مقاله پژوهشی

نقش قارچ‌های همزیست در کاهش سمّیت فلزی کادمیوم در گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.)

سمیه سیاهکالی مرادی [۱]، راحله خادمیان*[۱] و مریم قنادنیا[۲]

[۱] گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

[۲] گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۱۰/۰۴)

چکیده

استفاده از میکروارگانیسم‌های اندوفیت می‌تواند راه‌حلی مؤثر برای کاهش سمیت فلزات سنگین در گیاهان باشد. به این منظور، در تحقیق حاضر تأثیر قارچ‌های اندوفیت بر بهبود خصوصیات مورفولوژیکی، میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) کشت‌شده در خاک آلوده به کادمیوم، بررسی گردید. تیمارهای آزمایش شامل عنصر کادمیوم (در سه سطح: صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مول) و قارچ‌های همزیست *Priformospora indica* و *Glomus mosseae* (در چهار سطح: شاهد (عدم تلقیح)، تلقیح با *P. indica* (Pi)، تلقیح با *G. mosseae* (Gm) و تلقیح هم‌زمان با دو قارچ (Pi+Gm)) بود که در یک آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که در گیاه تربچه، صفات رویشی و میزان کلروفیل a و b با افزایش غلظت کادمیوم خاک با شیب بالایی کاهش یافت. تلقیح قارچ‌های *P. indica* و *G. mosseae* در گیاه مورد آزمایش سبب بهبود صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گردید. هم‌زیستی گیاه تربچه با قارچ‌های اندوفیت موجب افزایش در صفات رشدی مانند وزن تر و خشک ریشه و برگ، ارتفاع بوته و طول ریشه شد. همچنین، تلقیح این قارچ‌ها در گیاه مورد بررسی، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، محتوای فنل و فلاونوئید کل و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشا (MDA) شده و با کاهش آسیب به سلول باعث افزایش رشد رویشی گیاه گردید. تیمار هم‌زمان (Pi+Gm) با القاء مقاومت سیستمیک باعث افزایش فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپید گردید.

کلمات کلیدی: آلودگی فلزی، صفات مورفولوژی، قارچ‌های اندوفیت، کلروفیل

مقدمه

تنش در مفهوم کلی به تغییر شرایط طبیعی و بهینه رشد فیزیولوژیکی گیاه تحت تأثیر مجموعه‌ای از عوامل زیستی اطلاق می‌شود که در نهایت موجب کاهش رشد و نمو، افت بازده و مرگ قسمتی از گیاه می‌گردد. بسیاری از محققین تنش را نتیجه کمبود شدید یک نیاز اساسی یا فراوانی ماده مضر و سمّی در محیط رشد گیاه می‌دانند (He *et al*., 2013).

فلز سنگین یک عنصر با ویژگی‌های فلزی و چگالی بالا است که حتی غلظت‌های پایین آن نیز برای موجودات زنده تنش‌زا است (Morkunas *et al*., 2018). مهمترین فلزات

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: r.khademian@eng.ikiu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

سنگین غیرضروری که در گیاه سمّیت ایجاد می‌کنند شامل کادمیوم، آرسنیک، جیوه و سرب است. این عناصر قابلیت انتقال بسیار بالایی دارند و به سهولت جذب گیاه می‌شوند (Dago *et al.*, 2014) و به عنوان آلاینده‌های محیطی نیز شناخته شده و اثرات مخربی در صفات مورفوفیزیولوژیک و بیولوژیک گیاه ایجاد می‌کنند (Dhalaria *et al.*, 2020).حضور این فلزات در خاک تهدید جدی برای سلامتی گیاهان، جانوران و انسان است (Filipic, 2012; Singh and Prasad, 2014). مدارک معتبری وجود دارد که کادمیوم از طریق محدود کردن رشد ریشه، کاهش فتوسنتز برگ، اختلال در تغذیه مواد معدنی توسط گیاه، و عدم تعادل آبی در گیاه موجب ممانعت از رشد آن می‌گردد (Andosch *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012).

یکی از راه‌های کاهش اثرات مخرب فلزات سنگین در گیاهان استفاده از میکروارگانیسم‌های همزیست است. قارچ‌های همزیست یکی از عوامل بسیار کارآمد در این زمینه هستند که از طریق ساختارهای هیف به انتقال ترکیبات غیر آلی و معدنی مورد نیاز برای رشد گیاه کمک کرده و به این وسیله موجب تقویت رشد آنها می‌شوند. این قارچ‌ها در مقابل فلزات سنگین همانند یک فیلتر زیستی عمل می‌نمایند و در تعدیل اثرات مخرب آنها نقش دارند. قارچ‌های همزیست از طریق افزایش جذب آب و بهبود تغذیه گیاه موجب افزایش میزان فتوسنتز و در نهایت رشد بهینه گیاه در شرایط تنش‌زا می‌گردند (Birhane *et al.*, 2012). در اغلب موارد، فلزات سنگین در هیف‌های قارچ‌های همزیست با ریشه گیاهان به صورت غیرمتحرک باقی می‌مانند و به این ترتیب با کلاته‌شدن در دیواره سلولی، واکوئول یا سیتوپلاسم از ورود آنها به داخل گیاه و ایجاد سمیت فلزی درون گیاه ممانعت می‌گردد (Ouziad *et al.*, 2005; Punamiya *et al.*, 2010). قارچ‌های میکوریزایی با تولید گلیکوپروتئینی به نام گلومالین کمپلکس فلز- گلیکوپروتئین تشکیل داده و مانع از جذب فلز توسط گیاه می‌شوند و به این طریق کیفیت خاک نیز با حضور آنها بهبود می‌یابد (Dhalaria *et al.*, 2020).

تربچه (*Raphanus sativus* L.) یک سبزی خوراکی غنی از ویتامین‌های ضروری، مواد معدنی، فیبر و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آنتوسیانین است که برای سلامتی بسیار مفید است (Tanwar *et al.*, 2023). این گیاه به دلیل چرخه زندگی کوتاهی که دارد می‌تواند در تناوب کشت استفاده گردد و نقش مهمی در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی و علف‌های هرز ایفا می‌کند. تربچه یک گیاه شاخص برای مطالعه سمیّت فلزی عناصر سنگین در سایر گیاهان است (Mukherjee *et al.*, 2023). کاهش رنگدانه‌های کلروفیلی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در گیاهان تربچه‌ای که تحت تنش فلزی کادمیوم قرار گرفتند توسط Mohaemd و همکاران (۲۰۲۴) گزارش شد. در مطالعه‌ای ایزدی و همکاران (۱۴۰۰) تأثیر سه نوع فلز سرب، روی و نیکل را روی گیاه تربچه‌ای که با قارچ پریفورموسپورا ایندیکا تلقیح شده بود را بررسی نموده و در نتایج این تحقیق بیان نمودند که تنش حاصل از این فلزات سنگین موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک، محتوای نسبی آب، کلروفیل، کاروتنوئید و افزایش تولید پرولین و نشت یونی گردید. همچنین آنها گزارش دادند که تلقیح قارچ باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه تربچه شد. Sartipnia و همکاران (۲۰۱۳) نیز افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، مالون دی‌آلدهید و پرولین و کاهش H_2O_2 را در گوجه فرنگی‌های تلقیح‌شده با قارچ و تحت تنش فلز سرب گزارش دادند. افزایش تولید آنتی اکسیدانت‌ها و ترکیبات فنلی در گیاه گندواش تحت تنش فلز سنگین آرسنیک و تلقیح با قارچ پریفورموسپورا ایندیکا توسط Rahman و همکاران (۲۰۲۰) اعلام گردید. در مطالعه‌ای، تنش کادمیوم سبب کاهش معنی‌داری در ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن تر ریشه و وزن تر اندام هوایی گیاه شنبلیله شده است (Bashri and Prasad, 2015). در بررسی اثر فلز سنگین کادمیوم روی گوجه‌فرنگی اعلام شده است که این فلز باعث کاهش معنی‌دار طول اندام هوایی و ریشه، و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گوجه‌فرنگی شده است (Hashem *et al.*, 2016).

تنش‌های زیستی و غیرزیستی یک چالش جهانی زیست

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

محیطی هستند که امنیت غذایی جهان را به مخاطره می‌اندازند، بنابراین نیاز به راهبرد دقیق، برنامه‌ریزی و پژوهش همه‌جانبه جهت غلبه بر این تنش‌های محیطی احساس می‌شود. یک مسیر ساده و مؤثر برای غلبه بر مشکلات حاصل از این تنش‌ها، بهره‌برداری از همزیستی بین گیاهان و میکروارگانیسم‌هایی نظیر قارچ میکوریزای آربوسکولار (Adya *et al.*, 2013) و سایر قارچ‌های اندوفیت مانند *P. indica* (Yaghoubian *et al.*, 2014) برای تحریک رشد گیاه است. بدین منظور، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تلقیح جداگانه و همزمان قارچ‌های *P. indica* و قارچ *G. mosseae* بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه تربچه، کشت‌شده تحت تنش غلظت‌های مختلف فلز سنگین کادمیوم انجام شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات طرح و تیمارهای آزمایش: این آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش عنصر کادمیوم در سه سطح (صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مول) و تیمار همزیستی قارچی شامل چهار سطح عدم تلقیح، تلقیح قارچ شبه‌میکوریزا گونه *P. indica* (Pi)، قارچ میکوریزای آربوسکولار گونه *G. mosseae* (Gm) و تلقیح همزمان قارچ‌های شبه‌میکوریزا و میکوریزای آربوسکولار (Pi + Gm) بود. در مجموع با احتساب سه تکرار برای هر تیمار در ۳۶ گلدان بذور تربچه تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان کشت داده شدند. خاک مورد استفاده برای گلدان‌ها لومی- رسی بود که از افق سطحی (از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری) مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین تهیه شد. برای بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در آزمایشگاه، به شکل تصادفی نمونه‌هایی از آن برداشته و آزمایش شد (جدول ۱). به‌منظور جلوگیری از تأثیر ناخواسته سایر میکروارگانیسم‌های موجود در خاک و بررسی بهتر و دقیق‌تر اثر قارچ‌های *P. indica* و *G. mosseae*، خاک با محلول فرمالین ۵ درصد استریل شد. ابتدا خاک با فرمالین مخلوط شد و سپس به مدت ۴۸ ساعت در محفظه بسته در زیر پلاستیک قرار داده شد. پس ار خارج‌کردن خاک از پلاستیک، خاک به مدت ۱۰ روز هوادهی شد تا فرمالین به‌صورت کامل از آن خارج شود. برای کشت گیاه از گلدان‌های پلاستیکی با گنجایش ۵ لیتراستفاده شد. قبل از کاشت بذور، ابتدا گلدان‌ها با آب و صابون کاملاً شسته شدند و سپس با هیپوکلریت سدیم دو درصد ضدعفونی شدند. به منظور زهکشی بهتر خاک، در کف هر گلدان حدود یک کیلوگرم سنگ‌ریزه استریل شده (با هیپوکلریت سدیم دو درصد) قرار داده شد. قارچ‌های مورد استفاده در این تحقیق قارچ شبه‌میکوریزا (*P. indica*) و قارچ میکوریزای آربوسکولار (*G. mosseae*) بود و در سطوح تلقیح و عدم تلقیح با بذر مورد بررسی قرار گرفت. به منظور اضافه‌کردن کادمیوم به خاک، ابتدا میزان نیترات کادمیوم مورد نظر برای هر تیمار توزین و در آب آبیاری در غلظت‌های صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مول حل شد و پس از کاشت بذور در اولین دور آبیاری به خاک گلدان اضافه گردید (پورتبریزی و همکاران، ۱۳۹۷). بذور گیاه تربچه در زیر هود به مدت ۳۰ ثانیه دراتانول ۷۰ درصد قرار داده شده و بلافاصله به محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد (وزنی- حجمی) به مدت ۱۰ دقیقه منتقل و در نهایت سه بار با آب‌مقطر استریل شستشو داده شدند. بذور استریل در گلدان‌های پلاستیکی کشت داده شده و در مرحله چهار برگی تنک شدند. گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۰/۲۵ (روز/شب) و نور طبیعی قرار گرفته و به صورت هفتگی آبیاری شدند.

بررسی صفات مورفولوژیکی: حدود ۶۰ روز بعد از کاشت بذور و کامل‌شدن دوره رشدی گیاه، تعداد شش بوته از هر گلدان انتخاب شد و همراه با غده برداشت گردید. پس از آن صفات مورفولوژیکی شامل تعداد برگ در بوته، ارتفاع بوته، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه اندازه‌گیری شد. جهت خشک کردن نمونه‌ها از آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد.

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی: استخراج رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کاروتنوئید)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک

خصوصیات	واحد	مقدار
هدایت الکتریکی	دسی‌زیمنس بر متر	۱/۴۲۱
اسیدیته	-	۷/۹۴
کربن آلی	درصد	۰/۳۳۴
فسفر قابل جذب	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۲۷/۳
پتاسیم قابل جذب	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۴۲۰
آهک	میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۲/۵۵
نیتروژن	درصد	۰/۲۱
بافت خاک	-	لومی- رسی

با استفاده از استن ۸۰ درصد انجام گرفت. مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم بافت برگ تازه توزین شده و در هاون چینی با استون ۸۰ درصد به صورت تدریجی ساییده شد و سپس حجم محلول با اضافه کردن استون به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده و پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس میزان جذب محلول رویی در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل unico 2100 uv-vis) خوانده و از استون ۸۰ درصد به عنوان شاهد استفاده شد (Zhongfu *et al.*, 2009). میزان کلروفیل a، b، a+b و کاروتنوئید به ترتیب با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه شده و در نهایت بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش گردید.

$$Chl_a\ (\mu g.ml^{-1}) = 21.50\ A_{646.8} - 5.10\ A_{663.2}$$

$$Chl_b\ (\mu g.ml^{-1}) = 7.15\ A_{663.2} - 18.71\ A_{665.2}$$

$$Car\ (\mu g.ml^{-1}) = (1000\ A_{470} - 1.82\ Chl_a - 85.02\ Chl_b)/198$$

در این معادله‌ها $A_{663.2}$، $A_{646.8}$ و A_{470} میزان جذب نوری محلول در طول‌موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر است.

استخراج آنزیمی: جهت استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، نیم گرم از نمونه برگی با استفاده از هاون چینی کاملاً سرد و نیتروژن مایع پودر و در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سرد (pH =۷/۵ و محتوی نیم میلی‌مولار اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) حل شدند. محلول به‌دست آمده به میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری منتقل شدند و انتقال به سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. سپس محلول رویی به سه قسمت تقسیم شده و تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌های فوق در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در داخل فریزر نگهداری شدند (Sairam *et al.*, 2002).

فعالیت آنزیم کاتالاز: برای تعیین میزان فعالیت کاتالاز محلول واکنش شامل ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH= ۷)، نیم میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن هفت و نیم میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی که با افزودن آب‌مقطر به حجم ۳ میلی‌لیتر رسانده شد، تهیه گردید. در این روش، با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش شروع شده و کاهش در جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل unico 2100 uv-vis) ثبت گردید. در نهایت فعالیت آنزیمی از محاسبه میزان پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده توسط آنزیم محاسبه شد (Bergmeyer *et al.*, 1974).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: سنجش مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز **با** تهیه محلول واکنش در حجم ۲ میلی‌لیتر که محتوی ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH= ۷)، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج بود، صورت گرفت. واکنش با افزودن محلول آنزیمی آغاز شد و افزایش جذب در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت گردید. فعالیت آنزیمی براساس روش (Tang and Newton, 2005) ارزیابی گردید.

پرولین: ارزیابی میزان پرولین دردر اندام هوایی گیاه تربچه بر اساس روش نین‌هیدرین اسید انجام گرفت (Bates *et al.*, 1973). ابتدا، ۰/۲ گرم از بافت برگ در ۲ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد (وزنی- حجمی) ساییده و کاملاً پودر شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. حدود ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۱ میلی‌لیتر از معرف نین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط شده و به مدت یک ساعت در داخل بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. به محلول واکنش ۲ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و پس از ورتکس کردن، مقدار جذب نمونه در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. در انتها با استفاده از منحنی استاندارد، میزان پرولین براساس میکرومول پرولین در گرم وزن تر برگ محاسبه شد. برای اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید (MDA)، حدود ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگی در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰×g سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴ میلی‌لیتر از محلول ۲۰٪ تری کلرواستیک اسید محتوی نیم درصد تیوباربیتوریک اسید مخلوط گردید. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده و بلافاصله به ظرف آب سرد منتقل شد. محلول بدست آمده مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و میزان جذب در طول‌موج ۵۳۳ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد (Dhindsa *et al.*, 1981).

محتوای فنل و فلاونوئید کل: برای تعیین مقدار فنل و فلاونوئید کل، ابتدا مقدار ۲ گرم از برگ خشک گیاه تربچه در یک هاون حاوی ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول ۹۹/۵ درصد و اسید کلریدریک یک درصد به نسبت ۹۹ به ۱)، به خوبی ساییده شد. عصاره‌های به‌دست‌آمده به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از آن، عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از جداسازی محلول رویی، ۲ میلی‌لیتر اتر به آن اضافه گردید (برای حذف رنگریزه کلروپلاست).

سنجش میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های گیاهی با استفاده از معرف فولین- سیکالتیو صورت گرفت. در ابتدا به میزان ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه با ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۱۰ درصد حجمی- حجمی از معرف فولین- سیکالتیو مخلوط گردید. پس از آن محلول حاصله به مدت ۶ دقیقه در تاریکی در داخل انکوباتور شیکردار تکان داده شد. پس از آن ۸۰ میکرولیتر از محلول ۷/۵ درصد (وزنی- حجمی) کربنات سدیم به آن اضافه گردید. مخلوط به‌دست آمده برای مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق و در شرایط تاریکی نگهداری شد و در آخر جذب آن در طول‌موج ۷۴۰ نانومتر خوانده شد. از منحنی کالیبراسیون گالیک اسید برای سنجش میزان فنول کل استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره خشک (mg GAEs/g) ارائه شد (Lu *et al.*, 2011). برای تعیین ترکیبات فلاونوئیدی کل در اندام‌های هوایی گیاه تربچه از روش کلرید آلومینیوم استفاده شد. به منظور این کار ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه یا محلول استاندارد کوئرستین با ۱۰ میکرولیتر از محلول پنج درصد (وزنی- حجمی) کلرید آلومینیوم مخلوط گردید و با استفاده از ۶۰ میکرولیتر متانول رقیق شد. پس از آن، ۱۰ میکرولیتر از محلول ۰/۵ مولار استات پتاسیم به محلول اضافه شد و با اضافه‌کردن آب‌مقطر به حجم ۲۰۰ میکرولیتر رسانده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. جذب محلول در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری و نتایج نهایی بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم عصاره خشک (mg QEs/g) بیان گردید (Roby *et al.*, 2013).

اندازه‌گیری DPPH: برای تعیین مقدار DPPH (۲،۲-diphenyl-1-picrylhydrazyl)، به منظور برای سنجش قدرت مهار رادیکال‌های آزاد، مقدار ۲۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده از برگ گیاه تربچه با غلظت‌های مختلف، به ۱۸۰ میکرولیتر DPPH حل شده در متانول با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

اضافه شد و به مدت۳۰ دقیقه در محیط تاریک در دمای اتاق قرار داده شد. سپس، میزان جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فرمول زیر محاسبه شد (Roby *et al*., 2013). نمونه شاهد یا بلانک شامل مخلوط ۲ میلی‌لیتر عصاره گیاه و ۱/۸ میلی‌لیتر متانول بوده و نمونه‌ها شامل ۲ میلی‌لیتر عصاره گیاه ۱/۸ میلی‌لیتر DPPH بوده است.

$$I(\%) = \left(\frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}}\right) \times 100$$

در فرمول فوق، I قدرت مهارکنندگی DPPH، $A_{control}$ جذب نور در نمونه شاهد و A_{sample} جذب نور در نمونه گیاهی مورد نظر است.

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها به وسیله آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات رویشی ارزیابی‌شده در جدول ۲ ارائه گردید.

تعداد برگ در بوته: مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، تعداد برگ در بوته تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد داشته است. مقایسه میانگین این صفت نشان داد، با افزایش میزان کادمیوم در خاک تعداد برگ در گیاهان تربچه کاهش یافت (شکل ۱a).

وزن خشک و تر برگ: صفت وزن خشک برگ تحت اثر تیمارهای قارچ، کادمیوم و اثرات متقابل این دو تیمار اختلافات معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۲). بررسی نتایج اثر متقابل قارچ و کادمیوم روی این صفت بیانگر این است که تیمار همزمان قارچهای Pi و Gm در خاک فاقد کادمیوم بیشترین تأثیر را در افزایش وزن خشک برگ داشته و عدم استفاده از قارچ‌ها و کاربرد ۵۰ میلی‌مول کادمیوم در خاک با کاهش ۷۵ درصدی کمترین میزان برگ خشک (۰/۲ گرم) را تولید کرده است. نکته حائز اهمیت در این بررسی این بوده که در تیمار ۵۰ میلی‌مول کادمیوم، کاربرد همزمان قارچ‌های فوق موجب افزایش ۱۰۰ درصدی وزن خشک برگ (۰/۴ گرم) نسبت به عدم استفاده از این قارچ‌ها شده است (شکل ۱b).

وزن تغییرات وزن تر برگ در گیاه تربچه تحت هر دو تیمار قارچ و کادمیوم تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۲).

وزن تر برگ با افزایش غلظت کادمیوم خاک به‌صورت خطی و با شیب زیاد تقلیل پیدا کرد و به ترتیب ۳۳/۳۳ و ۴۹/۱۸ درصد نسبت به شاهد (سطح صفر کادمیوم) کاهش نشان داد (شکل ۱c). همچنین، میزان این صفت در تیمار قارچ Gm و کاربرد همزمان دو قارچ Gm و Pi تفاوت معنی‌داری با تیمار انفرادی قارچ Pi و عدم مصرف قارچ داشته است (شکل ۱d).

ارتفاع بوته: در مقادیر ارتفاع بوته تحت تمیارهای همزیستی قارچ و تنش فلز سنگین کادمیوم و برهمکنش این دو تیمار تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده شده است (جدول ۲). کاربرد همزمان دو قارچ همزیست (Gm + Pi) در خاک حاوی ۲۵ میلی‌مول کادمیوم نقش مؤثری در افزایش ارتفاع بوته داشته است. زیرا، میزان ارتفاع بوته در این تیمار با حداکثر پتانسیل بروز این صفت که در شرایط عدم استفاده از کادمیوم و همزیستی با قارچ Gm ایجاد شده اختلاف معنی‌داری نداشته است (شکل ۲).

در مطالعه‌ای، Oelmuller و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که افزایش ارتفاع گیاهان تلقیح‌شده با قارچ تحت تنش فلز سنگین، ممکن است به دلیل سیستم ریشه‌ای گسترده‌تر و جذب مقادیر بالای عناصر غذایی از جمله فسفر و آهن به دلیل وجود همزیستی قارچ با گیاه باشد. همچنین Anith و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای بیان کردند که تلقیح همزمان قارچ‌های شبه‌میکوریزا و تریکودرما باعث افزایش معنی‌داری در خصوصیات رشدی گیاه فلفل نظیر ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، وزن تر و خشک ساقه گردید.

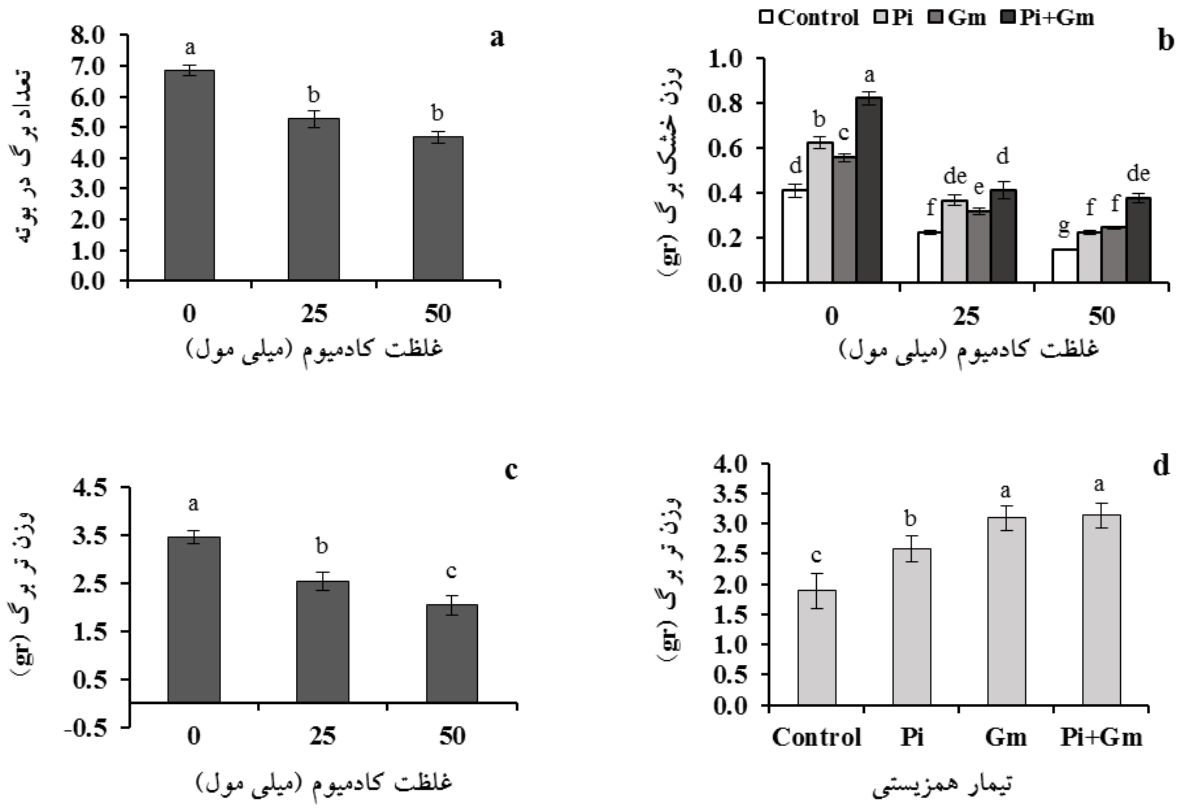
طول ریشه: طول ریشه گیاه تربچه صرفاً تحت تأثیر تیمار همزیستی با قارچ‌ها قرار گرفت (جدول ۲). این صفت با تلقیح

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر صفات مورفولوژی گیاه تربچه

منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد برگ در بوته	ارتفاع بوته	طول ریشه	وزن تر برگ	وزن تر ریشه	وزن خشک برگ	وزن خشک ریشه
کادمیوم (A)	۲	۱۵/۰۸۳۳**	۱۰۰/۴۰**	۱/۱۰۲ns	۶/۱۶۰۸**	۱۵/۷۲۹**	۰/۴۱۰۱**	۰/۴۸۲۷**
قارچ (B)	۳	۰/۹۱۸۴ns	۵۱/۵۵**	۶/۵۰۱**	۳/۰۴۶۳**	۶/۴۵۰۳**	۰/۱۱۶۳**	۰/۰۸۹۱**
A×B	۶	۰/۵۷۶۴ns	۱۱/۲۷**	۰/۳۵۳ns	۰/۱۴۰ns	۱/۱۸۵۸*	۰/۰۰۸۷**	۰/۰۰۴۲ns
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۵۶۹۴	۲/۲۷	۰/۹۶۸۸	۰/۱۰۳۵	۰/۳۷۵۴	۰/۰۰۱۳۸۲	۰/۰۰۴۹۵۶
ضریب تغییرات (٪)		۱۳/۵	۷/۹	۱۳/۳	۱۲/۰	۱۹/۸	۹/۴	۲۲/۰

ns، * و به‌ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد هستند.**

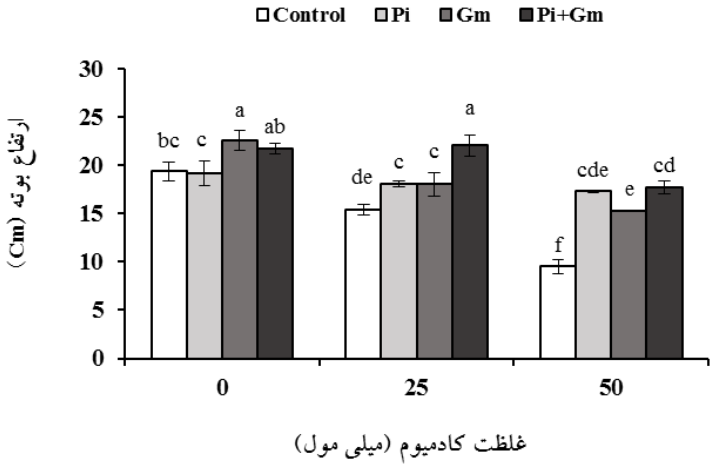


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر ساده کادمیوم بر تعداد برگ (a)، اثر ساده کادمیوم بر وزن خشک برگ (b)، اثر ساده کادمیوم بر وزن تر برگ (c) و اثر ساده همزیستی قارچ بر وزن تر برگ (d) در گیاه تربچه. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

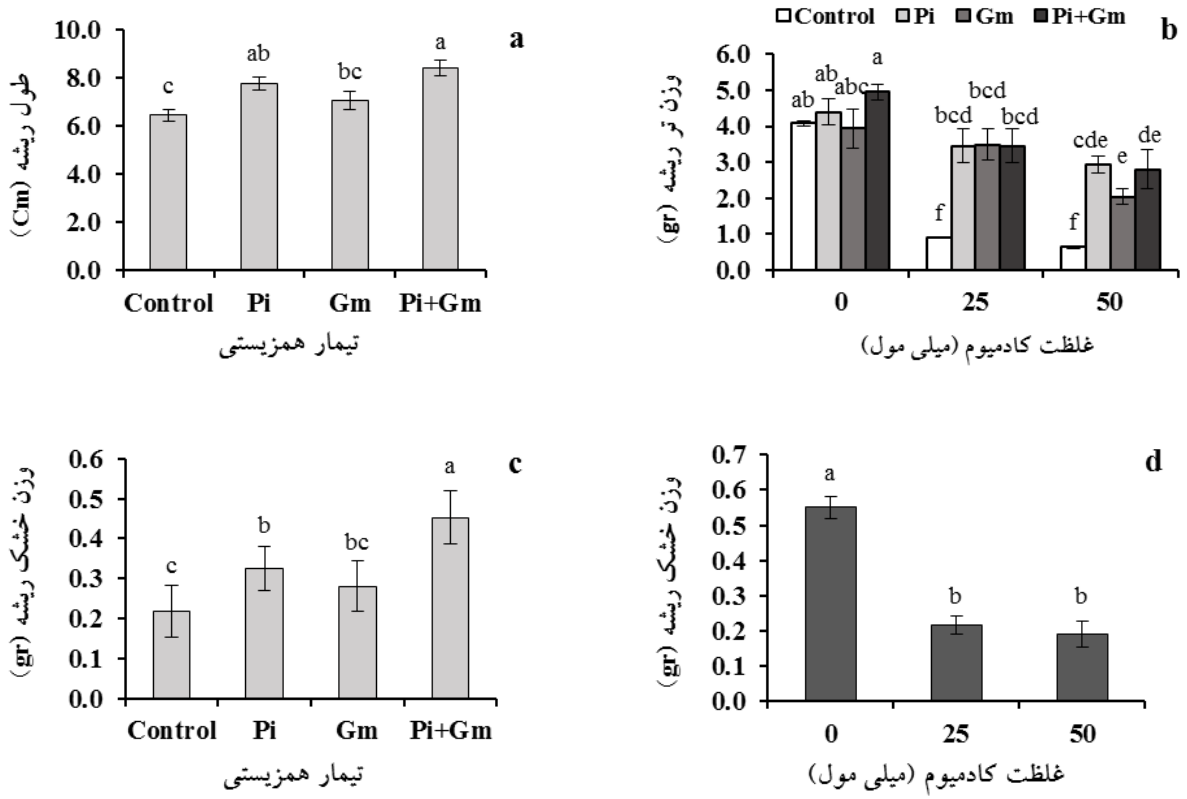
قارچ‌های مورد استفاده در آزمایش به صورت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. تلقیح همزمان قارچ‌های میکوریزا و شبه‌میکوریزا اثر معنی‌داری نسبت به مصرف جداگانه هر یک از این قارچ‌ها داشتند (شکل ۳a).

وزن تر و خشک ریشه: صفت وزن تر ریشه تحت اثرات کامیوم خاک، همزیستی با قارچ و برهمکنش این دو تیمار اختلاف معنی‌داری نشان داد و وزن خشک ریشه تحت تأثیر اثرات معنی‌دار سطوح مختلف کادمیوم و تیمار با قارچ‌های همزیست قرار گرفت (جدول ۲). تیمار همزمان دو قارچ Gm و Pi در هر سه سطح کادمیوم اختلاف معنی‌داری در وزن تر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر برهمکنش غلظت کادمیوم و همزیستی قارچی بر ارتفاع بوته در گیاه تربچه. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر ساده همزیستی قارچی بر طول ریشه (a)، مقایسه میانگین اثر برهمکنش کادمیوم و همزیستی قارچی بر وزن تر ریشه (b)، اثر ساده همزیستی قارچ بر وزن خشک ریشه (c) و غلظت کادمیوم بر وزن خشک ریشه (d) در گیاه تربچه. در هر شکل میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

ریشه نسبت به عدم تلقیح قارچ ایجاد نمود. اما تفاوت بین تیمارهای مختلف قارچی صرفاً در شرایط خاک بدون کادمیوم معنی‌دار بود و در دو سطح ۲۵ و ۵۰ میلی‌مول کادمیوم این اختلاف معنی‌دار نبود (شکل ۳b).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

وزن خشک ریشه تحت تیمارهای مختلف قارچی تفاوت معنی‌داری با عدم تلقیح قارچ نشان داد و تلقیح همزمان دو قارچ به‌طور مؤثر و معنی‌داری در افزایش وزن خشک ریشه در مقایسه با تلقیح انفرادی قارچ‌ها نقش داشت. همچنین، اثر قارچ Pi بیش از اثر قارچ Gm بوده اگر چه اختلاف آن معنی‌دار نبود (شکل ۳c). تأثیر کادمیوم خاک بر کاهش وزن خشک ریشه همانگونه که انتظار می‌رفت به صورت معنی‌داری نسبت به عدم استفاده از کادمیوم مشاهده گردید (شکل ۳d).

در صورت وجود فلزات سنگین، فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک تحت تأثیر سمیت این فلزات قرار گرفته و مواد غذایی از دسترس ریشه‌های اولیه خارج می‌شود، در نتیجه رشد ریشه و گیاهچه اولیه کاهش می‌یابد (Islam *et al.*, 2021). در مطالعه‌ای عنوان شده است که بهبود و افزایش جذب نیترات توسط ریشه‌های گیاهان هم‌زیست شده با قارچ *P. indica* می‌تواند دلیلی بر افزایش وزن تر ریشه در این گیاهان باشد (Hildebrandt *et al.*, 2002). در این زمینه، Sherameti و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند که نقش کلیدی ریشه‌های میکوریزایی در ارسال نیترات به سلول‌های ریشه گیاه عامل اصلی افزایش وزن تر ریشه در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* است. کاهش وزن خشک ریشه در گیاهان خرفه (Naz *et al.*, 2013) و سویا (Xue *et al.*, 2013) همراه با افزایش غلظت کادمیوم در خاک گزارش شده است. افزایش وزن خشک گیاه استویا در تلقیح با قارچ‌های *P. indica* و *T. virens* تحت تنش شوری توسط Saravi و همکاران (۲۰۲۲) گزارش شده است.

قارچ‌های آندوفیت گیاهی از جمله *P. indica* و *G. mosseae* موجب افزایش رشد و سازگاری گیاهان نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند سمیت عناصر سنگین می‌شوند (Yang *et al.*, 2021). فقیه‌عبدالهی و همکاران (۱۳۹۴) نیز در بررسی اثر قارچ‌های تریکودرما و *P. indica* در گیاه ریحان تحت تنش فلز مس، کاهش سمیت مس و افزایش رشد رویشی گیاه در اثر همزیستی با میکروارگانیسم‌های مذکور را گزارش دادند.

مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که قارچ‌های میکوریزا و شبه‌میکوریزا هم در شرایط مطلوب رشدی و هم تحت شرایط نامساعد محیطی جذب مواد معدنی را افزایش داده و موجب رشد مطلوب گیاه می‌شوند (Khademian *et al.*, 2019). علاوه بر این، با ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی مطلوب، کارایی گیاهان را تحت سمیت فلزات سنگین افزایش می‌دهند و با جذب و غیرمتحرک سازی فلزات سنگین در هیف‌های خود از انتقال آن به گیاه جلوگیری کرده و خسارت‌های تنش را تقلیل می‌دهند (Saravanan *et al.*, 2020).

صفات فیزیولوژیک (رنگدانه‌های فتوسنتزی): تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک در جدول ۳ ارائه شده است.

محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهان به عنوان رهیافتی مهم در تولید فرآورده‌های گیاهی و همچنین به دلیل نقش تعیین‌کننده آن‌ها در مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی در مطالعات گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. نتایج به‌دست‌آمده از ارزیابی رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان دادند که روند تغییرات محتوای کلروفیل a، b و a+b در برگ در برابر افزایش غلظت کادمیوم خاک، به صورت پاسخ خطی و منفی این صفات نسبت به افزایش غلظت عنصر سنگین کادمیوم در خاک بود. به‌طوری‌که میزان کلروفیل a (شکل ۴a)، b (شکل ۵a) و a+b (شکل ۶a) با افزایش غلظت کادمیوم خاک از صفر به ۵۰ میلی‌مول، به ترتیب ۳۷/۶۸، ۴۳/۰۲ و ۳۹/۲۳ درصد کاهش نشان دادند.

بر اساس نتایج به‌دست آمده همزیستی با قارچ‌های *P. indica* و *G. mosseae* در کاهش سمیت کادمیوم و افزایش غلظت کلروفیل a، b و a+b در گیاه تربچه مؤثر بود، به شکلی که در همه سطوح کادمیوم گیاهان تلقیح‌شده با Pi، Gm و Pi+Gm، میزان کلروفیل a، b و a+b در برگ افزایش چشمگیری داشت (۴b، ۵b و ۶b).

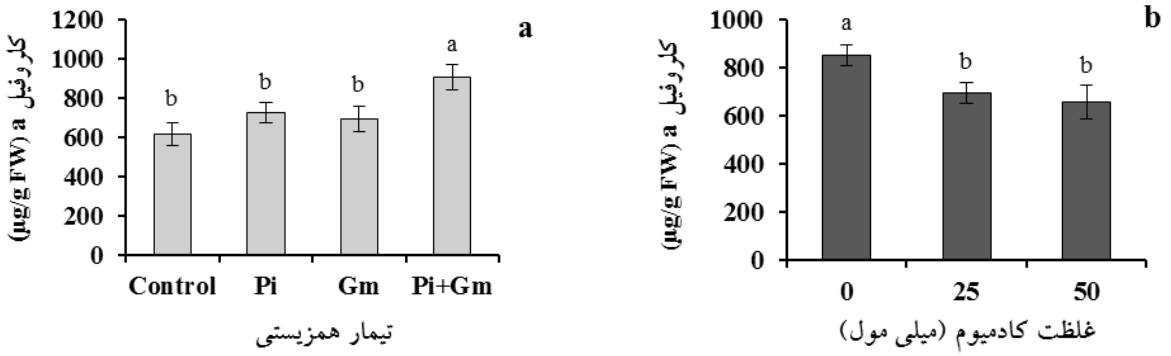
گزارشات متعددی نشان می‌دهند سمیت فلزات سنگین در گیاه باعث کاهش رشد، فعالیت فتوسنتزی و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II تولیدشده توسط فلورسانس کلروفیل می‌شود (Souri *et al.*, 2019). فرایند فتوسنتز نسبت به سمیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

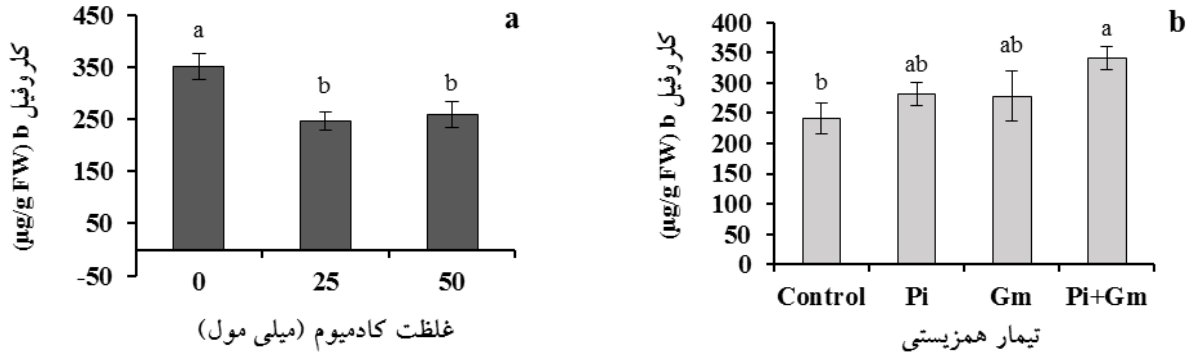
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه تربچه

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کلروفیل *a+b*	کاروتنوئید
کادمیوم (A)	۲	۱۲۸۹۴۶*	۳۸۹۱۲**	۳۰۲۷۷۵**	۴/۰۱۰ ns
قارچ (B)	۳	۱۳۴۱۷۹*	۱۵۴۰۴*	۲۳۹۹۷۶**	۴۱۱/۲ns
A×B	۶	۹۱۰۵ns	۷۲۴۲ns	۲۵۵۴۳ns	۵۱۵۰/۵ns
خطای آزمایشی	۲۴	۲۹۷۷۳	۴۳۸۴	۴۷۰۳۴	۳۲۶۱
ضریب تغییرات (٪)		۲۳/۵	۲۳/۲	۲۱/۲	۲۷/۴

ns، * و به‌ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد هستند.**



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر ساده غلظت کادمیوم (a) و همزیستی قارچی (b) بر غلظت کلروفیل در گیاه تربچه. در هر شکل میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

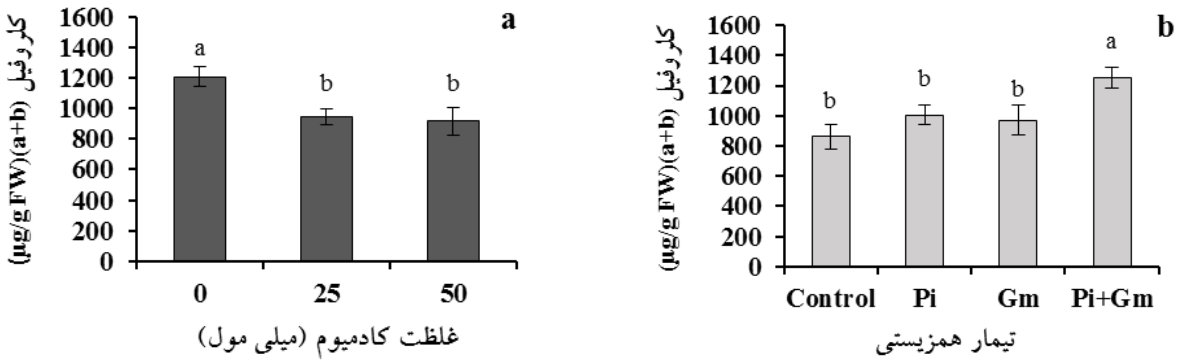


شکل ۵- مقایسه میانگین (a) اثر ساده غلظت کادمیوم و (b) همزیستی قارچی بر غلظت کلروفیل b در گیاه تربچه. در هر شکل میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

کادمیوم بسیار حساس است و تجمع کادمیوم در گیاه سبب کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش مقدار کلروفیل برگ، کاهش انتقال الکترون در فتوسیستم I و II و اختلال در فعالیت آنزیم‌های دخیل در تثبیت CO_2 می‌گردد (Anjum *et al.*, 2017; Deng *et al.*, 2014). همانگونه که انتظار می‌رفت در این تحقیق نیز تنش کادمیوم با کاهش رنگیزه کلروفیل باعث اختلال در کارایی فتوسنتز و کاهش رشد گیاه تربچه گردید.

در مطالعه‌ای روی گیاه کنگرفرنگی قاسم‌نژاد و بابایی‌زاد (۱۳۹۰) گزارش دادند که گیاهان تلقیح‌یافته با قارچ *P. indica* برگ‌های پهن‌تری در مقایسه با گیاهان شاهد داشتند که افزایش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر (a) ساده غلظت کادمیوم و (b) همزیستی قارچی بر غلظت کلروفیل a+b در گیاه تربچه. در هر شکل میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

سطح برگ منجر به افزایش میزان کلروفیل و در نهایت کارایی فتوسنتز گردید. درمطالعه‌ای روی گیاه نعناع فلفلی Khalvandi و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند که تلقیح قارچ‌های *P. indica* و *Arbuscular mycorrhiza* با این گیاه و به ویژه تلقیح همزمان این قارچ‌ها در شرایط تنش شوری، موجب افزایش ۱۴/۷ و ۱۲/۶ درصدی کلروفیل‌های a و b نسبت به گیاهان فاقد همزیستی با قارچ شده است. دلیل این امر نقش مؤثر قارچ‌های همزیست در جذب نور و انتقال الکترون توسط پلاستوکوئینون از طریق افزایش تجمع کلروفیل در شرایط تنش شوری و کاهش اثرات مخرب این تنش روی گیاه ذکر شده است. همچنین، بیان شده که حضور همزمان قارچ‌ها موجب اثرات افزایشی آنها در کاهش اثرات شوری می‌گردد.

تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات بیوشیمیایی گیاه تربچه در جدول ۴ ارائه گردید.

آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز: مطابق نتایج تجزیه واریانس، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی کاتالاز و پراکسیداز تحت تیمارهای قارچ و کادمیوم و همچنین تحت تأثیر برهمکنش این دو تیمار تغییرات معنی‌داری نشان دادند (جدول ۴).

هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز تحت تیمار تلقیح همزمان قارچهای Gm و Pi و در شرایط خاک حاوی ۵۰ میلی‌مول کادمیوم اختلاف بسیار معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داشته است و در تلقیح انفرادی قارچ‌ها، قارچ Gm نقش بیشتری در افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به قارچ Pi داشته است (جدول ۵).

تنش‌های محیطی مانند فلزات سنگین قادرند به طور مستقیم و غیرمستقیم در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مشارکت داشته (Eskander *et al*., 2020) و باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان شده و در نهایت منجر به القاء پاسخ دفاعی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی نظیر کاتالاز می‌شوند. افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه گندم تنش اکسیداتیو حاصل از کادمیوم توسط Guo و همکاران (۲۰۱۹) گزارش شد. افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در اثر تنش کادمیوم در گیاه مرزه نیز گزارش شده است (Azizi *et al*., 2020). در مطالعه‌ای روی گیاه شنبلیله، افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به واسطه همزیستی با قارچ آربوسکولار *Glomus intraradices* تحت تنش شوری با سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl قرار گرفتند، اعلام گردید (Evelin and Kooper, 2014).

۲-۴-۲-۴- مالون دی‌آلدهید و پرولین: مالون دی‌آلدهید و پرولین تحت اثرات انفرادی و اثرات متقابل تیمارهای قارچ و کادمیوم مقادیر اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۴).

میزان مالون دی‌آلدهید که شاخص پراکسیداسیون لیپید غشایی است همانگونه که پیش‌بینی می‌شد تحت حداکثر میزان کامیوم خاک و عدم وجود قارچ تفاوت کاملاً معنی‌داری با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه تربچه

منابع تغییر	درجه آزادی	کاتالاز	پراکسیداز	مالون دی‌آلدهید	پرولین
کادمیوم (A)	۲	۷۳۴۶/۲۸**	۳۸۹/۶۳۵**	۱۰۸۵۷/۴۹**	۳۳/۲۱**
قارچ (B)	۳	۹۸۵/۴۵**	۹۶/۱۰**	۲۳۹۲/۷۳**	۵/۱۳**
A×B	۶	۲۱۸/۱۶**	۳۶/۹۲**	۶۴۶/۷۷**	۶/۱۶**
خطای آزمایشی	۲۴	۱۹/۲	۲/۴۳	۲۹/۲۴	۰/۶۰۱
ضریب تغییرات (٪)		۱۱/۵	۱۴/۱	۵/۳	۲۰/۰

ns، * و به‌ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد هستند.**

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی مطالعه‌شده تحت اثر متقابل سطوح مختلف کادمیوم و تیمار قارچ

قارچ	غلظت کادمیوم (میلی‌مول)	کاتالاز (واحد استاندارد بر میلی‌گرم پروتئین)	پراکسیداز (واحد استاندارد بر میلی‌گرم پروتئین)	مالون دی‌آلدهید (نانومول بر گرم وزن تر)	پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر)
عدم‌مصرف قارچ	صفر	۱۰/۱ f	۵/۰ f	۶۷/۷ g	۱/۰ g
	۲۵	۳۰/۹ e	۱۰/۱ cd	۱۴۳/۰ b	۳/۷ cde
	۵۰	۴۲/۴d	۱۴/۱b	۱۶۱/۳ a	۳/۶ cde
قارچ P_i	صفر	۱۱/۳ f	۶/۰ ef	۶۹/۷ g	۱/۵ g
	۲۵	۳۹/۰ d	۷/۶de	۹۸/۴ e	۵/۸ ab
	۵۰	۶۲/۹b	۱۱/۲ c	۱۱۳/۵ d	۴/۸ bc
قارچ G_m	صفر	۱۱/۰ f	۵/۵ ef	۶۸/۵ g	۳/۴de
	۲۵	۴۰/۶ d	۱۱/۱ c	۱۱۳/۳ d	۲/۹ ef
	۵۰	۵۲/۷ c	۱۵/۲ b	۱۲۹/۳ c	۶/۴ a
ترکیب قارچی $P_i + G_m$	صفر	۱۳/۲ f	۴/۸ f	۶۸/۷ g	۱/۹ fg
	۲۵	۶۲/۰ b	۱۶/۴ b	۸۶/۴ f	۶/۹ a
	۵۰	۸۲/۷ a	۲۶/۱ a	۱۰۴/۱ e	۴/۵ cd

مقادیری که دارای حروف مشابه هستند، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

سایر سطوح کادمیوم و تلقیح قارچ نشان داد (جدول ۵) که بیانگر بالاترین میزان آسیب واردشده به دیواره سلولی در شرایط حداکثر تنش فلز کادمیوم است. میزان مالون دی‌آلدهید در گیاهان همزیست با قارچ‌های Pi+Gm در تمام سطوح کادمیوم نسبت به تیمار عدم‌تلقیح کاهش چشمگیری نشان داد، به‌طوری‌که این کاهش در سطوح کادمیوم صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مول به‌ترتیب ۶۸/۷، ۸۶/۴ و ۱۰۴/۱ نانومول در گرم وزن تر بود (جدول ۵).

تنش فلزات سنگین باعث افزایش گونه فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید، سوپراکسید، هیدروکسیل رادیکال، اکسیژن مجزا و آلفا اکسیژن شده و منجر به بروز تنش اکسیداتیو می‌شوند. با افزایش میزان گونه‌های اکسیژن فعال ماکرومولکول‌ها مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها، اکسید می‌شوند. مالون دی‌آلدهید از طریق پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع ایجاد شده و یکی از معمول‌ترین شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی است (Gheshlaghpour *et*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

(*al*., 2021).

بر اساس نتایج به‌دست آمده سطح پرولین در گیاه تربچه در اثر سمیت کادمیوم افزایش پیدا کرد که میزان این افزایش در گیاهان تلقیح نشده نسبت به گیاهان تلقیح شده کمتر بود. در مقایسه با شاهد میزان پرولین در غلظت کادمیوم ۲۵ میلی‌مول با شیب بالایی افزایش یافت ولی در غلظت ۵۰ میلی‌مول شیب افزایشی آن کمتر بود. تلقیح هم‌زمان قارچ‌های *P. indica* و *G. mosseae* همراه با ۲۵ میلی‌مول کادمیوم با اختلاف بسیار معنی‌داری (۶/۹۱ میکروگرم در گرم وزن تر) نسبت به تیمار عدم تلقیح قارچی و عدم وجود کادمیوم در خاک (۰/۹۹ میکروگرم در گرم وزن تر) پرولین تولید کرد (جدول ۵). یافته‌های این پژوهش نشان دادند که همزیستی با قارچ‌های اندوفیت به‌خصوص کاربرد همزمان Pi و Gm در سطوح مختلف کادمیوم افزایش محتوای پرولین برگ را به دنبال داشت. افزایش میزان پرولین در پاسخ به تنش فلز سنگین سرب در گیاه تربچه توسط ایزدی و همکاران (۱۴۰۰) اعلام گردید. افزایش انباشت پرولین در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌های همزیست ممکن است به دلیل تأثیر مستقیم این قارچ‌ها بر متابولیسم پرولین باشد (Alotaibi *et al*., 2021). در این راستا Garg و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که تحت تنش فلزات سنگین، قارچ‌های میکوریزا با افزایش فعالیت گلوتامات دهیدروژناز و پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز و کاهش فعالیت پرولین دهیدروژناز، بیوسنتز پرولین را تقویت می‌کنند.

افزایش تولید پرولین و مالون دی‌آلدهید در پاسخ به تنش فلز کادمیوم در نتایج مطالعه Tuver و همکاران (۲۰۲۲) روی گیاهان تربچه گزارش گردید. قارچ‌های همزیست از جمله قارچ‌های آربوسکولار از طریق افزایش سطح جذب گیاه، افزایش پاسخ آنتی‌اکسیدانتی، کلاته‌کردن فلزات سنگین و تحریک بیان ژن‌های سنتزکننده پروتئین‌هایی که آسیب حاصل از مولکول‌های ROS را کاهش می‌دهند به افزایش رشد و نمو گیاه کمک می‌کنند (Dhalaria *et al*., 2020).

متابولیت‌های ثانویه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی: نتایج تجزیه واریانس متابولیت‌های ثانویه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی گیاه در جدول ۶ آورده شده است.

محتوای فنل و فلاونوئید کل و DPPH: مقادیر فلاونوئید کل و DPPH تحت اثرات معنی‌دار ساده و برهمکنش کادمیوم و همزیستی با قارچ و محتوای فنل تحت اثرات ساده دو تیمار آزمایشی قرار گرفتند (جدول ۶).

نتایج به‌دست آمده نشان داد که محتوای فنول کل در گیاه تیمارشده با غلظت ۵۰ میلی‌مول کادمیوم تقریباً دو برابر گیاه شاهد بود. همچنین همزیستی گیاه تربچه با قارچ‌های Pi و Gm موجب تجمع بیشتر ترکیبات فنولی در اندام‌های هوایی گردید که این تجمع در تلقیح همزمان به مراتب بیشتر از تلقیح انفرادی بود (شکل a,b ۷).

در این مطالعه میزان فلاونوئید کل در گیاه تربچه در پاسخ به تنش کادمیوم و هم‌زیستی قارچ افزایش قابل توجهی داشت. تلقیح همزمان دو قارچ و تلقیح انفرادی قارچ Gm در خاک حاوی ۵۰ میل‌مول کادمیم تفاوت بسیار معنی‌داری از نظر میزان تولید فلاوتوئید نسبت به سایر تیمارها ایجاد کردند در حالی‌که بین این دو تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۸).

اثر تجمعی تلقیح همزمان دو قارچ در تولید DPPH تحت آلودگی فلزی خاک با میزان ۵۰ میلی‌مول کادمیم در مقایسه با اثر انفرادی این قارچ‌ها در پاسخ به تنش فلزی بسیار معنی‌دار بود (شکل ۹).

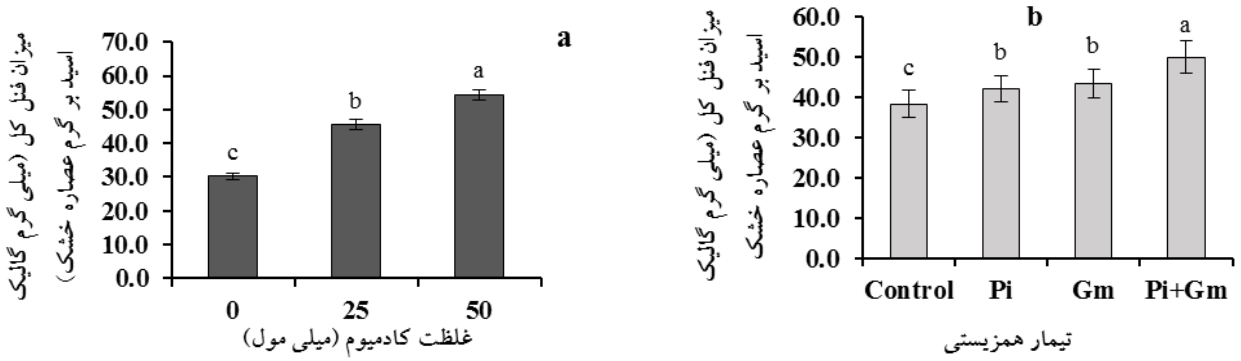
تنش فلزات سنگین باعث تحریک سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه (که جزء آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی هستند) در بافت‌های گیاهی شده و موجب تخفیف اثرات منفی تنش اکسیداتیو می‌شود (Patel *et al*., 2022). نتایج تحقیقات متعدد مشخص کرده‌اند که محتوای متابولیت ثانویه گیاهان به شدت تحت تأثیر شرایط رشدی گیاه بوده و عوامل نامطلوب محیطی مانند سمیت فلزات سنگین به طور قابل توجهی باعث القاء و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Lajayer *et al*., 2017). ترکیبات فنولی می‌توانند با اهدای الکترون یا هیدروژن رادیکال‌های آزاد را از بین برده و باعث کاهش آسیب‌های حاصل از تنش اکسیداتیو شوند (Ashraf *et al*.,

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

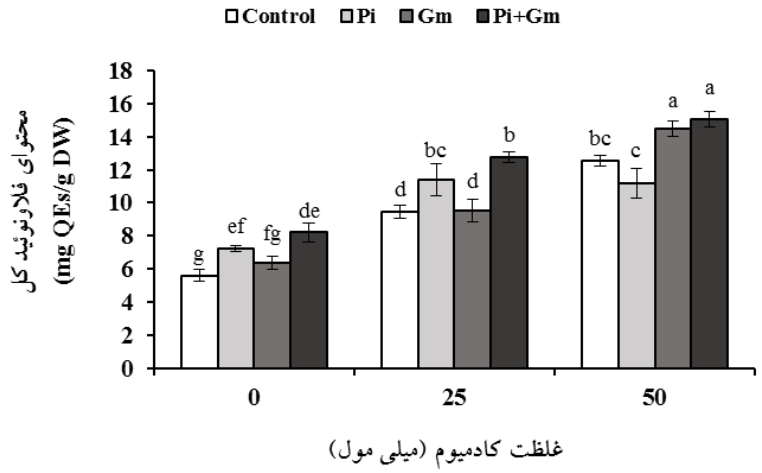
جدول ۶- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه تربچه

منابع تغییر	درجه آزادی	DPPH	محتوای فنل کل	محتوای فلاونوئید کل
کادمیوم (A)	۲	۴۵۷۶/۵۳**	۱۷۸۵/۳۴**	۱۲۷/۵۲**
قارچ (B)	۳	۷۸۰/۹۱**	۲۰۹/۸۳**	۱۲/۹۵**
A×B	۶	۱۳۰/۴۹**	۶/۰۸۹ns	۴/۰۴۳**
خطای آزمایشی	۲۴	۷/۱۳۷	۳/۶۸۱	۰/۸۹۸۵
ضریب تغییرات (٪)		۴/۲	۴/۴	۹/۲

ns، * و به‌ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد هستند.**



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر ساده غلظت کادمیوم (a) و همزیستی قارچی (b) بر محتوای فنول کل در گیاه تربچه. در هر شکل میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

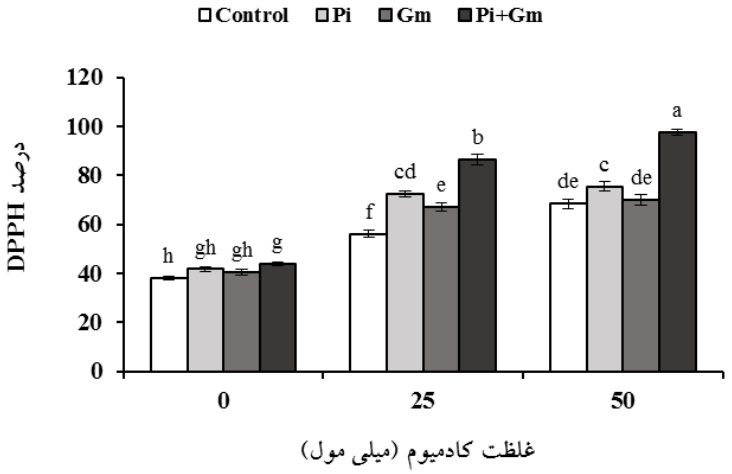


شکل ۸- مقایسه میانگین اثر برهمکنش غلظت کادمیوم و همزیستی قارچی بر محتوای فلاونوئید در گیاه تربچه. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

2018). افزایش تولید متابولیت‌ثانویه در گیاه ریحان به عنوان یک مکانیسم سازگاری با تنش فلزات سنگین کادمیوم در نظر گرفته شده است (Gheshlaghpour *et al.*, 2021).

این تحقیق همزیستی با قارچ‌های *P. indica* و *G. mosseae* باعث تجمع متابولیت‌های ثانویه و افزایش درصد DPPH در اندام‌های هوایی گیاه تربچه هم در شرایط تنش و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر برهمکنش غلظت کادمیوم و همزیستی قارچی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه تربچه. میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشابه، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

هم در شرایط عدم تنش شد. قارچ‌های همزیست از دو طریق موجب کاهش سمیت فلزهای سنگین می‌شوند. ابتدا با ممانعت از جذب فلز سنگین در محیط ریشه به رشد طبیعی گیاه کمک می‌کنند و در مرحله دوم، در صورت انتقال فلز به داخل گیاه و تجمع مولکول‌های اکسیژن فعال (ROS) به عنوان واکنش دفاعی گیاه، با تولید آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند کاتالاز، آسکوربات اسید اکسیداز و پراکسیداز و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند DPPH موجب خنثی‌شدن این مولکول‌های مخرب می‌شوند (Husna *et al.*, 2021). مطالعات روی گیاهان ذرت (Guo *et al.*, 2019)، گوجه‌فرنگی (Khanna *et al.*, 2019) و توتون (Su *et al.*, 2021) نشان داد که قارچ‌های میکوریزا و شبه‌میکوریزا در شرایط تنش فلزات سنگین به طور قابل توجهی تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی را تحریک کرده و باعث بهبود رشد و نمو این گیاهان می‌شوند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اکثر صفات رویشی مورد مطالعه همچون ارتفاع بوته، وزن تر و خشک برگ و وزن تر و خشک ریشه تحت تأثیر اثرات معنی‌دار کادمیوم خاک و همزیستی با قارچ قرار گرفتند و تعداد برگ صرفاً تحت تأثیر کادمیوم و طول ریشه فقط تحت تأثیر همزیستی با قارچ قرار گرفت. علاوه بر این، دو صفت ارتفاع بوته و وزن خشک برگ تحت تأثیر برهمکنش اثر کادمیوم و قارچ تغییرات معنی‌داری نشان دادند. در همه موارد تغییرات معنی‌دار، با افزایش غلظت کادمیوم میزان صفات رویشی کاهش یافته و در مقابل، همزیستی با قارچ موجب افزایش و بهبود آن صفت گردید.

میزان کلروفیل a و b با افزایش غلظت کادمیوم روند کاهشی نشان داد اما تیمار قارچ موجب افزایش تولید این دو رنگدانه شد. هم‌زیستی گیاه تربچه با قارچ‌های اندوفیت از طریق بهبود جذب آب و مواد غذایی موجب افزایش در صفات رشدی مانند وزن تر و خشک ریشه و برگ، ارتفاع بوته و طول ریشه شد. تنش اکسیداتیو ناشی از تنش کادمیوم باعث تخریب دیواره سلولی و افزایش میزان مالون دی‌آلدهید شد. همچنین سمیت کادمیوم با افزایش میزان H_2O_2 درون سلول گیاهی باعث القاء پاسخ دفاعی گیاه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی کاتالاز و پراکسیداز شد. نتایج به دست آمده نشان دادند که تیمار گیاه تربچه تحت شرایط تنش کادمیوم با قارچ‌های هم‌زیست میکوریزا و شبه‌میکوریزا با تحریک سیستم دفاعی سیستیمیک و افزایش میزان آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی باعث بهبود فاکتورهای رشدی ذکرشده می‌گردد. بنابراین تلقیح همزمان این دو قارچ می‌تواند به عنوان مکملی برای یکدیگر در خاک‌های آلوده به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

فلزات سنگین از جمله کادمیوم باشد و می‌تواند سمیت و اثرات مخرب فلزات سنگین را کاهش دهد که خود می‌تواند یکی از عوامل موفقیت زیست‌پالایی باشد.

منابع

ایزدی، فاطمه، قبولی، مهدی، رستمی، مجید، و موحدی، زهرا (۱۴۰۰). تأثیر قارچ *Piriformospora indica* بر صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه تربچه (*Raphanus raphanistrum* L.) در شرایط تنش فلزات سنگین. *دانش کشاورزی و تولید پایدار*، ۳۱(۳)، ۱۱۷-۱۲۹.

پورتبریزی، ثریا، پورسیدی، شهرام، عبذالشاهی، نادر، و نادرنژاد، نازی (۱۳۹۷). تأثیر تنش فلز کادمیوم بر برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی ماریتیغال (*Silybum marianum*). *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۲۶ (۷)، ۱۸۵-۱۹۸.

فقیه عبدالهی، لاله، پیردشتی، همت‌الله، یعقوبیان، یاسر، و علوی، سیدمحمد (۱۳۹۴). پیامد کاربرد قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma tomentosum* بر رشد گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در سطوح مختلف نیترات مس. *مجله مدیریت خاک و تولید پایدار*، ۵(۱)، ۱۲۷-۱۱۳.

قاسم‌نژاد، عظیم، و بابایی‌زاد، ولی‌الله (۱۳۹۰). رشد رویشی و میزان کافئیک اسید برگ کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) تحت تأثیر قارچ میکوریزا (*Priformospora indica*). *پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۱(۱۸)، ۱۳۳-۱۴۰.

Adya, A. K., Anju, G., Lixin, Z., & Ajit, V. (2013). Characterization of *Piriformospora indica* Culture Filtrate. In *Piriformospora indica*. Springer, Berlin. Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33802-1_21

Alotaibi, M. O., Ahmed, M. S., Renato, L. S., Mohamed, S. Sh., & Ahmed, M. (2021). Arbuscular mycorrhizae mitigate aluminum toxicity and regulate proline metabolism in plants grown in acidic soil. *Journal of Fungi*, *7*, 531. https://doi.org/10.3390/jof7070531

Andosch, A., Affenzeller, M. J., Lutz, C., & Lutz-Meindl, U. (2012). A freshwater green alga under cadmium stress: Ameliorating calcium effects on ultrastructure and photosynthesis in the unicellular model Micrasterias. *Journal of Plant Physiology*, *169*, 1489-1500. https://doi: 10.1016/j.jplph.2012.06.002

Anith, K. N., Faseela, K. M., Archana, P. A., & Prathapan, K. D. (2011). Compatibility of *Piriformospora indica* and *Trichoderma harzianum* as dual inoculants in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Symbiosis*, *55*(1), 11-17. https://doi:10.1007/s13199-011-0143-1

Anjum, S. A., Tanveer, M., Hussain, S., Ashraf, U., Khan, I., & Wang, L. (2017). Alteration in growth, leaf gas exchange, and photosynthetic pigments of maize plants under combined cadmium and arsenic stress. *Water, Air, and Soil Pollution*, *228*(13), 1-12. https://doi:10.1007/s11270-016-3187-2

Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., & Arif, M. S. (2018). Environmental stress and secondary metabolites in plants: An overview. *Plant Metabolites and Regulation under Environmental Stress*, 153-167. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812689-9.00008-X

Azizi, I., Esmaielpour, B., & Fatemi, H. (2020). Effect of foliar application of selenium on morphological and physiological indices of savory (*Satureja hortensis*) under cadmium stress. *Food Science and Nutrition*, *8*(12), 6539-6549. https://doi.org/10.1002/fsn3.1943

Bashri, G, & Prasad, S. M. (2015). Indole acetic acid modulates changes in growth, chlorophyll a fluorescence and antioxidant potential of *Trigonella foenum-graecum* L. grown under cadmium stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, *37*, 1-14. https://doi.org/10.1007/s11738-014-1745-z

Bates, L. S., Waldren, R. P. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Bergmeyer, H. U. (1974). Methods of Enzymatic Analysis. 2nd Ed. https://doi.org/10.1016/S0031-3025 (16)36756-3

Birhane, E., Sterck, F. J., Fetene, M., Bongers, F., & Kuyper, T. W. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use efficiency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. *Oecologia*, *169*(4), 895-904. https://doi: 10.1007/s00442-012-2258-3

Dago, A., Gonzalez, I., Arino, C., Diaz-Cruz, J., & Esteban, M. (2014).Chemometrics applied to the analysis of induced phytochelatins in *Hordeum vulgare* plants stressed with various toxic non-essential metals and metalloids. *Talanta*, *118*, 201-209. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.09.058

Deng, G., Ming L., Hong, L., Liyan, Y., & Wei, L. (2014). Exposure to cadmium causes declines in growth and photosynthesis in the endangered aquatic fern (*Ceratopteris pteridoides*). *Aquatic Botany*, *112*, 23-32.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.07.003

Dhindsa, R. S, & Matowe, W. (1981). Drought tolerance in two mosses: Correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, *32*(1), 79-91. https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.79

Dhalaria, R., Kumar, D., Kumar, H., Nepovimova, E., Kuca, K., Torequl Islam, M., & Verma, R. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi as potential agents in ameliorating heavy metal stress in plants. *Agronomy*, *10*(6), 815. https://doi.org/10.3390/agronomy10060815

Morkunas, I., Wo ´zniak, A., Mai, V. C., Ruci ´nska-Sobkowiak, R., & Jeandet, P. (2018). The role of heavy metals in plant response to biotic stress. *Molecules*, *23*, 2320. https://doi.org/10.3390/agronomy10060815

Eskander, Samir, B., & Hosam, M. S. (2020)."Heavy metal-induced oxidative stress and related cellular process." In: Cellular and Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals. Pp. 99-123. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45975-8_7

Evelin, H, & Kapoor, R. (2014). Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response in salt-stressed Trigonella foenum-graecum plants. *Mycorrhiza*, *24*, 197-208. http://dx.doi.org/10.1007/s00572-013-0529-4

Filipic, M. (2012). Mechanisms of cadmium induced genomic instability. *Mutation Research*, *733*(1-2), 69-77. https://doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.09.002

Garg, N, & Sandeep, S. (2018). "Arbuscular mycorrhiza Rhizophagus irregularis and silicon modulate growth, proline biosynthesis and yield in *Cajanus cajan* L. Millsp. (pigeonpea) genotypes under cadmium and zinc stress." *Journal of Plant Growth Regulation*, *37*(1), 46-63. https://doi.org/10.1007/s00344-017-9708-4

Gheshlaghpour, J., Behvar, A., Khademian, R., & Sedaghati, B. (2021). "Silicon alleviates cadmium stress in basil (*Ocimum basilicum* L.) through alteration of phytochemical and physiological characteristics." *Industrial Crops and Products*, *163*, 113338. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113338

Guo, J., Qin, Sh., Rengel, Z., Gao, W., Nie, Zh., Liu, H., Li, Ch., & Zhao, P. (2019). Cadmium stress increases antioxidant enzyme activities and decreases endogenous hormone concentrations more in Cd-tolerant than Cd-sensitive wheat varieties. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *172*, 380-387. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.069

Hashem, A., Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Al Huqail, A. A., Egamberdieva, D., & Wirth, S. (2016). Alleviation of cadmium stress in *Solanum lycopersicum* L. by arbuscular mycorrhizal fungi via induction of acquired systemic tolerance. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *23*(2), 272-281. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.11.002

He, Q., Bertness, M. D., & Altieri, A. H. (2013). Global shifts towards positive species interactions with increasing environmental stress. *Ecology Letters*, *16*, 695-706. https://doi.org/10.1111/ele.12080

Hildebrandt, U., Schmelzer, E., & Bothe, H. (2002). Expression of nitrate transporter genes in tomato colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Physiologia Plantarum*, *115*(1), 125-136. https://doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150115.x

Husna, Hussain, A., Shah, M., Hamayun, M., Qadir, M., & Iqbal, A. (2021). Heavy metal tolerant endophytic fungi *Aspergillus welwitschiae* improves growth, ceasing metal uptake and strengthening antioxidant system in *Glycine max* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-15. https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-021-16640-1

Islam, M. S., Kormoker, T., Idris, A. M., Proshad, R., Kabir, M. H., & Ustaoglu, F. (2021). Plant–microbe–metal interactions for heavy metal bioremediation: A review. *Crop and Pasture Science*, *73*(2), 181-201. https://doi.org/10.1071/CP21322

Khademian, R., Behvar, A., Behnam, S., & 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. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.002

Khalvandi, M., Amerian, M., Pirdashti, H., & Keramati, S. (2021). Does co-inoculation of mycorrhiza and *Piriformospora indica* fungi enhance the efficiency of chlorophyll fluorescence and essential oil composition in peppermint under irrigation with saline water from the Caspian Sea?. *PLoS One*, *16*(7), p.e0254076. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254076

Khanna, K., Jamwal, V. L., Sharma, A., Gandhi, S. G., Ohri, P., Bhardwaj, R., & Ahmad, P. (2019). Supplementation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) alleviates cadmium toxicity in *Solanum lycopersicum* by modulating the expression of secondary metabolites. *Chemosphere*, *230*, 628-639. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.072

Lajayer, Asgari, B., Ghorbanpour, M., & Nikabadi, Sh. (2017). "Heavy metals in contaminated environment: Destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants." *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *145*, 377-390. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.035

Li, T., Di, Z., Han, X., & Yang, X. (2012). Elevated CO_2 improves root growth and cadmium accumulation in the hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Plant and Soil*, *354*(1-2), 325-334. https://doi:10.1007/s11104-011-1068-4

Lu, X., Wang, J., Al-Qadiri, H. M., Ross, C. F., Powers, J. R., Tang, J., & Rasco, B. A. (2011). Determination of total

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, *129*(2), 637-644. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.105

Mohaemd, H. I., Mohamed, A. I., Gomma, A, E. W., Mostafa, K. A., Mahmoud, M. S., & Rahoma, N. A. (2024). Morpho-physiological and biochemical responses of radish (*Raphanus sativus* L.) under cadmium stress. *Notulae Scientia Biologicae*, *16*(3), 12001-12001. http://dx.doi.org/10.55779/nsb16312001

Mukherjee, S., Chatterjee, N., Sircar, A., Maikap, S., Singh, A., Acharyya, S., & Paul, S. (2023). A comparative analysis of heavy metal effects on medicinal plants. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *195*(4), 2483-2518. https://doi.org/10.1007/s12010-022-03938-0

Naz, A., Khan, S., Qasim, M., Khalid, S., Muhammad, S., & Tariq, M. (2013). Metals toxicity and its bioaccumulation in purslane seedlings grown in controlled environment. *Natural Science*, *5*(5), 573-579. https://doi:10.4236/ns.2013.55073

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:10.1007/s13199-009-0009-y

Ouziad, F., Hildebrandt, U., Schmelzer, E., & Bothe, H. (2005). Differential gene expressions in arbuscular mycorrhizal-colonized tomato grown under heavy metal stress. *Plant Physiology*, *162*(6), 634-649. https://doi 10.1016/j.jplph.2004.09.014

Patel, A., Jaiswal, N., Srivastava, P. K., & Patra, D. D. (2022). Enhancing secondary metabolite production and antioxidants in *Bacopa monnieri* grown on tannery sludge contaminated soil. *Industrial Crops and Products*, *187*, 115365. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115365

Punamiya, P., Datta, R., Sarkar, D., Barber, S., Patel, M., & Das, P. (2010). Symbiotic role of Glomusmosseae in phytoextraction of lead in vetiver grass *Chrysopogon zizanioides* L. *Journal of Hazardous Materials*, *177*(1-3), 465-474. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.056

Rahman, S. U., Khalid, M., Kayani, S., & 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

Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H., & Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, *43*, 827-831. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.029

Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, *163*(5), 1037-1046. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9

Saravanan, A., Jeevanantham, S., Narayanan, V. A., Kumar, P. S., Yaashikaa, P. R., & Muthu, C. M. M. (2020). Rhizoremediation–a promising tool for the removal of soil contaminants: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *8*(2), 103-543. https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103543

Saravi, H. B., Gholami, A., Pirdashti, H., Baradaran Firouzabadi, M., Asghari, H., & Yaghoubian, Y. (2022). Improvement of salt tolerance in *Stevia rebaudiana* by co-application of endophytic fungi and exogenous spermidine. *Industrial Crops and Products*, *177*, 114-443. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114443

Sartipnia, N., Khavari-Nejad, R. A., Babaeizad, V., Nejad-Sattari, T., & Najafi, F. (2013). Effect of *Piriformospora indica* on antioxidant enzymes activity of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) under lead stress. http://dx.doi.org/10.12692/ijb/3.12.55-64

Sherameti, I., Tripathi, S., Varma, A., & Oelmuller, R. (2008). The root-colonizing endophyte *Pirifomospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress–related genes in leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(6), 799-807.https://doi: 10.1094/MPMI-21-6-0799

Singh, A, & Prasad, S. M. (2014). Effect of agro-industrial waste amendment on Cd uptake in *Amaranthus caudatus* grown under contaminated soil: An oxidative biomarker response. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *100*, 105-113. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.005

Souri, Z., Cardoso, A. A., Da-Silva, C. J., De Oliveira, L. M., Dari, B., Sihi, D., & Karimi, N. (2019). Heavy metals and photosynthesis: Recent developments. In: Photosynthesis, Productivity and Environmental Stress. (eds. Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., and Alam, P.) Pp. 107-134. John Wiley & Sons Ltd.

Su, Z., Zeng, Y., Li, X., Perumal, A. B., Zhu, J., Lu, 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

Tang, W, & Newton, R. J. (2005). Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in *Virginia pine*. *Plant Growth Regulation*, *46*(31-43). https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.053

Tanwar, R., Panghal, A., Chaudhary, G., Kumari, A., & Chhikara, N. (2023). Nutritional, phytochemical and functional potential of sorghum: A review. *Food Chemistry Advances*, 100501. http://dx.doi.org/10.1016/j.focha.2023.100501

Tuver, G. Y., Ekinci, M., & Yildirim, E. (2022). Morphological, physiological and biochemical responses to combined

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

cadmium and drought stress in radish (*Raphanus sativus* L.). *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, *33*(2), 419-429. http://dx.doi.org/10.1007/s12210-022-01062-z

Yaghoubian, Y., Mohammadi Goltapeh, E., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Dolatabadi, H. K., Varma, A., & Hassim, M. H. (2014). Effect of *Glomus mosseae* and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. *Agricultural Research*, *3*, 239-245. https://doi:10.1007/s40003-014-0114-x

Yang, L., Ying-Ning, Z., Tian, Z. H., Wu, Q. S., & Kuca, K. (2021). Effects of beneficial endophytic fungal inoculants on plant growth and nutrient absorption of trifoliate orange seedlings. *Scientia Horticulturae*, *277*, 109-815. https://doi: 10.1016/j.scienta.2020.109815

Zhongfu, N., Kim, E. D., & Chen, Z. J. (2009). Chlorophyll and Starch Assays. http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2009.12

Xue, Z. C., Gao, H. Y., & Zhang, L. T. (2013). Effects of cadmium on growth, photosynthetic rate and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings. *Biologia Plantarum*, *57*, 587-590. https://doi.org/10.1007/s10535-013-0318-0

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]

The role of symbiosis fungi in ameliorated toxicity effects of cadmium on *Raphanus sativus* L.

Somayeh Siahkali Moradi[1], Raheleh Khademian[1*], Maryam Ghannadnia[2]

[1] Department of Genetic and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
[2] Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
(Received: 2024/08/04, Accepted: 2024/12/24)

Abstract

An effective solution for ameliorating the heavy metal toxicity in food plants is endophytic microorganisms. For this reason, the present research was studied the effect of endophytic fungi on morphological characteristics improvement, photosynthesis pigments and the rate of cadmium toxicity in shoot and root of radish (*Raphanus sativus* L.) planted in cadmium contaminated soil. The experimental treatments included cadmium (in three levels: 0, 25 and 100 mmol) and symbiosis fungi, *Priformospora indica* and *Glomus mosseae* inoculation (in four levels: control (non inoculation), incubation with *P. indica* (Pi), incubation with *G. moseae* (Gm) and co-incubation with (Pi + Gm), which was done as factorial based on randomized design in three replications in a pot experiment in a greenhouse. The results showed that, in radish, the vegetative traits and chlorophyll a and b had a high downward trend with increasing cadmium concentration. In the study, inoculation of radish plants with *P. indica* and *G. moseae* improved morphological, physiological and biochemical characteristics. The symbiosis of radish with endophytic fungus caused an increase in morphological traits such as fresh and dry weight of roots and leaves, plant height and root length through improved absorption of water and nutrients. Also, the symbiosis relationship of radish with endophytic fungi increased antioxidant enzymes activity, total phenol and flavonoid, lowered lipid peroxidation and caused higher vegetative growth due to decreased cell damage. Treatment of the plant with *P. indica* and *G. mosseae*, especially the co-treatment (Pi+Gm), caused an induced systemic resistance in radish enhancing antioxidant compound activities and a reduction in lipid peroxidation.

Keywords: Chlorophyll, Endophytic fungi, Metal contamination, Morphological traits

Corresponding author, Email: r.khademian@eng.ikiu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-06-23]