزیم در نظر گرفته شد که سبب ۵۰ درصد کاهش احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم در مقایسه با شاهد گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸۴) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۰)، پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده بود. احیاء پراکسید هیدروژن و متعاقباً کاهش جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی ۳۹/۴ میلی‌مول بر سانتی‌متر محاسبه و به صورت واحد آنزیم (یک میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده در دقیقه) بر گرم وزن تر برگ بیان گردید. فعالیت آنزیم پراکسیداز مطابق با روش Sanchez و همکاران (۱۹۹۵) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۰)، پراکسید هیدروژن ۱/۵ میلی‌مولار، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. جذب نمونه در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی آنزیم ۶/۳۹ میلی‌مول بر سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فعالیت آنزیم براساس واحد آنزیم (میزان تغییرات جذب در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر در یک دقیقه) در گرم وزن تر برگ بیان گردید.

تجزیه آماری داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS-9.4 پس از اطمینان از نرمال بودن باقی‌مانده داده‌ها انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد کلونیزاسیون ریشه: همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود تأثیر غلظت‌های مختلف روی در خاک بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه توسط قارچ *P. indica* در سطح یک درصد معنی‌دار بود.

درصد کلونیزاسیون ریشه گیاهان در معرض ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم خاک تفاوت معنی‌داری با گیاهان بدون تنش نداشت اما در غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم روی، درصد کلونیزاسیون ریشه حدود ۱۷ درصد کاهش نشان داد (شکل ۱). در مطالعه Adeyemi و همکاران (۲۰۲۱) نیز درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه سویا توسط قارچ *Funneliformis mosseae* طی تنش روی کاهش یافته است. شرایط نامساعد خاک و حضور فلزات سنگین بر برهمکنش بین قارچ‌های مایکوریزایی و گیاهان تأثیر منفی داشته و سبب کاهش رشد و فعالیت قارچ و در نتیجه کاهش میزان کلونیزاسیون ریشه گیاهان می‌گردد (Sabra *et al.*, 2018). به اعتقاد Padash و همکاران (۲۰۱۶) کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه در غلظت‌های زیاد روی ممکن است به دلیل تأثیر منفی سمیت روی بر سرعت جوانه‌زنی اسپورها و یا کاهش رشد هیف باشد. تأثیر منفی فلزات سنگین بر میزان فعالیت و قابلیت حیات هیف‌های قارچ‌های مایکوریزا و در نتیجه کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه گیاهان در مطالعه Ruscitti و همکاران (۲۰۱۷) نیز به اثبات رسیده است.

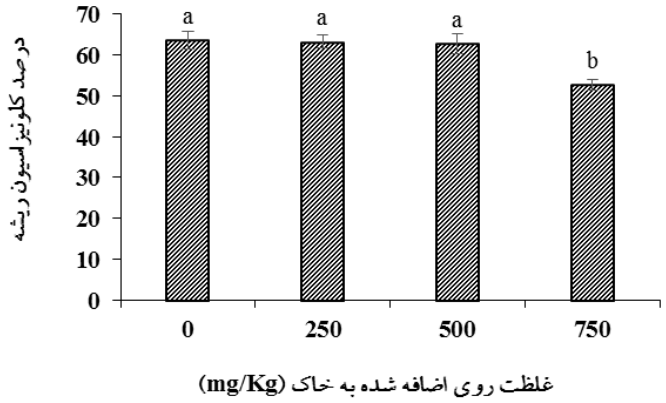
محتوای روی ریشه: براساس نتایج حاصل از تجزیه

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر روی و محلول‌پاشی برگی بر درصد کلونیزاسیون ریشه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
روی	۳	۱۶۴/۹**
محلول‌پاشی برگی	۱	۴/۳n.s.
روی × محلول‌پاشی برگی	۳	۱۶/۹n.s.
خطا	۱۶	۲۴/۳
ضریب تغییرات	-	۸/۱

، * و n.s. به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیر معنی‌دار



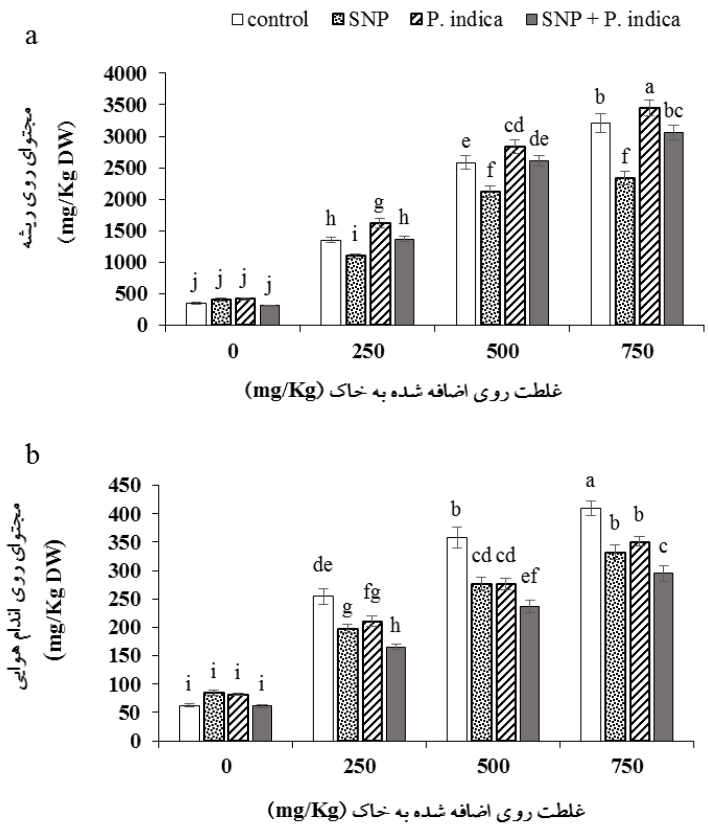
شکل ۱- تأثیر سمیت روی بر درصد کلونیزاسیون ریشه. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر روی، قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی بر محتوای روی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی و کلروفیل کل

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		محتوای روی ریشه	محتوای روی اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	محتوای کلروفیل کل
روی	۳	۱۷۰۱۲۱۴۸/۶**	۱۶۸۷۸۰/۹**	۱۰۷۵۶۱/۱**	۲۱۰۱۸۹۷/۴**	۰/۷۵**
قارچ	۱	۹۲۷۶۸۰/۴**	۱۶۷۴۹/۹**	۸۸۴۸۰/۴**	۲۶۹۷۳۳۵/۰**	۱/۰۰**
محلول پاشی برگی	۱	۱۱۶۹۴۷۶/۲**	۲۳۱۱۰/۷**	۹۷۰۰/۸**	۳۴۴۶۸۵/۰**	۰/۱۲**
روی × قارچ	۳	۱۳۸۷۶۷/۶**	۱۹۳۸/۸**	۲۱۶۲/۳**	۵۳۱۹۰/۴*	۰/۰۲**
روی × محلول‌پاشی برگی	۳	۱۸۷۶۰۰/۲**	۲۸۰۱/۵**	۱۵۴۹/۴*	۴۱۵۹۴/۷*	۰/۰۱*
قارچ × محلول‌پاشی برگی	۱	۵۵۷۵۸/۹n.s.	۱۵۹/۱n.s.	۱۲۷/۶ n.s.	۲۵۱۴/۳ n.s.	۰/۰۰۰۶ n.s.
روی × قارچ × محلول‌پاشی برگی	۳	۵۹۱۶۹/۴*	۹۴۲/۳*	۱۳۰۰/۵*	۳۵۲۷۲/۶*	۰/۰۱*
خطا	۳۲	۲۱۱۹۶/۱	۳۰۷/۱	۴۲۸/۲	۱۲۵۵۷/۹	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات		۸/۰	۷/۶	۱۰/۴	۱۰/۲	۶/۱

، *و n.s. به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیر معنی‌دار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش روی، قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم (SNP) بر محتوای روی ریشه (a) و اندام هوایی (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

واریانس، اثر روی، قارچ و محلول‌پاشی برگی و اثر متقابل آنها به استثناء اثر متقابل قارچ و محلول‌پاشی معنی‌دار بود (جدول ۳).

شکل ۲a نشان می‌دهد که با افزایش غلظت روی در خاک محتوای روی در ریشه گیاهان به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. کلونیزاسیون ریشه گیاهان در معرض تنش توسط قارچ *P. indica* نیز با افزایش انباشت روی در ریشه همراه بود و بیشترین محتوای روی ریشه (معادل ۳۴۵۰/۶ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده خشک) در گیاهان کلونیزه شده در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی حاصل شد. استفاده از اکسید نیتریک خارجی در گیاهان در معرض تنش سبب کاهش محتوای روی در ریشه این دسته از گیاهان گردید. به عنوان مثال، در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ محتوای روی در ریشه گیاهان تیمارشده با این ترکیب به ترتیب ۱۸/۴، ۱۸ و ۲۷ درصد کمتر از گروه شاهد در آن تیمار بود و همان گونه در شکل ۲a مشاهده می‌شود کمترین محتوای روی در سطوح مختلف تنش در ریشه گیاهان تیمارشده با این ترکیب حاصل شد. افزایش محتوای فلزات سنگین در ریشه گیاهان همزیست با قارچ *P. indica* توسط Li و همکاران (۲۰۲۰b) و Dabral و همکاران (۲۰۱۹) در مورد کادمیوم، Nanda و Agrawal (۲۰۱۸) در ارتباط با مس و Mohd و همکاران (۲۰۱۷) در خصوص آرسنیک گزارش شده است. در مطالعه Tabande و همکاران (۲۰۲۲) نیز محتوای روی ریشه گیاهچه‌های یونجه در معرض نانوذرات روی بر اثر کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ *P. indica* افزایش یافت. Mohd و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که واکوئول و دیواره سلولی اسپورهای قارچ *P. indica* می‌توانند مقادیر زیادی آرسنیک را انباشته نمایند. در مطالعه Dabral و همکاران (۲۰۱۹) نیز قابلیت انباشت کادمیوم در اسپورهای این قارچ به اثبات رسیده است. به اعتقاد Ibiang و همکاران (۲۰۱۷) هیف‌های قارچی قابلیت جذب بالایی برای اتصال فلزات

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

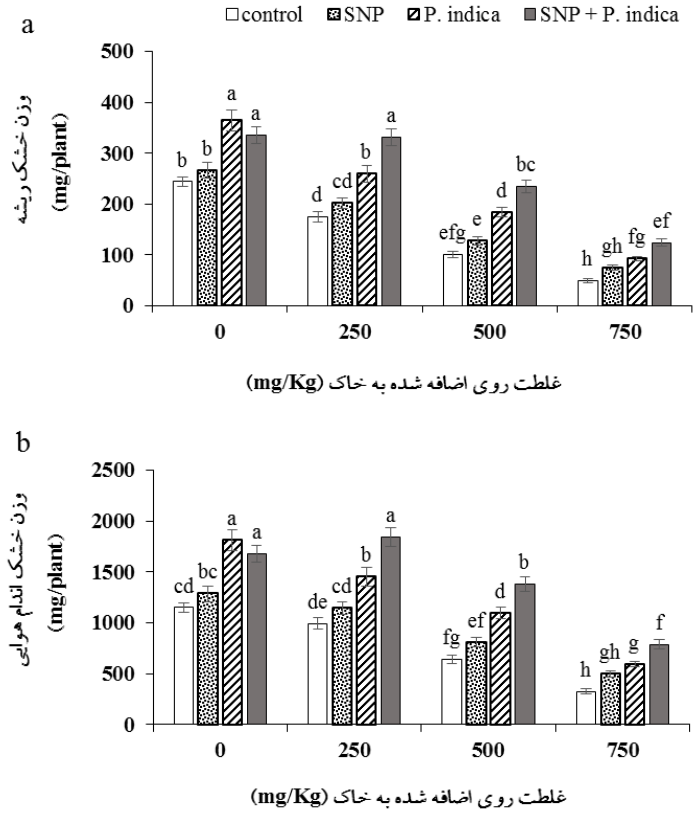
دارند. بنابراین به نظر می‌رسد افزایش محتوای روی در ریشه گیاهان همزیست با این قارچ می‌تواند به دلیل توانایی اسپورها و توده هیف قارچ برای جذب و انباشت روی باشد. علاوه بر این، ممکن است مشابه مطالعه Ghorbani و همکاران (۲۰۲۱) افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز فیتوکلاتین‌ها در ریشه گیاهان تلقیح‌شده سبب جداسازی و ایزوله روی در واکوئل‌های سلول‌های ریشه، افزایش انباشت و در نهایت غیر متحرک شدن روی در ریشه گردد. مشابه نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر، در مطالعه Kaya (۲۰۱۶) نیز محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم سبب کاهش انباشت روی در ریشه گیاهچه‌های ذرت در معرض روی گردید. Buet و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که تیمار گیاهچه‌های گندم در معرض غلظت‌های زیاد روی با اکسید نیتریک خارجی با کاهش محتوای روی در ریشه همراه بود. اکسید نیتریک از طریق تنظیم فعالیت ترکیبات ناقل در سلول‌های ریشه سبب کاهش جذب روی در گیاهان در معرض سمیت این عنصر می‌گردد (Sharma *et al*., 2020; Buet *et al*., 2014).

محتوای روی اندام هوایی: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر روی، قارچ و محلول‌پاشی برگی و اثر متقابل آنها به استثناء اثر متقابل قارچ و محلول‌پاشی معنی‌دار بود (جدول ۳).

همان‌گونه که در شکل ۲b مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت روی در خاک محتوای روی در اندام هوایی گیاهان افزایش یافت، به‌گونه‌ای که محتوای روی در اندام هوایی گیاهان در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی به‌طور متوسط ۴/۷ برابر گیاهان بدون تنش بود. کلونیزاسیون ریشه گیاهان در معرض تنش توسط قارچ *P. indica* محتوای روی اندام هوایی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. محلول‌پاشی برگی اکسید نیتریک نیز با کاهش معنی‌دار محتوای روی دراندام هوایی گیاهان در معرض تنش همراه بود. طی سمیت روی، کمترین محتوای روی اندام هوایی در گیاهان کلونیزه شده‌ای که با اکسید نیتریک تیمار شده بودند حاصل شد، به‌گونه‌ای که محتوای روی در اندام هوایی این دسته از گیاهان در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ به ترتیب ۳۴/۸، ۳۳/۹ و ۲۷/۸ درصد کمتر از شاهد هر گروه بود. در مطالعه Shahabivand و همکاران (۲۰۱۷) نیز همزیستی قارچ *P. indica* با گیاهان آفتابگردان با کاهش محتوای کادمیوم در اندام هوایی گیاهان در معرض تنش همراه بود. به اعتقاد Mohd و همکاران (۲۰۱۷) قارچ *P. indica* در واقع به عنوان یک غربال عمل نموده و از طریق غیرمتحرک نمودن فلزات سنگین در ریشه سبب کاهش انتقال آنها به اندام هوایی می‌گردد. در مطالعه Ghorbani و همکاران (۲۰۲۱) نیز مشخص گردید که قارچ *P. indica* از طریق کاهش بیان ژن *Lsi2* (که در انتقال آرسنیک به اندام هوایی نقش دارد) سبب کاهش محتوای آرسنیک اندام هوایی می‌گردد. همسو با نتایج مطالعه حاضر، Namdjoyan و همکاران (۲۰۱۷) و Kaya (۲۰۱۶) نیز گزارش نمودند که استفاده از اکسید نیتریک خارجی با کاهش محتوای روی در اندام هوایی گیاهچه‌های گلرنگ و ذرت همراه بوده است. در مطالعه Tripathi و همکاران (۲۰۱۷) نیز افزودن نیتروپروساید سدیم به محیط رشد گیاهچه‌های گندم در معرض نانو ذرات اکسید روی، سبب کاهش محتوای روی در اندام هوایی، شیره آوند چوبی و آبکش گردید. به اعتقاد Buet و همکاران (۲۰۱۴) اکسید نیتریک خارجی می‌تواند از طریق تغییر تعادل بین جریان ورودی و خروجی عنصر روی در سلول‌های ریشه درگیر جذب روی و تأثیر بر انتقال شعاعی روی، تحویل روی به آوند چوبی و چرخش مجدد آن از طریق آوند آبکش سبب کاهش انتقال روی به اندام هوایی گردد. در واقع اکسید نیتریک می‌تواند فعالیت ناقل‌هایی را که به‌طور خاص در این فرآیندها دخیل هستند، از طریق تغییرات پس از ترجمه نظیر نیتروزیلاسیون و نیتراسیون خود پروتئین‌های انتقال و/یا آنهایی که در تنظیم فعالیت آن‌ها مشارکت دارند، تنظیم نماید (Buet *et al*., 2014).

وزن خشک ریشه و اندام هوایی: بررسی برهمکنش سه‌گانه روی، قارچ و محلول‌پاشی نشان می‌دهد که وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان در حضور قارچ *P. indica* به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد (شکل ۳). به عنوان مثال در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]



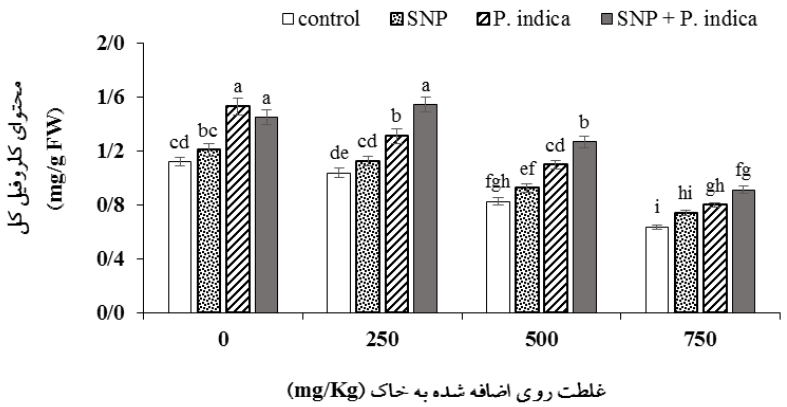
شکل ۳- مقایسه میانگین برهمکنش روی، قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم (SNP) بر وزن خشک ریشه (a) و اندام هوایی (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

غلظت‌های صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح‌شده به ترتیب ۵۲/۹، ۴۸، ۸۲/۴ و ۸۹/۶ درصد بیشتر از شاهد هر گروه بود. وزن خشک اندام هوایی نیز در حضور قارچ به ترتیب ۵۷/۱، ۴۶/۳، ۷۰/۵ و ۸۲/۲ درصد افزایش یافت. در گیاهان در معرض تنش، بیشترین وزن خشک ریشه و اندام هوایی در حضور قارچ و در گیاهان تیمار شده با اکسید نیتریک خارجی حاصل شد. به عنوان مثال در بالاترین سطح تنش، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان در تیمار فوق به ترتیب ۲/۵ و ۲/۴ برابر شاهد بود (شکل ۳).

نتایج مطالعه حاضر در ارتباط با بهبود رشد و افزایش ماده خشک در گیاهان کلونیزه‌شده توسط قارچ *P. indica* با نتایج مطالعه Su و همکاران (۲۰۱۷) در کلزا، Ghorbani و همکاران (۲۰۲۱) در گیاهچه‌های برنج در معرض آرسنیک و Hui و همکاران (۲۰۱۵) در گیاهچه‌های تنباکو در معرض کادمیوم مطابقت دارد. مکانیسم‌های مولکولی مؤثر بر افزایش رشد گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* بسیار پیچیده بوده و تاکنون به‌درستی شناسایی نشده است (Aslam *et al*., 2019). افزایش جذب عناصر غذایی نظیر فسفر (Aslam *et al*., 2019; Balemi and Negisho, 2012) و نیتروژن (Sherameti *et al*., 2005) به همراه بهبود و اصلاح هر دو مسیر بیوسنتز و سیگنالینگ فیتوهورمون‌ها و تقویت سیستم دفاعی (Aslam *et al*., 2019) از جمله مکانیسم‌های مطرح در ارتباط تأثیر مثبت این قارچ بر رشد گیاهان است. مشخص شده است که قارچ *P. indica* از طریق افزایش تولید ایندول-۳- استیک اسید سبب رشد و توسعه بیشتر ریشه گیاهان کلونیزه‌شده می‌گردد. علاوه بر این، به اعتقاد برخی محققین، افزایش رشد گیاهان تلقیح‌شده با این قارچ می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم نیترات و نشاسته باشد (Gill *et al*., 2016).

محتوای کلروفیل کل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]



شکل ۴- مقایسه میانگین برهمکنش روی، قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم (SNP) بر محتوای کلروفیل کل. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

داده‌ها نشان داد که تأثیر روی، قارچ و محلول‌پاشی برگی به همراه اثرات متقابل دوگانه به استثناء اثر متقابل قارچ و محلول‌پاشی برگی و اثر متقابل سه‌گانه بر محتوای کلروفیل کل گیاهان معنی‌دار بود (جدول ۳).

همزیستی گیاهان با قارچ *P. indica* تأثیر منفی افزایش غلظت روی بر محتوای کلروفیل گیاهان را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (شکل ۴). در کلیه سطوح تنش، بیشترین محتوای کلروفیل در شرایط حضور قارچ و تیمار با اکسید نیتریک حاصل گردید. به عنوان مثال در غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم روی، محتوای کلروفیل گیاهان همزیست با قارچ که با نیتروپروساید سدیم نیز تیمار شده بودند، حدود ۴۲/۱ درصد بیشتر از شاهد بود. ثابت شده است که مقادیر زیاد روی با آهن و منیزیم رقابت می‌کند و باعث کاهش جذب و کمبود این عناصر و در نتیجه کاهش محتوای کلروفیل در گیاه می‌شود (Sidhu, 2016). افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تأثیر منفی آن بر فعالیت آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز کلروفیل از دیگر دلایل کاهش غلظت کلروفیل طی سمیت روی است (Goodarzi *et al.*, 2020). تأثیر مثبت *P. indica* بر محتوای کلروفیل توسط Anith و همکاران (۲۰۱۸) در فلفل سیاه و شهابی‌وند و همکاران (۲۰۲۰) در آفتابگردان در معرض کادمیوم نیز گزارش شده است. افزایش بیان ژن‌های مربوط به سنتز کلروفیل در گیاهان همزیست با این قارچ که در مطالعه Jogawat و همکاران (۲۰۱۶) به اثبات رسیده است، از جمله دلایل افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان تلقیح شده است. افزایش جذب نیترات (Sherameti *et al.*, 2005) نیز می‌تواند سبب افزایش محتوای کلروفیل گردد. علاوه بر این، به نظر می‌رسد بهبود جذب عناصر غذایی و تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی (Aslam *et al.*, 2019) در گیاهان تلقیح‌شده با این قارچ نیز از جمله دلایل احتمالی افزایش محتوای کلروفیل باشد.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) تأثیر روی، قارچ و محلول‌پاشی برگی بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بود. اثرات متقابل دو گانه به استثناء اثر متقابل قارچ و محلول‌پاشی و اثر متقابل سه‌گانه نیز معنی‌دار گردید.

همان‌گونه که در شکل ۵a مشخص است با افزایش غلظت روی در خاک فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت، به‌گونه‌ای که فعالیت این آنزیم در گیاهان بدون تنش به‌طور متوسط ۶۴/۵ واحد در گرم وزن تر بود در حالیکه در گیاهان در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی به ۱۱۱/۹ واحد در گرم وزن تر رسید. تلقیح گیاهان با قارچ *P. indica* و یا محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم نیز سبب افزایش فعالیت این آنزیم در گیاهان در معرض تنش گردید. در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی، بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسیداز بر اثر تیمار گیاهان تلقیح‌شده با نیتروپروساید سدیم حاصل شد، به‌گونه‌ای که میزان فعالیت این آنزیم در تیمار فوق به ترتیب ۵۲، ۴۸ و ۴۶/۸ درصد بیشتر از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر روی، قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دآلدئید

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پراکسیداز	پراکسید هیدروژن	مالون دآلدئید
روی	۳	۴۸۱۸/۳**	۰/۰۷۶**	۱۴۱۳۱۶۱۰/۷**	۳۹/۰۸**	۳۲/۷۸**
قارچ	۱	۵۷۴۶/۵**	۰/۰۲۰**	۶۲۹۰۳۲۹/۲**	۸/۸۱**	۹/۷۵**
محلول پاشی برگی	۱	۱۸۸۰/۰**	۰/۰۱۱**	۱۴۶۵۶۲۸/۲**	۷/۰۷**	۶/۷۸**
روی × قارچ	۳	۹۵/۸*	۰/۰۰۱**	۳۲۶۲۸۷/۲**	۱/۰۷**	۱/۰۲**
روی × محلول‌پاشی برگی	۳	۱۳۶/۳*	۰/۰۰۲**	۲۱۰۱۷۷/۸**	۰/۹۶**	۰/۹۰**
قارچ × محلول‌پاشی برگی	۱	۸۳/۲ n.s.	۰/۰۰۰۱ n.s.	۱۷۷۲۰۷/۷*	۰/۱۱ n.s.	۰/۰۱ n.s.
روی × قارچ × محلول‌پاشی برگی	۳	۱۰۱/۶*	۰/۰۰۱*	۱۶۱۶۶۹/۲*	۰/۳۳*	۰/۲۸ n.s.
خطا	۳۲	۳۴/۸	۰/۰۰۰۳	۴۲۶۳۳/۸	۰/۱۲	۰/۱۰
ضریب تغییرات		۶/۴	۶/۷	۶/۸	۵/۳	۶/۵

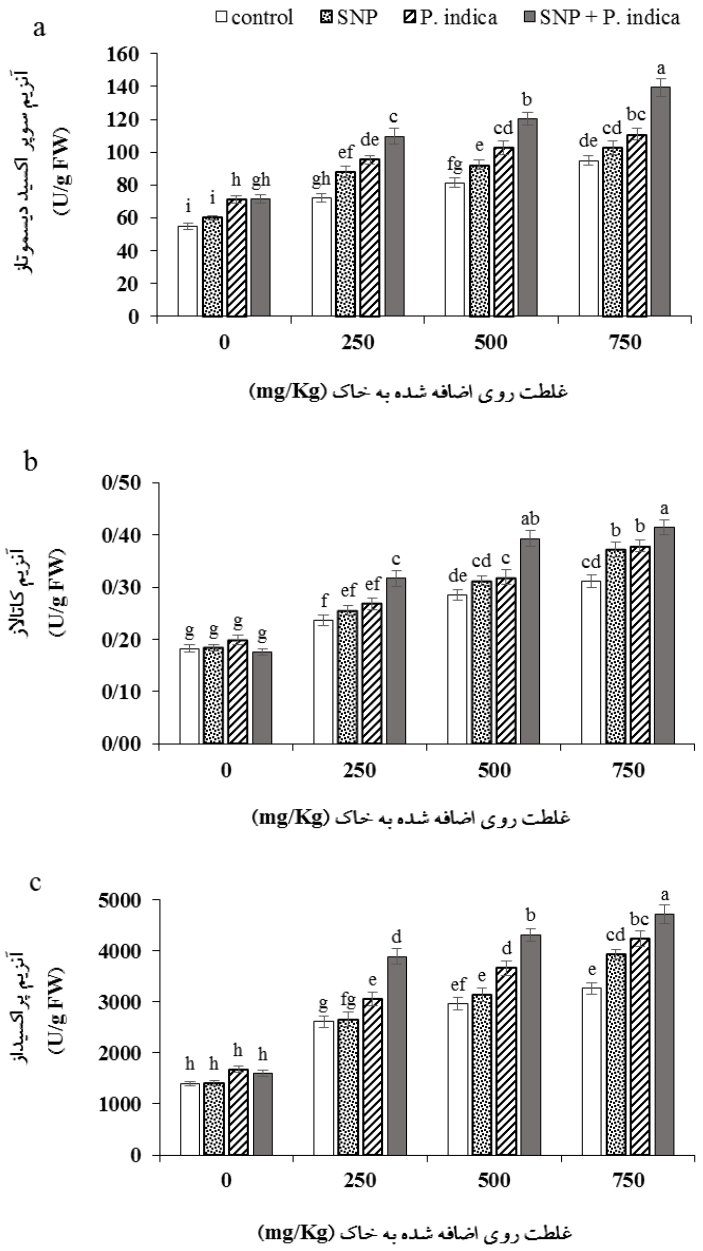
****، * و n.s. به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیر معنی‌دار**

شاهد در هر گروه بود. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز طی سمیت روی در گیاهچه‌های گلرنگ (Goodarzi *et al.*, 2020)، گندم (Li *et al.*, 2020a) و فلفل (Kaya *et al.*, 2018) نیز گزارش شده است. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان اولین خط دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو، تغییر شکل رادیکال سوپراکسید به اکسیژن مولکولی و پراکسید هیدروژن را کاتالیز می‌نماید و در نتیجه خطر تشکیل رادیکال هیدروکسیل طی واکنش هابر- ویس را کاهش می‌دهد (Gill and Tuteja, 2010). در ارتباط با تأثیر مثبت قارچ *P. indica* بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نتایج مشابهی توسط Abdelaziz و همکاران (۲۰۱۹) در گیاه گوجه‌فرنگی طی تنش شوری و Hui و همکاران (۲۰۱۵) در گیاه تنباکو در معرض کادمیوم گزارش شده است. مشخص شده است که قارچ *P. indica* از طریق افزایش بیان ژن *CSD1C* - یک ژن مربوط به سوپراکسید دیسموتاز سیتوپلاسمی - سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاهش آسیب اکسیداتیو در گیاهان تلقیح‌شده می‌گردد (Li *et al.*, 2020b). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اثر تیمار با اکسید نیتریک خارجی توسط Hu (۲۰۱۶) و Wang و همکاران (۲۰۱۶) در گیاهچه‌های جو و گوجه‌فرنگی در معرض سمیت مس و کادمیوم نیز گزارش شده است. در مطالعه Rizwan و همکاران (۲۰۱۸) اکسید نیتریک خارجی با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپراکسید دیسموتاز سبب افزایش مقاومت گیاهچه‌های برنج در برابر سمیت نیکل گردید. به اعتقاد Wei و همکاران (۲۰۲۰) طی تنش فلزات سنگین اکسید نیتریک می‌تواند از طریق تغییر بیان ژن‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و تنظیم فعالیت این ترکیبات اثرات منفی تنش را کاهش دهد، هر چند که مکانیسم‌های دقیق این فرآیند هنوز شناخته نشده است.

آنزیم کاتالاز: جدول ۴ نشان می‌دهد که علاوه بر اثرات اصلی روی، قارچ و ترکیبات کاهنده تنش، اثرات متقابل دوگانه به استثناء اثر متقابل قارچ و محلول‌پاشی برگی و اثرات متقابل سه عامل مورد بررسی بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود.

فعالیت آنزیم کاتالاز به دنبال افزایش غلظت روی در خاک افزایش یافت و در بالاترین سطح تنش، فعالیت این آنزیم به‌طور متوسط ۱/۹ برابر گیاهان بدون تنش بود (شکل ۵b). در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]



شکل ۵- مقایسه میانگین برهمکنش روی، قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم (SNP) بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (a)، کاتالاز (b) و پراکسیداز (c). میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم روی، قارچ *P. indica* تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت اما همزیستی قارچ با گیاهان ارزن در معرض ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی سبب افزایش ۱۱/۹ و ۲۱/۸ درصدی فعالیت این آنزیم گردید به لحاظ آماری، تأثیر مثبت استفاده از نیتروپروساید سدیم بر فعالیت آنزیم کاتالاز تنها در غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم روی معنی‌دار گردید، به‌گونه‌ای که در غلظت فوق فعالیت این آنزیم در گیاهان محلول‌پاشی شده ۱۹/۶ درصد بیشتر از شاهد بود. در کلیه سطوح تنش، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان همزیست با قارچ *P. indica* که با نیتروپروساید سدیم نیز تیمار شده بودند، حاصل شد (شکل ۵b). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در سمیت روی توسط Kaya و همکاران (۲۰۱۸) و dos Santos و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

همکاران (۲۰۲۰) در گیاهچه‌های فلفل و سویا نیز مشاهده شده است. کاتالاز یک آنزیم با سرعت تبدیل بالا است که می‌تواند در هر دقیقه ۶ میلیون مولکول پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل نماید (Gill and Tuteja, 2010). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* توسط Khalid و همکاران (۲۰۲۰) در گیاه *Artemisia annua* در معرض آرسنیک و Hui و همکاران (۲۰۱۵) در گیاه تنباکو در معرض کادمیوم نیز گزارش شده است. همچنین مطالعه Shahabivand و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که القاء بیان ژن مربوط به آنزیم کاتالاز در گیاهان همزیست با *Funelliformis mosseae* می‌تواند سبب افزایش فعالیت این آنزیم در گیاهان تلقیح‌شده گردد. در ارتباط با تأثیر مثبت اکسید نیتریک خارجی بر فعالیت آنزیم کاتالاز نتایج مشابهی توسط Wang و همکاران (۲۰۱۶) در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی طی تنش مس و کادمیوم گزارش شده است. در مطالعه Mostofa و همکاران (۲۰۱۴) نیز استفاده از نیتروپروساید سدیم در گیاهچه‌های برنج در معرض سمیت مس سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. تأثیر مثبت اکسید نیتریک خارجی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز می‌تواند به دلیل افزایش بیان ژن‌های کدکننده این آنزیم باشد (Rizwan *et al*., 2018).

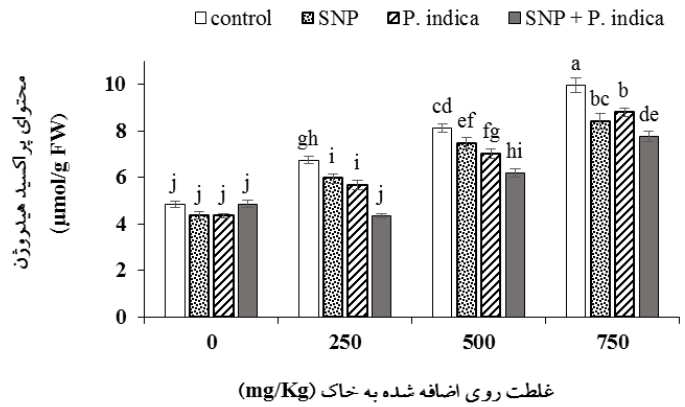
آنزیم پراکسیداز: همان‌گونه که در جدول ۴ مشخص است اثر روی، قارچ و محلول‌پاشی برگی به همراه اثر متقابل دو به دو و هر سه آنها معنی‌دار بود.

بررسی برهمکنش سه‌گانه روی، قارچ و محلول‌پاشی نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی به‌طور متوسط ۲/۶ برابر گیاهان بدون تنش بود (شکل ۵c). تلقیح گیاهان با قارچ *P. indica* نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان در معرض تنش گردید، به‌گونه‌ای که در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی فعالیت این آنزیم در گیاهان تلقیح‌شده به ترتیب ۱۷، ۲۳/۷ و ۲۹/۹ درصد نسبت به شاهد در هر گروه افزایش یافت. محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم نیز در گیاهان در معرض ۲۵۰ تا ۷۵۰ میلی‌گرم روی با افزایش فعالیت این آنزیم همراه بود اما به لحاظ آماری تأثیر مثبت محلول‌پاشی تنها در بالاترین سطح تنش معنی‌دار گردید. در گیاهان در معرض تنش، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اثر تیمار گیاهان تلقیح‌شده با اکسید نیتریک خارجی حاصل شد. به عنوان مثال در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی میزان فعالیت این آنزیم در تیمار قارچ *P. indica* به‌همراه SNP به ترتیب ۴۹، ۴۵/۵ و ۴۴/۷ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد (شکل ۵c).

در مطالعه dos Santos و همکاران (۲۰۲۰)، Nanda و Agrawal (۲۰۱۶) و He و همکاران (۲۰۱۶) نیز فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه‌های سویا، سنا (*Cassia angustifolia*) و بادمجان در معرض غلظت‌های زیاد روی افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز معمولاً بعنوان یک نشانگر زیستی در برابر سمیت فلزات سنگین در گیاهان مختلف در نظر گرفته می‌شود (Jouili *et al*., 2011). همسو با نتایج مطالعه حاضر، Tyagi و همکاران (۲۰۱۷) گزارش نمودند که همزیستی با قارچ *P. indica* سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه ارزن انگشتی طی تنش خشکی گردید. در مطالعه Nanda و Agrawal (۲۰۱۸) نیز حضور قارچ *P. indica* به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم پراکسیداز را در گیاه سنا در معرض سمیت مس افزایش داد. مطالعه Su و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که قارچ *P. indica* از طریق افزایش بیان پراکسیداز سبب افزایش مقاومت گیاهچه‌های تنباکو در برابر سمیت کادمیوم شده است. در ارتباط با تأثیر مثبت استفاده از اکسید نیتریک خارجی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نتایج مشابهی در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۱۶) در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی طی تنش مس و کادمیوم بدست آمده است. مشخص شده است که اکسید نیتریک از طریق افزایش بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله پراکسیداز و کمک به حفظ تعادل اکسایش-کاهش سلول، در کاهش خسارات ناشی از تنش‌های محیطی نقش دارد (Wei *et al*., 2020).

محتوای پراکسید هیدروژن: تجزیه واریانس داده‌ها نشان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]



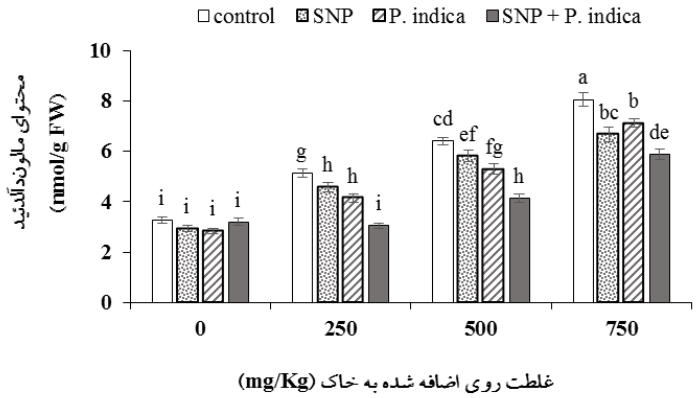
شکل ۶- مقایسه میانگین برهمکنش روی، قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم (SNP) بر محتوای پراکسید هیدروژن. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

می‌دهد که اثر روی، قارچ و محلول‌پاشی برگی به همراه اثرات متقابل دو به دو به استثناء اثر متقابل قارچ و محلول‌پاشی و اثر متقابل سه‌گانه بر محتوای پراکسید هیدروژن معنی‌دار بود (جدول ۴).

با افزایش غلظت روی در خاک محتوای پراکسید هیدروژن گیاهان افزایش یافت، به‌گونه‌ای که محتوای پراکسید هیدروژن گیاهان در معرض ۷۵۰ میلی‌گرم روی به‌طور متوسط ۴۲/۲ درصد بیشتر از گیاهان بدون تنش بود (شکل ۶). حضور قارچ به‌طور معنی‌داری سبب کاهش محتوای پراکسید هیدروژن گیاهان در معرض تنش گردید و در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی محتوای پراکسید هیدروژن گیاهان تلقیح‌شده به ترتیب ۱۵/۸، ۱۳/۶ و ۱۱/۵ درصد کمتر از گیاهان تلقیح نشده بود. استفاده از اکسید نیتریک خارجی نیز با کاهش معنی‌دار محتوای پراکسید هیدروژن گیاهان در معرض تنش همراه بود، به‌گونه‌ای که در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی محتوای پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمارشده با این ترکیب به ترتیب ۱۱/۷، ۸/۱ و ۱۵/۴ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. همان‌گونه که در شکل ۶ مشاهده می‌شود طی سمیت روی، کمترین محتوای پراکسید هیدروژن در گیاهان تلقیح‌شده‌ای که با نیتروپروساید سدیم تیمار شده بودند حاصل گردید. کاهش محتوای پراکسید هیدروژن بر اثر همزیستی با قارچ *P. indica* در *Artemisia annu* و برنج در معرض کادمیوم نیز گزارش شده است (Ma *et al*., 2019; Khalid *et al*., 2020). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر اثر تلقیح با قارچ *P. indica* از جمله دلایل کاهش محتوای پراکسید هیدروژن در این دسته از گیاهان محسوب می‌شود (Khalid *et al*., 2020). تأثیر مثبت استفاده از اکسید نیتریک خارجی بر کاهش محتوای پراکسید هیدروژن در مطالعه Tripathi و همکاران (۲۰۱۷) در گیاهچه‌های گندم در معرض سمیت نانو ذرات اکسید روی نیز مشاهده شده است. مشخص شده است که اکسید نیتریک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های مهارکننده پراکسید هیدروژن از گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از آن محافظت نموده و در نتیجه تعادل اکسایش-کاهش سلولی را حفظ می‌نماید (Santisree *et al*., 2019).

مالون دآلدئید: بررسی برهمکنش سه‌گانه روی، قارچ و محلول‌پاشی حاکی از آن است که تلقیح گیاهان ارزن در معرض تنش با قارچ *P. indica* و یا محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم به‌طور معنی‌داری تأثیر تنش بر محتوای مالون دآلدئید گیاهان را کاهش داده است (شکل ۷). همان‌گونه که در شکل ۷ مشاهده می‌شود، طی سمیت روی کمترین محتوای مالون دآلدئید در حضور قارچ و در گیاهان تیمارشده با نیتروپروساید سدیم حاصل شد. به عنوان مثال در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم روی محتوای مالون دآلدئید این دسته از گیاهان به ترتیب ۴۰/۵، ۳۵/۴ و ۲۶/۹ درصد کمتر از شاهد در هر گروه بود. افزایش محتوای مالون دآلدئید در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]



شکل ۷- مقایسه میانگین برهمکنش روی، قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم (SNP) بر محتوای مالون دآلدئید. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

گیاهچه‌های گلرنگ (Goodarzi *et al*., 2020)، سویا (dos Santos *et al*., 2020) و فلفل (Kaya *et al*., 2018) در معرض سمیت روی نیز مشاهده شده است. طی تنش فلزات سنگین و در نتیجه تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و وقوع تنش اکسیداتیو، اسیدهای چرب چند غیر اشباعی غشا تجزیه شده و مالون دآلدئید تولید می‌گردد که به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته می‌شود (Cao *et al*., 2017; Kapoor *et al*., 2019; Nanda and Agrawal, 2018). در ارتباط با کاهش محتوای مالون دآلدئید گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌های اندوفیت نتایج مشابهی توسط Ma و همکاران (۲۰۱۹) در برنج در معرض کادمیوم گزارش شده است. تأثیر مثبت قارچ *P. indica* بر سیستم دفاعی گیاه ارزن و افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و در نتیجه کاهش محتوای گونه‌های فعال اکسیژن نظیر پراکسید هیدروژن (شکل ۶) از جمله دلایل کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش محتوای مالون دآلدئید در این گیاهان محسوب می‌شود. در ارتباط با تأثیر استفاده از اکسید نیتریک خارجی بر کاهش محتوای مالون دآلدئید نتایج مشابهی توسط Chen و همکاران (۲۰۱۵) در گیاهچه‌های برنج در معرض نانوذرات اکسید روی گزارش شده است. کاهش محتوای مالون دآلدئید در گیاهان تیمارشده با اکسید نیتریک می‌تواند به دلیل قابلیت این ترکیب در واکنش با رادیکال‌های چربی مانند الکوکسی لیپید و پراکسیل لیپید ($LO^{\bullet}$ و $LOO^{\bullet}$) و توقف مرحله دوم فرآیند پراکسیداسیون لیپیدها باشد (Sahay and Gupta, 2017). القاء فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز از دیگر دلایل کاهش محتوای مالون دآلدئید در گیاهان تیمارشده با اکسید نیتریک خارجی محسوب می‌شود (Nabi *et al*., 2019).

نتیجه‌گیری

اگرچه درصد کلونیزاسیون ریشه گیاهان ارزن توسط قارچ *P. indica* در غلظت‌های بیش از ۵۰۰ میلی‌گرم روی کاهش یافت، اما تأثیر مثبت قارچ بر رشد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاهان همچنان مشهود بود. این امر نشان‌دهنده قابلیت بالای این قارچ برای رشد در شرایط نامساعد محیطی و پتانسیل بالقوه آن برای بهبود رشد و عملکرد گیاه در چنین شرایطی است. با افزایش غلظت روی در خاک، افزایش محتوای این عنصر در ریشه و اندام هوایی ارزن مشاهده گردید و میزان افزایش محتوای روی در ریشه گیاهان در مقایسه با اندام هوایی بیش‌تر بود. این موضوع می‌تواند نوعی مکانیسم سازگاری گیاه در جهت کاهش اثرات منفی تنش محسوب شود. بررسی محتوای روی در اندام هوایی گیاه ارزن و مقایسه آن با مقادیر مشخص‌شده برای گیاهان بیش‌انباشت‌کننده (بیش از ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نشان می‌دهد که قابلیت این گیاه برای انباشت عنصر روی کمتر از این دسته از گیاهان است. تلقیح گیاهان با قارچ *P. indica* و یا استفاده از اکسید نیتریک خارجی با کاهش محتوای روی در اندام هوایی گیاهان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

در معرض تنش همراه بود و کمترین محتوای روی در اندام هوایی گیاهان بر اثر هم‌افزایی بین قارچ و و محلول‌پاشی برگی نیتروپروساید سدیم حاصل شد. در گیاهان در معرض تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت. میزان افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با دو آنزیم دیگر بیشتر بود که این موضوع می‌تواند مؤید نقش مهم این آنزیم در مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت روی باشد. استفاده از قارچ *P. indica* و بکارگیری نیتروپروساید سدیم نیز سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید که تأثیر آن در ارتباط با کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دآلدئید، افزایش کلروفیل و در نهایت افزایش رشد گیاهان ارزن در معرض تنش مشهود بود. در مجموع با توجه به این‌که بیشترین مقدار وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه به همراه کمترین میزان پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط حضور قارچ و استفاده همزمان از نیتروپروساید سدیم حاصل شد، به نظر می‌رسد بهره‌گیری از هم‌افزایی بین اکسید نیتریک و قارچ *P. indica* در جهت کاهش اثرات منفی سمیت روی و افزایش تحمل گیاه ارزن نسبت به تنش مذکور مؤثر است.

منابع

خواجه‌پور، محمدرضا (۱۳۹۲) غلات. مرکز انتشارات جهاد دانشگاهی. اصفهان.

کافی، محمد، برزوئی، اعظم، صالحی، معصومه، کمندی، علی، معصومی، علی، و نباتی، جعفر (۱۳۹۱) فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی. مشهد.

Abdelaziz, M. E., Abdelsattar, M., Abdeldaym, E. A., Atia, M. A., Mahmoud, A. W. M., Saad, M. M., & Hirt, H. (2019). *Piriformospora indica* alters Na^+/K^+ homeostasis, antioxidant enzymes and LeNHX1 expression of greenhouse tomato grown under salt stress. *Scientia Horticulturae, 256*, 108532. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.059

Achatz, B., Kogel, K. H., Franken, P., & Waller, F. (2010). *Piriformospora indica* mycorrhization increases grain yield by accelerating early development of barley plants. *Plant signaling & behavior, 5*(12), 1685-1687. https://doi.org/10.4161/psb.5.12.14112

Adeyemi, N. O., Atayese, M. O., Sakariyawo, O. S., Azeez, J. O., Sobowale, S. P. A., Olubode, A., Mudathir, R., Adebayo, R., & Adeoye, S. (2021). Alleviation of heavy metal stress by arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Glycine max* (L.) grown in copper, lead and zinc contaminated soils. *Rhizosphere, 18*, 100325. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100325

Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., Zia-ur-Rehman, M., Irshad, M. K., & Bharwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environmental Science and Pollution Research, 22*, 8148-8162. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5

Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. *Methods in Enzymology, 105*, 121-126. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3

Anith, K., Aswini, S., Varkey, S., Radhakrishnan, N., & Nair, D. S. (2018). Root colonization by the endophytic fungus *Piriformospora indica* improves growth, yield and piperine content in black pepper (*Piper nigurm* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 14*, 215-220. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.03.012

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology, 24*(1), 1. https://doi.org/10.1104%2Fpp.24.1.1

Aslam, M. M., Karanja, J., & Bello, S. K. (2019). *Piriformospora indica* colonization reprograms plants to improved P-uptake, enhanced crop performance, and biotic/abiotic stress tolerance. *Physiological and Molecular Plant Pathology, 106*, 232-237. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2019.02.010

Balemi, T. & Negisho, K. (2012). Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 12* (3), 547-562. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162012005000015

Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry, 44*(1), 276-287. https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8

Buet, A., Moriconi, J. I., Santa-Maria, G. E., & Simontacchi, M. (2014). An exogenous source of nitric oxide modulates zinc nutritional status in wheat plants. *Plant Physiology and Biochemistry, 83*, 337-345. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.08.020

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

Cao, Y., Ma, C., Chen, G., Zhang, J., & Xing, B. (2017). Physiological and biochemical responses of *Salix integra* Thunb. under copper stress as affected by soil flooding. *Environmental Pollution, 225*, 644-653. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.040

Cerana, R. & Malerba, M. (2015). Role of nitric oxide in heavy metal stress. In: Nitric Oxide Action in Abiotic Stress Responses in Plants (eds. Khan, M. N., Mobin, M., Mohammad, F. and Corpas, F. J.) Pp. 181-192. Springer, Basel.

Chen, J., Liu ,X., Wang, C., Yin, S. S., Li, X. L., Hu, W. J., Simon, M., Shen, Z. J., Xiao, Q., Chu, C. C., Peng, X. X., & Zheng H. L. (2015). Nitric oxide ameliorates zinc oxide nanoparticles-induced phytotoxicity in rice seedlings. *Journal of Hazardous Materials, 297*, 173-182. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.04.077

Dabral, S., Varma, A., Choudhary, D. K., Bahuguna, R. N., & Nath, M. (2019). Biopriming with *Piriformospora indica* ameliorates cadmium stress in rice by lowering oxidative stress and cell death in root cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 186*, 109741. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109741

dos Santos, L. R., da Silva, B. R. S., Pedron, T., Batista, B. L., & da Silva Lobato, A. K. (2020). 24-Epibrassinolide improves root anatomy and antioxidant enzymes in soybean plants subjected to zinc stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 20*, 105-124. https://doi.org/10.1007/s42729-019-00105-z

Ghorbani, A., Tafteh, M., Roudbari, N., Pishkar, L., Zhang, W., & Wu, C. (2021). *Piriformospora indica* augments arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa*) by immobilizing arsenic in roots and improving iron translocation to shoots. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 209*, 111793. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111793

Gill, S. S., Gill, R., Trivedi, D. K., Anjum, N. A., Sharma, K. K., Ansari, M. W., Ansari, A. A., Johri, A. K., Prasad, R., & Pereira, E. (2016). *Piriformospora indica*: Potential and significance in plant stress tolerance. F*rontiers in Microbiology, 7*, 332. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00332

Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry, 48*(12), 909-930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Goodarzi, A., Namdjoyan, S., & Soorki, A. A. (2020). Effects of exogenous melatonin and glutathione on zinc toxicity in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 201*, 110853. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110853

Gupta, K. J., Hancock, J. T., Petrivalsky, M., Kolbert, Z., Lindermayr, C., Durner, J., Barroso, J. B., Palma, J. M., Brouquisse, R., & Wendehenne, D. (2020). Recommendations on terminology and experimental best practice associated with plant nitric oxide research. *New Phytologist, 225*(5), 1828-1834. https://doi.org/10.1111/nph.16157.

Habiyaremye, C., Matanguihan, J. B., D'Alpoim Guedes, J., Ganjyal, G. M., Whiteman, M. R., Kidwell, K. K., & Murphy, K. M. (2017). Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) and its potential for cultivation in the Pacific Northwest, US: A review. *Frontiers in Plant Science, 7*, 1961. 10.3389/fpls.2016.01961

He, J., Wang, Y., Ding, H., & Ge, C. (2016). Epibrassinolide confers zinc stress tolerance by regulating antioxidant enzyme responses, osmolytes, and hormonal balance in *Solanum melongena* seedlings. *Brazilian Journal of Botany, 39*, 295-303. https://doi.org/10.1007/s40415-015-0210-6

Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics, 125*(1), 189-198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1

Hoenig, M. (2003). Dry ashing. In: Comprehensive Analytical Chemistry (ed. Barcelo, D.) Pp. 235-255. Elsevier.

Hu, Y. (2016). Early generation of nitric oxide contributes to copper tolerance through reducing oxidative stress and cell death in hulless barley roots. *Journal of Plant Research, 129*, 963-978. https://doi.org/10.1007/s10265-016-0841-0

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

Ibiang, Y. B., Mitsumoto, H., & Sakamoto, K. (2017). Bradyrhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi modulate manganese, iron, phosphorus, and polyphenols in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under excess zinc. *Environmental and Experimental Botany, 137*, 1-13. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.011

Jogawat, A., Vadassery, J., Verma, N., Oelmuller, R., Dua, M., Nevo, E., & Johri, A. K. (2016). PiHOG1, a stress regulator MAP kinase from the root endophyte fungus *Piriformospora indica*, confers salinity stress tolerance in rice plants. *Scientific Reports, 6*(1), 1-15. https://doi.org/10.1038/srep36765

Jouili, H., Bouazizi, H., & El Ferjani, E. (2011). Plant peroxidases: Biomarkers of metallic stress. *Acta Physiologiae Plantarum, 33*, 2075-2082. https://doi.org/10.1007/s11738-011-0780-2

Kabata-Pendias, A. (2010). Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press.

Kapoor, D., Singh, S., Kumar, V., Romero, R., Prasad, R., & Singh, J. (2019). Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Gene, 19*, 100182. https://doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100182

Kaya, C. (2016). Nitric oxide improves high zinc tolerance in maize plants. *Journal of Plant Nutrition, 39*(14), 2072-2078. https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1193603

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

Kaya, C., Ashraf, M., & Akram, N. A. (2018). Hydrogen sulfide regulates the levels of key metabolites and antioxidant defense system to counteract oxidative stress in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants exposed to high zinc regime. *Environmental Science and Pollution Research, 25*, 12612-12618. https://doi.org/10.1007/s11356-018-1510-8

Khalid, M., Kayani, S. I., & Tang, K. (2020). The ameliorative effects of exogenous inoculation of *Piriformospora indica* on molecular, biochemical and physiological parameters of *Artemisia annua* L. under arsenic stress condition. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 206*, 111202. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111202

Khanna, K., Kohli, S. K., Bali, S., Kaur, P., Saini, P., Bakshi, P., Ohri, P., Mir, B. A., & Bhardwaj, R. (2018). Role of micro-organisms in modulating antioxidant defence in plants exposed to metal toxicity. In: Plants Under Metal and Metalloid Stress (eds. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Fujita, M.) Pp. 303-335. Springer, Singapore.

Li, D., Bodjrenou, D. M., Zhang, S., Wang, B., Pan, H., Yeh, K. W., Lai, Z., & Cheng, C. (2021). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms banana to cold resistance. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(9), 4973. https://doi.org/10.3390/ijms22094973

Li, G., Li, C., Rengel, Z., Liu, H., & Zhao, P. (2020a). Excess Zn-induced changes in physiological parameters and expression levels of TaZips in two wheat genotypes. *Environmental and Experimental Botany, 177*, 104133. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104133

Li, L., Li, L., Wang, X., Zhu ,P., Wu, H., & Qi, S. (2017). Plant growth-promoting endophyte *Piriformospora indica* alleviates salinity stress in *Medicago truncatula*. *Plant Physiology and Biochemistry, 119*, 211-223. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.08.029

Li, L., Zhu, P., Wang, X., & Zhang, Z. (2020b). Phytoremediation effect of *Medicago sativa* colonized by *Piriformospora indica* in the phenanthrene and cadmium co-contaminated soil. B*MC Biotechnology, 20*, 1-14. https://doi.org/10.1186/s12896-020-00613-2

Ma, L., Li, X., Wang, L., Li, Y., Bu, N., & Yu, C. (2019). Endophytic infection modulates ROS-scavenging systems and modifies cadmium distribution in rice seedlings exposed to cadmium stress. *Theoretical and Experimental Plant Physiology, 31*, 463-474. https://doi.org/10.1007/s40626-019-00159-5

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

Mostofa, M. G., Seraj, Z. I., & Fujita, M. (2014). Exogenous sodium nitroprusside and glutathione alleviate copper toxicity by reducing copper uptake and oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Protoplasma, 251*, 1373-1386. https://doi.org/10.1007/s00709-014-0639-7

Mur, L. A., Mandon, J., Persijn, S., Cristescu, S. M., Moshkov, I. E., Novikova, G. V., Hall, M. A., Harren, F. J., Hebelstrup, K. H., & Gupta, K. J. (2013). Nitric oxide in plants: An assessment of the current state of knowledge. *AoB Plants, 5*. https://doi.org/10.1093/aobpla/pls052

Nabi, R. B. S., Tayade, R., Hussain, A., Kulkarni, K. P., Imran, Q. M., Mun, B. G., & Yun, B. W. (2019). Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. *Environmental and Experimental Botany, 161*, 120-133. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.003

Namdjoyan, S., Kermanian, H., Soorki, A. A., Tabatabaei, S. M., & Elyasi, N. (2017). Interactive effects of salicylic acid and nitric oxide in alleviating zinc toxicity of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Ecotoxicology, 26*, 752-761. https://doi.org/10.1007/s10646-017-1806-3

Nanda, R. & Agrawal, V. (2016). Elucidation of zinc and copper induced oxidative stress, DNA damage and activation of defence system during seed germination in *Cassia angustifolia* Vahl. *Environmental and Experimental Botany, 125*, 31-41. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.02.001

Nanda, R. & Agrawal, V. (2018). *Piriformospora indica*, an excellent system for heavy metal sequestration and amelioration of oxidative stress and DNA damage in *Cassia angustifolia* Vahl under copper stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 156*, 409-419. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.016

Oelmuller, 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

Padash, A., Shahabivand, S., Behtash, F., & Aghaee, A. (2016). A practicable method for zinc enrichment in lettuce leaves by the endophyte fungus *Piriformospora indica* under increasing zinc supply. *Scientia Horticulturae, 213*, 367-372. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.040

Phillips, J. M. & Hayman, D. (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*(1), 158-IN18.

Rai, M., Acharya, D., Singh, A., & Varma, A. (2001). Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza, 11*, 123-128. https://doi.org/10.1007/s005720100115

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

Reddy, S. S., Stahlman, P. W., Geier, P. W., Charvat, L. D., Wilson, R. G., & Moechnig, M. J. (2014). Tolerance of foxtail, proso and pearl millets to saflufenacil. *Crop Protection, 57*, 57-62. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.12.002

Rizwan, M., Mostofa, M. G., Ahmad, M. Z., Imtiaz, M., Mehmood, S., Adeel, M., Dai, Z., Li, Z., Aziz, O., & Zhang, Y. (2018). Nitric oxide induces rice tolerance to excessive nickel by regulating nickel uptake, reactive oxygen species detoxification and defense-related gene expression. *Chemosphere, 191*, 23-35. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.068

Ruscitti, M., Arango, M., & Beltrano, J. (2017). Improvement of copper stress tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Theoretical and Experimental Plant Physiology, 29*, 37-49. https://doi.org/10.1007/s40626-016-0081-7

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. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01726

Sahay, S. & Gupta, M. (2017). An update on nitric oxide and its benign role in plant responses under metal stress. *Nitric Oxide, 67*, 39-52. https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.04.011

Sanchez, M., Revilla, G., & Zarra, I. (1995). Changes in peroxidase activity associated with cell walls during pine hypocotyl growth. *Annals of Botany, 75*(4), 415-419. https://doi.org/10.1006/anbo.1995.1039

Santisree, P., Adimulam, S. S., Sharma, K., Bhatnagar-Mathur, P., & Sharma, K. K. (2019). Insights into the nitric oxide mediated stress tolerance in plants. In: Plant Signaling Molecules (eds. Khan, M. I., Reddy, P. S., Ferrante, A., & Khan, N. A.) Pp. 385-406. Woodhead Publishing.

Shahabivand, S., Maivan, H. Z., Mahmoudi, E., Soltani, B. M., Sharifi, M., & Aliloo, A. A. (2016). Antioxidant activity and gene expression associated with cadmium toxicity in wheat affected by mycorrhizal fungus. *Zemdirbyste, 103*(1), 53-60. http://dx.doi.org/10.13080/z-a.2016.103.007

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.

Shams, M., Ekinci, M., Ors, S., Turan, M., Agar, G., Kul, R., & Yildirim, E. (2019). Nitric oxide mitigates salt stress effects of pepper seedlings by altering nutrient uptake, enzyme activity and osmolyte accumulation. *Physiology and Molecular Biology of Plants, 25*, 1149-1161. https://doi.org/10.1007/s12298-019-00692-2

Sharma, A., Soares, C., Sousa, B., Martins, M., Kumar, V., Shahzad, B., Sidhu, G. P., Bali, A. S., Asgher, M., & Bhardwaj, R. (2020). Nitric oxide-mediated regulation of oxidative stress in plants under metal stress: A review on molecular and biochemical aspects. *Physiologia Plantarum, 168*(2), 318-344. https://doi.org/10.1111/ppl.13004

Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma, A., & Oelmuller, R. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and Arabidopsis roots through a homeodomain transcription factor that binds to a conserved motif in their promoters. *Journal of Biological Chemistry, 280*(28), 26241-26247. https://doi.org/10.1074/jbc.M500447200

Sidhu, G. P. S. (2016). Physiological, biochemical and molecular mechanisms of zinc uptake, toxicity and tolerance in plants. *Journal of Global Biosciences, 5*(9), 4603-4633.

Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2020). Insights into the tolerance and phytoremediation potential of *Coronopus didymus* L.(Sm) grown under zinc stress. *Chemosphere, 244*, 125350. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125350

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

Su, Z., Zeng, Y., Li, X., Perumal, A. B., Zhu, J., Lu, X., Dai, M., Liu, X., & Lin, F. (2021). The endophytic fungus *Piriformospora indica*-assisted alleviation of cadmium in tobacco. *Journal of Fungi, 7*(8), 675. https://doi.org/10.3390/jof7080675

Tabande, L., Sepehri, M., Yasrebi, J., Zarei, M., Ghasemi-Fasaei, R., & Khatabi, B. (2022). A comparison between the function of *Serendipita indica* and *Sinorhizobium meliloti* in modulating the toxicity of zinc oxide nanoparticles in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Environmental Science and Pollution Research, 29*, 8790-8803. https://doi.org/10.1007/s11356-021-16287-y

Tripathi, D. K., Mishra, R. K., Singh, S., Singh, S., Singh, V. P., Singh, P. K., Chauhan, D. K., Prasad, S. M., Dubey, N., & Pandey, A. C. (2017). Nitric oxide ameliorates zinc oxide nanoparticles phytotoxicity in wheat seedlings: implication of the ascorbate-glutathione cycle. *Frontiers in Plant Science, 8*, 1. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00001

Tyagi, J., Varma, A., & Pudake, R. N. (2017). Evaluation of comparative effects of arbuscular mycorrhiza (*Rhizophagus intraradices*) and endophyte (*Piriformospora indica*) association with finger millet

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

(*Eleusine coracana*) under drought stress. *European Journal of Soil Biology, 81*, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2017.05.007

Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science, 151*(1), 59-66.

Wang, Y. J., Dong, Y. X., Wang, J., & Cui, X. M. (2016). Alleviating effects of exogenous NO on tomato seedlings under combined Cu and Cd stress. *Environmental Science and Pollution Research, 23*, 4826-4836. https://doi.org/10.1007/s11356-015-5525-0

Wei, L., Zhang, J., Wang, C., & Liao, W. (2020). Recent progress in the knowledge on the alleviating effect of nitric oxide on heavy metal stress in plants. *Plant Physiology and Biochemistry, 147*, 161-171. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.12.021

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]

Effect of *Piriformospora indica* and nitric oxide on growth and some physiological-biochemical characteristics of proso millet (*Panicum miliaceum*) under zinc toxicity

Maryam Saman and Ali Sepehri*

Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

(Received: 2023/02/03, Accepted: 2023/05/02)

Abstract

Contamination of arable land with heavy metals is one of the important environmental problems that causes a reduction in plant growth and yield. Applying the biological potential of beneficial microorganisms and biochemical compounds that reduce oxidative stress are promising techniques to protect plants against heavy metal toxicity. Accordingly, a pot experiment was conducted as a factorial completely randomized design with three replicates to investigate the effects of four levels of zinc (0, 250, 500 and 750 mg/Kg soil), two levels of P. indica fungus (inoculation and non-inoculation) and two levels of foliar spraying (sodium nitroprusside and water). The results showed that root colonization of stressed plants by *P. indica* fungus and foliar spraying of sodium nitroprusside effectively reduced zinc content in the aerial parts of stressed plants. In addition, the highest chlorophyll content and root and shoot dry weight were obtained in the presence of the fungus and the simultaneous use of sodium nitroprusside. In proso millet plants subjected to zinc stress, P. indica inoculation and NO application boosted the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) which was evident in the reduction of hydrogen peroxide and malondialdehyde content. In conclusion, the results of this experiment provide evidence that the utilization of synergistic effects between colonization of the endophytic fungus *P. indica* and foliar application of NO can be considered a proper approach to reducing the negative effects of zinc toxicity on plants.

Keywords: Proso millet, Nitric oxide, Heavy metal, Endophyte fungus

Corresponding author, Email: a_sepehri@basu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-30]