بررسی اثر قارچ *Piriformospora indica* بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه شابیزک در شرایط درون شیشه

هما نورا، صالح شهابی‌وند* و احمد آقایی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۰٤، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۰/۰۱)

چکیده:

قارچ همزیست *Piriformospora indica* دارای خصوصیات مفید و منحصر به فردی جهت افزایش رشد و مقاومت گیاهان به تنش‌های زیستی و غیر زیستی است. در بررسی حاضر اثر این قارچ اندوفیت بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه دارویی شابیزک مطالعه شد. پس از ایجاد همزیستی، اثر قارچ بر رشد، محتوای پروتئین کل و فعالیت سه آنزیم کاتالاز (CAT , EC ۱.۱۱.۱.٦)، آسکوربات پراکسیداز (APX ، EC ۱.۱۱.۱.۱۱) و پراکسیداز (POX ، EC ۱.۱۱.۱.۷) با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. نتایج نشان دهنده اثر افزایشی قارچ *P. indica* بر رشد و پروتئین کل در ریشه، ساقه و برگ گیاه شابیزک بود. در گیاهان تیمار شده با قارچ، مقدار وزن تر ۱/۸۷ برابر و طول اندام هوایی ۲/۱۱ برابر نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. در حضور قارچ، فعالیت هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدان در ساقه و برگ کاهش یافت اما در ریشه گیاه تیمار شده، افزایش فعالیت برای آنزیم کاتالاز به میزان ۲/۲ برابر، آسکوربات پراکسیداز با ۲/۳ برابر و پراکسیداز با ۲/۵ برابر نسبت به گیاه شاهد، مشاهده شد. در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد که این قارچ می‌تواند جهت افزایش زیست‌توده و به‌عنوان عامل محافظتی زیستی از طریق بالا بردن میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ریشه در گیاه مهم دارویی شابیزک بکار رود.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدان- شابیزک- همزیستی- *Piriformospora indica*

مقدمه

قارچ *Piriformospora indica* اندوفیت همزیست ریشه گیاهان خشکی زی از بیابان تار، در هند، توسط Varma و همکاران (1999) جدا شده و همانند قارچ‌های میکوریز آربوسکولار اثر افزایش رشد بر طیف گسترده‌ایی از گیاهان دارد و علاوه بر آن قادر به رشد در غیاب گیاه میزبان می‌باشد (Varma *et al*., 2012b). مهمترین خصوصیات این قارچ شامل کنترل زیستی گیاه میزبان علیه برخی بیماریزاهای قارچی ریشه (Singh *et al*., 2003)، افزایش جذب فسفات توسط گیاه میزبان (Bagde *et al*., 2010) و افزایش زیست توده‌ی گیاهان مختلف از جمله گیاهان دارویی و زراعی است (Singh *et al*., 2000). همزیستی ریشه با *P. indica*، جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهد. این قارچ، موجب مقاومت به سموم، یون‌های فلزات سنگین و ارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌شود و رشد و نمو دانه را تحریک می‌کند. در حال حاضر ثابت شده است که قارچ *P. indica*، ترکیبات خاص ارزشمندی ترشح می‌کند که بر جوانه زنی اولیه بذر، بهره‌وری بهتر بوته و تسریع گلدهی اثر دارد. مشاهده شده که بر اثر همزیستی با قارچ، سیستم آنتی اکسیدان

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

گیاه فعال می‌شود و همچنین این قارچ در افزایش تحمل به تنش غیرزیستی و زیستی شرکت می‌کند (Varma *et al*., 2012b).

تنش‌های مختلف محیطی شامل تنش‌های زنده و غیر زنده سبب تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن می‌شوند که از جمله این تنش‌ها می‌توان به تنش نور شدید، تنش خشکی، تنش شوری و عوامل بیماری‌زا اشاره کرد (Karpinski *et al*., 2003). قرارگیری سلول‌ها در معرض گونه‌های اکسیژن فعال منجر به پراکسیداسیون لیپید، تغییر ساختار غشای سلول‌ها، بازدارندگی رشد گیاه، نابودی ماکرومولکول‌های زیستی، نشت یون و درهم گسیختن رشته DNA می‌شود (Quartacci *et al*., 2001). آنزیم‌های آنتی اکسیدان مهمترین ترکیبات در سیستم‌های جمع آوری رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) (Pan *et al*., 2006) و اولین راه دفاعی در برابر صدمات رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند. در گیاهان عالی سیستم جمع آوری رادیکال‌های آزاد اکسیژن از چندین آنزیم آنتی اکسیدان تشکیل شده است که شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و گلوتاتیون S-ترانسفراز(GST) می‌باشد (Schützendübel and Polle, 2002)، که می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن فعال که در شرایط تنش تولید می‌شوند را از بین ببرند. آنزیم‌های آنتی اکسیدان از غشاها در مقابل اثرات مخرب رادیکال‌های اکسیژن فعال که در برابر تنش غیر زنده تولید می‌شود، محافظت می‌کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌هایی همچون شوری می‌شوند (Mohammadkhani and Heidari, 2007). آنزیم کاتالاز در رفع پراکسید هیدروژن دخالت می‌کند و آسکوربات پراکسیداز با کمک آسکوربات به عنوان دهنده‌ی الکترون پراکسید هیدروژن را به آب احیا می‌کند (Asada, 1992). طبق مطالعات انجام شده در مورد نحوه اثر قارچ *P. indica* در گیاهان مختلف و شرایط متفاوت، مشخص شده که این قارچ تاثیر متفاوتی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاهان دارد. به عنوان مثال قارچ *P. indica* در گیاه ذرت آلوده شده به قارچ *Fusarium verticillioides* باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌گردد تا به گیاه در غلبه بر عفونت کمک نماید (Kumar *et al*., 2009) اما در برگ گیاه کلم چینی در شرایط تنش خشکی قارچ *P. indica* باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز جهت کاهش گونه-های فعال اکسیژن و کاهش یا تاخیر اثرات خشکی بر گیاه می-شود (Sun *et al*., 2010). با توجه به این که تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و آنتی اکسیدان‌های متناظر یکی از پاسخ‌ها در برابر تنش‌های غیر زیستی می‌باشد نتیجه گرفته می‌شود ایجاد تحمل در برابر تنش غیر زیستی توسط قارچ *P. indica* به دلیل افزایش این آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد (Franken, 2012). در شرایط تنش شوری و مواد مغذی نیز قارچ *P. indica* با فعالسازی متابولیسم آنتی اکسیدانی در گیاه گوجه فرنگی و گیاه جو باعث ایجاد مقاومت می‌گردد (Baltruschat *et al*., 2008 ; Varma *et al*., 2012b). در گیاه دارویی *Bacopa monniera* مشاهده شد همزیستی با قارچ *P. indica* باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌گردد (Prasad *et al*., 2013).

گیاه شابیزک (*Atropa belladonna*) (تیره سیب زمینی) با توجه به تولید تروپان آلکالوئیدهای فعال زیستی، از جمله اسکوپولامین و هیوسیامین در درمان بیماری پارکینسون، خصوصیات ضد التهابی برای کمک به تنگی نفس، بیماری‌های حرکتی، توانایی خنثی کردن مواد سمی و برای اتساع مردمک در بینایی سنجی (Abdel-Hady *et al*., 2008)، مورد توجه است و به عنوان ممانعت کننده قوی استیل کولین در هر دو سیستم عصبی خودکار و مرکزی استفاده می‌شود (Liu *et al*., 2010). با توجه به خصوصیات دارویی مهم، یافتن راهی برای بهبود ریزازدیادی و شناسایی مکانیسم‌های همزیستی این گیاه می-تواند به تکثیر و تولید بیشتر آن کمک کند.

تاکنون تحقیقات زیادی در زمینه اثرات قارچ *P. indica* بر گیاهان مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته اما کمتر به اثر آن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان پرداخته شده است. با توجه به نقش مهم این آنزیم‌ها در مقابله با تنش‌های مختلف زیستی و غیر زیستی، این تحقیق با هدف بررسی اثر همزیستی قارچ *P. indica* بر میزان رشد، پروتئین کل و میزان فعالیت آنزیم-های آنتی اکسیدان گیاه شابیزک در جهت استفاده از این قارچ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

برای کمک به افزایش رشد و حفاظت این گیاه مهم و دارویی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه مراغه واقع در شهر مراغه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار و در شرایط درون شیشه به اجرا درآمد. نمونه‌های گیاهی در پژوهش حاضر از پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری در مرحله هشت برگی تهیه شد. محیط کشت مورد استفاده جهت تکثیر و رشد گیاه شابیزک محیط Murashige و Skoog (MS) فاقد هورمون در نظر گرفته شد. به منظور تکثیر و ازدیاد ریز نمونه‌های گیاهی، از گیاه اولیه شابیزک قطعاتی یکسان حاوی یک گره و میانگره زیرین جدا شد. پس از یک هفته در محیط جدید قطعات مذکور پرآوری کرده و ریشه و اندام هوایی جدید تولید کردند. عمل واکشت قطعات به طور متوسط هر ماه یک بار انجام شد و گیاه در دستگاه فیتوترون (Noor Sanat, mod. STC 1300 lit.) با دمای ۲۵ ±۰/۵ درجه سانتیگراد و دوره روشنایی ۱۶ ساعت و تاریکی ۸ ساعت نگهداری شد. با انجام واکشت‌های متوالی نمونه‌های گیاهی مورد نیاز به منظور انجام مراحل بعدی تهیه شد.

جهت تکثیر قارچ *P. indica* (تهیه شده از پروفسور گل تپه، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران) از محیط کشت تغییر یافته آسپرژیلوس یا محیط کشت هیل و کافر (Hill and Kafer, 2001) استفاده شد. این محیط دارای عناصر ماکرو، عناصر میکرو، پپتون، گلوکز، عصاره مخمر و ویتامین‌ها می‌باشد. مقادیر عناصر و ویتامین‌های استفاده شده در استوک‌های محیط هیل و کافر در جدول ۱ و مقادیر مواد مورد نیاز برای تهیه محیط کامل هیل و کافر در جدول ۲ ذکر شده است. پلیت‌ها در انکوباتور (Memmert, INCO246) با دمای ۲۹±۱ درجه سانتیگراد قرار گرفت. در ادامه هر سه هفته یک بار قارچ‌ها واکشت شدند.

در این مرحله از محیط MS جامد بدون هورمون به عنوان محیط پایه استفاده شد. گیاهچه‌های تا حد امکان یکدست و در مرحله نموی مشابه مورد استفاده قرار گرفت. جهت ایجاد همزیستی به هر یک از گیاهان قطعه‌ای از کشت جامد قارچ به اندازه ۵ میلی متر به کمک انتهای پیپت پاستور استریل افزوده شد به گونه‌ای که قارچ در اتصال با ریشه و در نزدیکی آن قرار گیرد. نمونه‌های گیاهی به مدت ۲ هفته در دستگاه فیتوترون با دمای ۲۵ ±۰/۵ درجه سانتیگراد و تناوب دوره روشنایی ۱۶ ساعت و تاریکی ۸ ساعت قرار گرفتند تا رشد کرده و همزیستی برقرار شود. بعد از دو هفته، گیاهچه‌ها به آرامی از شیشه خارج شدند و در آب مقطر شسته شدند تا بقایای آگار و محیط کشت بر آنها باقی نماند. سپس جهت بررسی‌های بعدی استفاده شدند.

جهت رنگ آمیزی ریشه از روش Hayman و Phillips (1970) با اعمال تغییرات جزئی استفاده شد. چندین قطعه‌ی نازک با طول مشخص از ریشه‌ی اصلی گیاه انتخاب و با آب شسته شد. نمونه‌های ریشه را به مدت ۵ دقیقه در KOH ۱۰٪ (از قبل گرم شده) قرار داده و در ادامه داخل محلول اسیدی رقیق HCl ۱٪ قرار داده شدند و در نهایت از رنگ تریپان بلو ۲۰٪ (از قبل گرم شده) به مدت ۵ دقیقه استفاده شد. ریشه‌های دارای همزیستی میکوریزی رنگ گرفتند و به کمک میکروسکوپ نوری بررسی شدند. جهت تعیین درصد همزیستی از روش خطوط متقاطع (Giovannetti and Mosse, 1980) استفاده شد (رابطه ۱ و۲).

رابطه (۱) $\text{درصد همزیستی} = \frac{\text{تعداد نقاط دارای همزیستی میکوریزی}}{\text{تعداد کل نقاط}} \times ۱۰۰$

رابطه (۲) $\text{درصد همزیستی} = \frac{\text{طول ریشه‌ی با همزیستی میکوریزی}}{\text{طول کل ریشه}} \times ۱۰۰$

ابتدا با استفاده از کاغذ صافی رطوبت اضافی نمونه‌های شسته شده، گرفته شد. اندام هوایی از محل طوقه از ریشه جدا شده و وزن تر هرکدام به طور جداگانه برحسب گرم اندازه گیری شد. متوسط طول اندام هوایی از محل طوقه تا نوک برگ‌ها برای نمونه‌های تیمار شده و شاهد اندازه‌گیری و برحسب سانتی‌متر گزارش شد.

به منظور استخراج پروتئین کل، ۰/۵ گرم بافت تر سائیده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

جدول ۱- مقادیر عناصر و ویتامین‌های استفاده شده در استوک‌های محیط هیل و کافر

عناصر میکرو	مقدار g/100cc	عناصر ماکرو	مقدار g/200cc
$ZnSo_4.7H_2o$	۲/۲	$NaNo_3$	۲٤
H_3Bo_3	۱/۱	KCl	۲/۸
$MnCl_2.H_2o$	۰/۵	$MgSo_4$	۲/۸
$FeSo_4$	۰/۵	KH_2Po_4	٦/۸
$CoCl_2$	۰/۱٦	ویتامین	مقدار g/100cc
$CuSo_4$	۰/۱٦	بیوتین	۰/۰۵
$(NH_4)_2MoO_4$	۰/۱۱	پیریدوکسین	۰/۱
Na_2EDTA	۵	ریبوفلاوین	۰/۲۵

جدول ۲- مقادیر مواد مورد نیاز برای تهیه محیط کامل هیل و کافر

ماده	استوک ماکرو	استوک میکرو	$CaCl_2$ (0.1M)	استوک ویتامین	گلوکز	پپتون	عصاره مخمر	آگار
مقدار	۵۰ mL/L	۲/۵ mL/L	۱ mL/L	۱ mL/L	۲۰ g/L	۳ g/L	۱ g/L	۱۵ g/L

شده ریشه، ساقه و برگ گیاهچه‌های شاهد و تیمار یافته درون هاون چینی با ۵۰ میلی‌گرم پلی وینیل پیرولیدون (PVP) ترکیب شد، سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH = ۷) افزوده و سائیده شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد با دور rpm ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. از فاز رویی برای تعیین غلظت پروتئین و آنزیم‌ها استفاده شد. نمونه‌های استخراج شده تا زمان اندازه گیری فعالیت آنزیم در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد در فریزر نگهداری شد.

جهت اندازه گیری پروتئین محلول کل از روش Bradford استفاده شد (1976). ابتدا با استفاده از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albumin=BSA) منحنی استاندارد رسم گردید. به این ترتیب که میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های فوق با یک میلی لیتر معرف بردفورد ۲۰٪ (V/V) مخلوط گردیده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. پس از این مدت، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر (Shimadzu, UV-1800) قرائت شد (ضریب رگرسیون تمام منحنی‌های استاندارد رسم شده در طول آزمایش بالای ۹۹٪ بود). بعد از تهیه منحنی استاندارد، ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های عصاره آنزیمی نیز به روش فوق آماده شده و میزان جذب نمونه‌ها در ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. غلظت پروتئین محلول نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب µg/g FW محاسبه شد.

به منظور تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز، ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی را به مخلوط واکنشی شامل ۲۵۰ میکرولیتر از فسفات پتاسیم به همراه ۲۵۰ میکرولیتر H_2O_2 (۷۰ میلی‌مولار) و آب مقطر افزوده و منحنی فعالیت آنزیم در مدت ۱۸۰ ثانیه در طول موج ۲٤۰ نانومتر قرائت گردید. میزان فعالیت آنزیم به روش Aebi (1984) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 در طول موج ۲٤۰ نانومتر محاسبه شد (Bergmayer,1983). فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز پس از محاسبه واحد آنزیمی (رابطه ۳) بر حسب تعداد واحدهای آنزیم بر میلی گرم پروتئین در دقیقه گزارش گردید (U/mg prot. min).

$$\text{enzyme activity (U)} = \frac{\Delta A \times l \times Vt \times dl}{\varepsilon \times l \times t \times Vs}$$ رابطه (۳)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

که در آن **U** واحد آنزیمی، **ΔA** تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش ، $\mathbf{V_t}$ حجم مخلوط واکنش (در این آزمایش برابر سه میلی‌لیتر بود)، $\mathbf{d_f}$ فاکتور رقیق‌کننده (۵۰)، **t** مدت زمان واکنش (۱۸۰ ثانیه)، $\mathbf{V_s}$حجم نمونه (در این آزمایش برابر ۲۰ میکرولیتر بود)، ε ضریب خاموشی، **l** طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش (برابر یک) است.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano و Asada (1987) اندازه‌گیری گردید. ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ۸۵۰ میکرولیتر آسکوربات (۰/۵ میلی‌مولار) به همراه ۱۵۰ میکرولیتر H_2O_2 (۲ میلی‌مولار) افزوده شده و فعالیت آنزیم در مدت ۱۸۰ ثانیه در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت گردید. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 تعیین گردید. فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز پس از محاسبه واحد آنزیمی (رابطه ۳) بر حسب تعداد واحدهای آنزیم بر میلی گرم پروتئین در دقیقه گزارش گردید (U/mg prot. min).

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Chance و Maehly (1955) اندازه‌گیری شد. ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به اضافه بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷)) به میزان ۷۵۰ میکرولیتر، گوئیکول (Guaiacol) (۱۰ میلی‌مولار) محلول در آب دوبار تقطیر به میزان ۷۵۰ میکرولیتر، H_2O_2 (۷۰ میلی-مولار) محلول در فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷)) به میزان ۱۰۰ میکرولیتر، آب دوبار تقطیر استریل شده به میزان ۱۴۰۰ میکرولیتر مخلوط شد و با قرار گرفتن در دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز پس از محاسبه واحد آنزیمی (رابطه ۳) بر حسب تعداد واحدهای آنزیم بر میلی گرم پروتئین در دقیقه گزارش گردید (U/mg prot. min).

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار اجرا گردید. سه اندام (ریشه، ساقه و برگ) و در دو حالت قارچ (حضور و بدون حضور قارچ اندوفیت) به عنوان فاکتورها در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) (P<۰/۰۵) مشخص شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج بررسی درصد همزیستی با دو روش متفاوت طبق رابطه (۱) بر اساس میانگین نقاط دارای همزیستی میکوریزی :

$$\frac{۴۳}{۵۷} \times ۱۰۰ = ۷۵/۴۳٪$$

و رابطه (۲) بر اساس میانگین طول ریشه‌های دارای همزیستی میکوریزی:

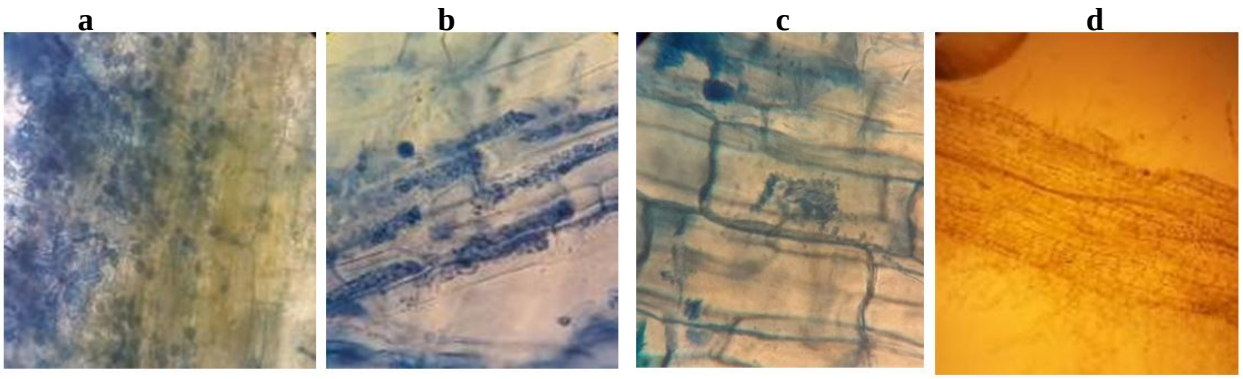
$$\frac{۴۱/۵}{۵۴} \times ۱۰۰ = ۷۶/۵۸٪$$

محاسبه گردید. همانطور که از محاسبات انجام شده مشخص است بیش از ۷۵ درصد ریشه‌ها دارای همزیستی بوده و این مطلب بیانگر آن است که گیاهچه‌ها به خوبی با قارچ همزیست شده‌اند. **شکل ۱ نشان می‌دهد که** قارچ *P. indica* با گیاه شابیزک به طور موثر همزیستی ایجاد کرده و هیف‌ها و اسپورهای قارچی به خوبی در اطراف ریشه و درون سلول‌های ریشه مشاهده شدند.

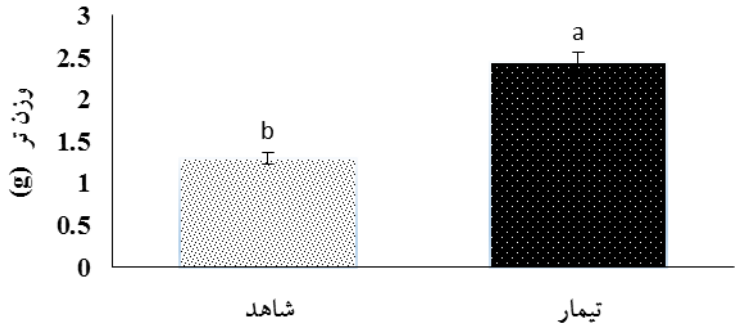
جهت بررسی تاثیر قارچ *P. indica* بر زیست‌توده گیاهچه-های شابیزک، شاخص وزن تر اندازه‌گیری شد. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، این قارچ اثر چشمگیری بر افزایش میانگین وزن تر گیاهان تیمار شده داشت و باعث افزایش ۱/۸۷ برابری میانگین وزن تر گیاهان تیمار شده (۲/۴۴ گرم) نسبت به گیاهان شاهد (۱/۳ گرم) شد. میانگین طول اندام هوایی گیاهچه‌های تیمار شده با قارچ مذکور۶/۳۳ سانتی متر بود(شکل ۳ و ٤)، که نسبت به میانگین نمونه‌های شاهد (۳ سانتی متر)، ۲/۱۱ برابر افزایش یافت (شکل ۵).

نتایج بدست آمده از این پژوهش مطابق با نتایج بدست

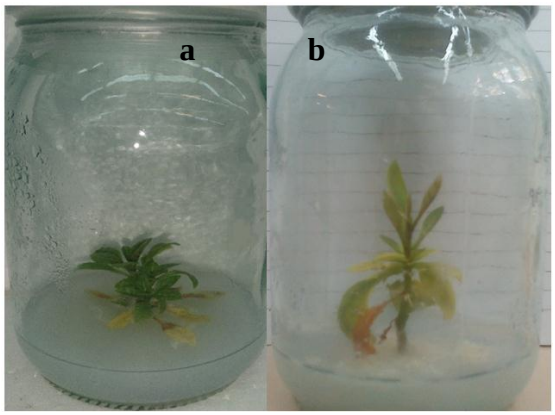
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]



شکل ۱- رنگ آمیزی همزیستی قارچ *P. indica* با ریشه‌های شابیزک به روش فیلیپس و هایمن صورت گرفته است. a) هیف و کلامیدیواسپورهای قارچی b) کلامیدیواسپورهای قارچی درون سلول‌های همزیست شده c) یک کلامیدیواسپور قارچی d) نمونه شاهد (بدون همزیستی).



شکل۲- مقایسه میانگین وزن تر در گیاهچه‌های شابیزک تیمار شده با قارچ *P. indica*. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD است (پس از دو هفته همزیستی و در سه تکرار).

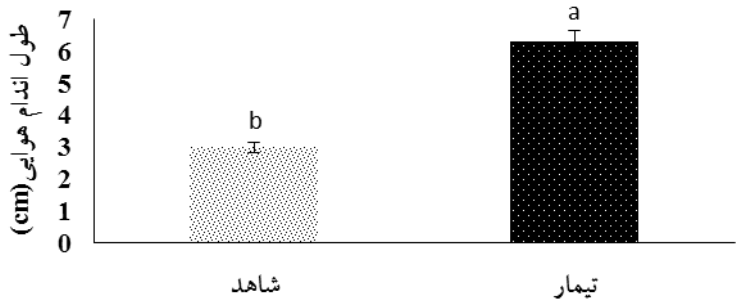


شکل۳- مقایسه طول اندام هوایی گیاهچه‌های شابیزک در شرایط شاهد (فاقد همزیستی) و تیمار شده با قارچ *P. indica* پس از دو هفته همزیستی(a) تیمار، (b) شاهد.

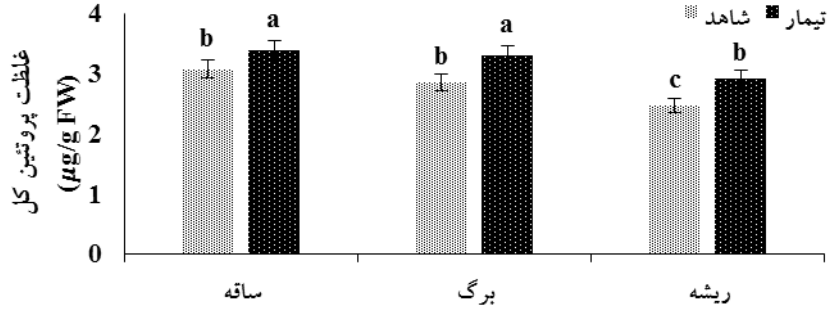
آمده از پژوهش Rai و همکاران (2001) می‌باشد که نشان دادند این قارچ قادر به افزایش رشد و زیست‌توده گیاهان زیادی از جمله گیاهان دارویی *Spilanthes calva* و *Withania somnifers* می‌باشد. این افزایش رشد می‌تواند به دلیل تولید فیتوهورمون‌ها (هورمون‌های گیاهی) باشد. پیشنهاد شده که تولید اکسین بر رشد ریشه اثر گذاشته و مسئول یا یکی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]



شکل٤- مقایسه میانگین طول اندام هوایی در گیاهچه‌های شابیزک تیمار شده با قارچ *P. indica*.. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD است (پس از دو هفته همزیستی و در سه تکرار).



شکل۵- مقایسه میانگین غلظت پروتئین کل در ریشه، ساقه و برگ گیاهچه‌های شابیزک تیمار شده با قارچ *P. indica*. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احنمال ۵٪ آزمون LSD است (پس از ۲ هفته همزیستی و در ۳ تکرار).

از عوامل موثر در اثرات مفید *P. indica* بر گیاه میزبان می‌باشد. نشان داده شده که این قارچ در محیط مایع، ایندول استیک اسید (IAA) تولید می‌کند. میزان سیتوکینین تولید شده توسط *P. indica* بیشتر از میزان اکسین آن است و در گیاه تیمار شده با قارچ، میزان سیتوکینین در مقایسه با نمونه شاهد بیشتر است که باعث افزایش رشد ریشه می‌گردد (Dolatabadi *et al.*, 2011). همچنین تغییر در میزان رشد می‌تواند به دلیل جذب بیشتر آب و مواد مغذی مخصوصاً فسفات و نیتروژن به دلیل گسترده شدن ریشه‌های تیمار شده با قارچ باشد (Yadav *et al.*, 2010) و می‌توان گفت که قارچ *P. indica* اثر معنی داری بر رشد و افزایش زیست‌توده گیاهچه شابیزک دارد.

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، اثر قارچ *P. indica* بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در سه اندام ریشه، ساقه و برگ معنی دار تشخیص داده شد. اما بر میزان پروتئین این اثر معنی دار تشخیص داده نشد.

نتایج شکل۵ نشان داد که غلظت پروتئین کل در تمامی بخش‌های گیاه تیمار شده نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت. بیشترین مقدار افزایش پروتئین کل در ریشه گیاه تیمار ۲/۹ g/g µFW بود که نسبت به ریشه شاهد (۲/٤ µg/g FW) ۱/۲ برابر افزایش یافته است که می‌تواند نشان دهنده اثر بیشتر قارچ بر ریشه باشد. همچنین مقدار پروتئین کل در ساقه و برگ گیاه تیمار به ترتیب ۱/۰۸ و ۱/۱۵ برابر گیاه شاهد بود.

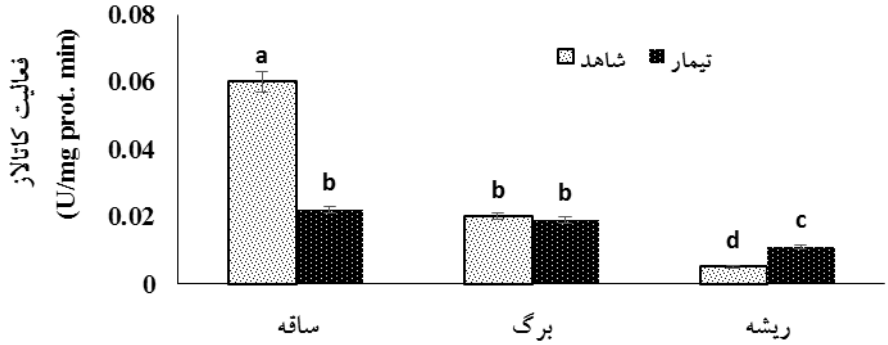
نتایج آزمایش ما که نشان دهنده اثر مثبت قارچ *P. indica* بر افزایش پروتئین کل گیاه شابیزک بود، با نتایج Rahmatzadeh و همکاران (2013) که اثر قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus versiforme* را بر گیاه پروانش تحت تیمار تریپتوفان بررسی کردند مطابقت دارد. همچنین در سایر تحقیقات نیز قارچ‌های میکوریز باعث افزایش میزان پروتئین در گیاهان مختلف از جمله *P. juliflora* و *G. fasciculatum* شده است (SelvaraJ and Chellappan, 2006). در تحقیقی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

جدول۳- تجزیه واریانس اثر قارچ *Piriformospora indica* بر صفات مورد بررسی در گیاه شابیزک

منابع تغییرات	df	کاتالاز(CAT)	اسکوربات پراکسیداز(APX)	پراکسیداز(POX)	پروتئین(Prot.)
قارچ	۱	۰/۰۰۹۷۲ **	۰/۰۲۳۳۲ *	۰/۰۰۱۵۱ ns	۰/۰۲۲۰۵*
اندام	۳	۰/۰۱٤۳٥ **	۰/۰۲۸۰۸ **	۰/۰۰٦۰٦ ns	۰/۰۱۲۹۹ *
قارچ * اندام	۳	۰/۰۱۸۲۹ **	۰/۰۲۰٥۷ **	۰/۰۱٤۹۸ *	۰/۰۰۰۱٤ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۰۷۷	۰/۰۰۳۲٥	۰/۰۰۳٥۸	۰/۰۰۲٥۷
ضریب تغییرات ٪	-	٥٤٪/٥	٤۳٪/۲	٤۳٪/۱	۳۲٪/۹

ns ، * و به ترتیب بیانگر غیر معنی دار و معنی دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.**



شکل٦- مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه، ساقه و برگ گیاهچه‌های شابیزک تیمار شده با قارچ *P. indica*. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احنمال ۵٪ آزمون LSD است (پس از ۲ هفته همزیستی و در ۳ تکرار).

دیگر، اثر قارچ *P. indica* بر گیاهان *Arabidopsis* و *Tobacco* بررسی شد و مشاهده گردید این قارچ باعث افزایش وزن تر و میزان پروتئین کل این گیاهان شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Sherameti *et al*. 2005). در نتیجه قارچ همزیست *P. indica* نیز مشابه سایر قارچ‌های میکوریز باعث افزایش میزان پروتئین کل گیاه میزبان شد.

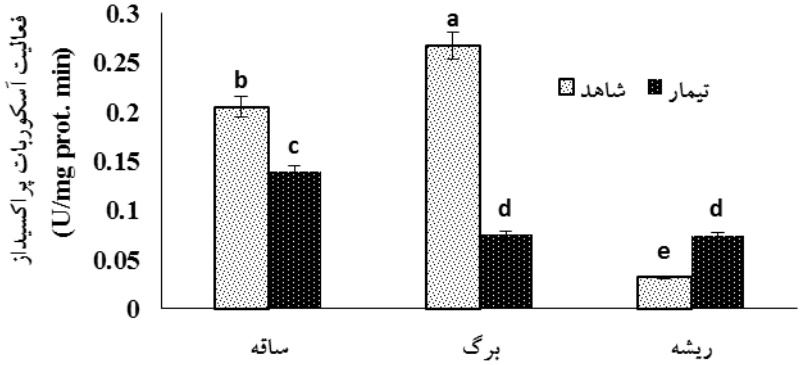
با توجه به شکل ٦ میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌ها و ساقه‌ی تیمار به ترتیب ۰/۰۱۹ و ۰/۰۲۲ واحد بود که نسبت به نمونه شاهد (به ترتیب ۰/۰۲ و ۰/۰٦ واحد) کاهش یافت اما در ریشه‌ی گیاه تیمار میزان فعالیت ۰/۰۱۱ واحد مشاهده شد که به مقدار ۲/۲ برابر نسبت به گیاه شاهد (۰/۰۰۵ واحد) افزایش یافت. در گیاه تیمار بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در ساقه مشاهده شد.

همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ‌ها و ساقه به ترتیب ۰/۰۷۵ و ۰/۱۳۹ واحد مشاهده شد که نسبت به نمونه شاهد (به ترتیب ۰/۲٦۷ و ۰/۲۰۵ واحد) کاهش یافته اما در ریشه میزان فعالیت ۰/۰۷٤ واحد بود که ۲/۳ برابر نسبت به نمونه شاهد (۰/۰۳۲ واحد) افزایش یافته است. همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ساقه گیاه تیمار مشاهده گردید.

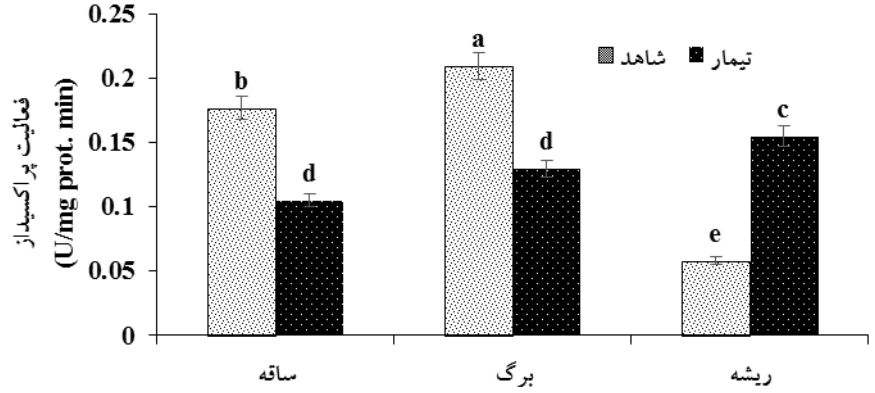
فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه، ساقه و برگ گیاه تیمار به ترتیب ۰/۱٥٥، ۰/۱۰٥ و ۰/۱۳ واحد مشاهده شد. بیشترین میزان تغییر فعالیت این آنزیم در ریشه‌های گیاه تیمار شده نسبت به نمونه شاهد (۰/۰٥۸ واحد) ثبت شد که افزایش فعالیت این آنزیم را به میزان بیش از ۲/٥ برابر نشان می‌دهد. در برگ‌ها و همچنین ساقه گیاه تیمار فعالیت پراکسیداز نسبت به نمونه شاهد (به ترتیب ۰/۲۱ و ۰/۱۷۷ واحد) بر اثر همزیستی با قارچ *P. indica* کاهش یافت (شکل۸).

همچنین با توجه به شکل۹ آنزیم پراکسیداز در ریشه بیشترین فعالیت را نسبت به سایر آنزیم‌ها در بخش‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]



شکل۷ - مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه، ساقه و برگ گیاهچه‌های شابیزک تیمار شده با قارچ*P. indica*. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD است (پس از ۲ هفته همزیستی و در ۳ تکرار).



شکل۸- مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه، ساقه و برگ گیاهچه‌های شابیزک تیمار شده با قارچ *P. indica*. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احنمال ۵٪ آزمون LSD است (پس از ۲ هفته همزیستی و در ۳ تکرار).



شکل۹- مقایسه میانگین فعالیت سه آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در ریشه، ساقه و برگ گیاهچه‌های شابیزک تیمار شده با قارچ *P. indica* . حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD است (پس از ۲ هفته همزیستی و در ۳ تکرار).

مختلف نشان می‌دهد. با توجه به این که آنزیم پراکسیداز در فرایندهای فیزیولوژیکی گسترده مانند اتصالات عرضی پروتئین‌های دیواره سلولی، دفاع در برابر حمله مهاجم‌ها، تحمل شوری و تنش‌های اکسیداتیو نقش دارد (Tognolli *et al*. 2002)، این نتایج می‌تواند بیانگر نقش مهم این آنزیم در حذف پراکسید هیدروژن و افزایش مقاومت در ریشه گیاه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

شابیزک باشد.

در این پژوهش همزیستی قارچ *P. indica* با گیاه شابیزک علاوه بر افزایش رشد و میران پروتئین کل، بر آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه اثر گذاشته و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در ساقه و برگ گیاه شد. با توجه به نقش این آنزیم‌ها در حذف گونه‌های فعال اکسیژن، این کاهش فعالیت احتمالا نشان دهنده این موضوع می‌باشد که قارچ *P. indica* گیاه را در شرایط مناسب‌تری نسبت به محیط بدون همزیست قرار داده زیرا درحضور قارچ به دلیل متعادل شدن شرایط محیطی و داخلی (مانند افزایش در جذب مواد غدایی و نیز افزایش برخی هورمونهای گیاهی) مقدار گونه‌های فعال اکسیژن کم شده و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شده کاهش یافته است. همچنین در برخی مطالعات در نتیجه همزیستی میکروارگانیسم‌ها با گیاه، کاهش در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشاهده شده است. به‌عنوان مثال، کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های جو تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلوم گزارش شده است (Omar *et al*., 2009). بررسی ها بر روی کاهو نیز نشان داده گیاهچه های تلقیح شده با باکتری سودوموناس میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کمتری نسبت به تیمار شاهد (بدون باکتری) داشته‌اند (Kohler *et al*., 2009). همچنین این نتایج با مشاهدات قبلی که نشان میداد اثر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان اصلی‌ترین هدف این قارچ در برگ‌ها می‌باشد مطابقت دارد (Sun *et al*., 2010).

درمقابل بررسی اثر قارچ *P. indica* در ریشه گیاه شابیزک نشان دهنده افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به میزان ۲/۲ برابر، آسکوربات پراکسیداز ۲/۳ برابر و پراکسیداز ۲/۵ برابر بود. در این راستا پیشنهاد شده است که سلول‌های قارچی در عمل همزیستی در درجه نخست نیاز به مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی دارند و نیز پیشنهاد شده که عمل اصلی پروتئین‌های قارچ میکوریزی در مقاوم سازی همزیستی گیاه–میکوریز آربوسکولار در برابر تنش‌های محیطی شامل حفاظت در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تنش و برطرف نمودن گونه‌های فعال اکسیژن است (Ouziad *et al*., 2006). بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در گیاهان لگوم تلقیح شده با قارچ میکوریز آربوسکولار نسبت به گیاهان تلقیح نشده افزایش بیشتری نشان داد و پیشنهاد شده این اثر به کاهش آسیب اکسیداتیو مولکول‌های زیستی کمک می‌کند (Becana *et al*., 2000). آلودگی با قارچ نیز باعث ایجاد واکنش‌های فوق حساس (HR) سلول‌های گیاه مورد نظر می‌شود و به وسیله‌ی گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین به وسیله‌ی القای مرگ سریع و متمرکز بافت گیاهی در محل عفونت شناسایی می‌شود. رادیکالهای سوپراکسید تولید شده با فعال شدن آنزیم‌های آنتی اکسیدان حذف می‌شوند (Kumar *et al*., 2009). درنتیجه افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در ریشه می‌تواند جهت کمک به مقاومت گیاه در برابر پاتوژن‌ها باشد.

مشاهده شده که بر اثر همزیستی با قارچ، سیستم آنتی اکسیدانی گیاه فعال می‌شود (Varma *et al*., 2012). در این راستا گزارش دادند تیمار گیاه *Bacopa* با قارچ *P. indica* علاوه بر افزایش رشد باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در این گیاه شد که این افزایش رشد احتمالا به دلیل ترشح فیتوهورمون‌های نامشخص به وسیله قارچ همزیست *P. indica* می‌باشد، همچنین تحریک آنزیم‌های درگیر واکنش‌های آنتی اکسیداتیو می‌تواند دو اثر داشته باشد: احتمالا در پاسخ-های دفاعی علیه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید شده توسط گیاه و یا در ایجاد محیط مساعد برای قارچ نقش دارد (Prasad *et al*., 2013). در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌ها می-تواند نشان دهنده نقش قارچ *P. indica* در افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که همزیستی قارچ *P. indica* با گیاه شابیزک علاوه بر اثر مثبت بر روی رشد و افزایش طول اندام هوایی و وزن تر گیاه و همچنین میزان پروتئین کل، باعث تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان آن شد. بیشترین تاثیر قارچ بر ریشه گیاه بود و باعث

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

افزایش بیش از دو برابری فعالیت سه آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در ریشه گردید و همچنین بیشترین میزان افزایش پروتئین کل در ریشه مشاهده شد که این افزایش فعالیت احتمالا به دلیل کمک به مقاومت گیاه بود. درنتیجه می توان گفت قارچ *P. indica* با بهبود شرایط محیطی و داخلی برای گیاه (از طریق سازوکارهایی که نیاز به بررسی بیشتر دارد)، می‌تواند جهت افزایش زیست‌توده و به‌عنوان عامل محافظتی زیستی با بالا بردن میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ریشه در گیاه مهم دارویی شابیزک بکار رود.

منابع

Abdel-Hady, M. S, Okasha, E. M, Soliman, S. S. A, Talaat, M. (2008) Effect of Gamma Radiation and Gibberellic Acid on Germination and Alkaloid Production in *Atropa belladonna* l. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2: 401-405.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Asada, K. (1992) Ascorbate peroxidase–a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. Physiologia Plantarum 85: 235-241.

Bagde, U.S., Prasad, R., Varma, A. (2010) Interaction of Mycobiont: *Piriformospora Indica* with Medicinal plants and plants of Economic importance. African Journal of Biotechnology 9: 9214-9226.

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B. D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K. H., Schäfer, P., Schwarczinger, I. (2008) Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. New Phytologist 180: 501-510.

Becana, M., Dalton, D. A., Moran, J.F., Iturbe-Ormaetxe, I., Matamoros, M. A. C. Rubio, M. (2000) Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules. Physiologia Plantarum 109: 372-381.

Bergmayer, H. (1983) UV method of catalase assay. Methods of Enzymatic Analysis 3: 273.

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

Chance, B., Maehly, A. (1955) Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology 2: 764-775.

Dolatabadi, H. K., Goltapeh, E. M., Moieni, A., Jaimand, K., Sardrood, B. P., Varma, A. (2011) Effect of *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* on plant growth and essential oil yield in *Thymus vulgaris in vitro* and in vivo experiments. Symbiosis 53: 29-35.

Franken, P. (2012) The plant strengthening root endophyte *Piriformospora indica*: potential application and the biology behind. Applied Microbiology and Biotechnology 96: 1455-1464.

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

Hill, T.W., Kafer, E. (2001) Improved protocols for Aspergillus minimal medium: trace element and minimal medium salt stock solutions. Fungal Genetics Newsletter. 48: 20–21.

Karpinski, S., Gabrys, H., Mateo, A., Karpinska, B., Mullineaux, P.M. (2003) Light perception in plant disease defence signalling. Current Opinion in Plant Biology 6: 390-396.

Kohler, J., Hernández, J.A., Caravaca, F., Roldán, A. (2009) Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. Environmental and Experimental Botany 65: 245-252.

Kumar, M., Yadav, V., Tuteja, N., Johri, A.K. (2009) Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. Microbiology 155: 780-790.

Liu, X., Yang, C., Chen, M., Li, M., Liao, Z., Tang, K. (2010) Promoting scopolamine accumulation in transgenic plants of *Atropa belladonna* generated from hairy roots with over expression of pmt and h6h gene. Journal of Medicinal Plants Research 4: 1708-1713.

Mohammadkhani, N., Heidari, R. (2007) Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. Pakistan Journal of Biological Science 10: 3835-3840.

Nakano, Y., Asada, K. (1987) Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant and Cell Physiology 28: 131-140.

Omar, M., Osman, M., Kasim, W., El-Daim, I.A. (2009) Improvement of salt tolerance mechanisms of barley cultivated under salt stress using *Azospirillum brasilense*. Salinity and Water Stress. Springer Netherlands, 133-147.

Ouziad, F., Wilde, P., Schmelzer, E., Hildebrandt, U., Bothe, H. (2006) Analysis of expression of aquaporins and Na+/H+ transporters in tomato colonized by arbuscular mycorrhizal fungi and affected by salt stress. Environmental and Experimental Botany 57: 177-186.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

Pan, Y., Wu, L.J., Yu, Z.L. (2006) Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). Plant Growth Regulation 49: 157-165.

Phillips, J.M, Hayman, D.S. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55: 158-IN118.

Prasad, R., Kamal, S., Sharma, P.K., Oelmüller, R., Varma, A. (2013) Root endophyte *Piriformospora indica* DSM 11827 alters plant morphology, enhances biomass and antioxidant activity of medicinal plant *Bacopa monniera*. Journal of Basic Microbiology 53: 1016-1024.

Quartacci, M.F., Cosi, E., Navari-Izzo, F. (2001) Lipids and NADPH-dependent superoxide production in plasma membrane vesicles from roots of wheat grown under copper deficiency or excess. Journal of Experimental Botany 52: 77-84.

Rahmatzadeh, S., Khara, J., Kazemitabar, S.K. (2013) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth improvement and biochemical factors of regenerated *Catharanthus roseus* L. plants under tryptophan treatment during acclimatization process. Journal of Plant Biology 5: 27-39.

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.

Schützendübel, A., Polle, A. (2002) Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. Journal of Experimental Botany 53: 1351-1365.

Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma, A. and Oelmüller 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: 26241–26247.

Singh, A., Sharma, J., Rexer, K-H., Varma, A. (2000) Plant productivity determinants beyond minerals, water and light: *Piriformospora indica* – A revolutionary plant growth promoting fungus. Current Science 79: 1548-1554.

Singh, A., Singh, A., Kumari, M., Rai, M.K., Varma, A. (2003) Biotechnological importance of *Piriformospora indica* Verma *et al*-Anovel symbiotic mycorrhza-like fungus: an overview. Indian Journal of Biotechnology 2: 65-75.

Sun, C., Johnson, J.M., Cai, D., Sherameti, I., Oelmüller, R., Lou, B. (2010) *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. Journal of Plant Physiology 167: 1009-1017.

SelvaraJ, T., Chellappan, P. (2006) Arbuscular mycorrhizae: a diverse personality. Journal of Central European Agriculture 7: 349-358.

Tognolli, M., Penel, C., Greppin, H. and Simon, P. (2002) Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana*. Gene 288: 129-138.

Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A., Oelmueller, R. (2012a) *Piriformospora indica*: A Novel Plant Growth-Promoting Mycorrhizal Fungus. Agricultural Research 1: 117-131.

Varma, A., Sheramati, I., Tripathi, S., *et al*. (2012b) The Symbiotic Fungus *Piriformospora indica*. Review. In Hock B (eds). Fungal Associations. 2nd Ed. Berlin: Springer pp. 231-154.

Varma, A., Verma, S., Sudha, Sahay, N., Butehorn, B., Franken, P. (1999) *Piriformospora indica*, a Cultivable Plant-Growth-Promoting Root Endophyte. Applied and Environmental Microbiology 65: 2741-2744.

Yadav, V., Kumar, M., Deep, D. K., Kumar, H., Sharma, R., Tripathi, T., Tuteja, N., Saxena, A. K., Johri, A. K. (2010) A phosphate transporter from the root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in phosphate transport to the host plant. Journal of Biological Chemistry 285: 26532-26544.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]

The effect of fungus *Piriformospora indica* on the growth and antioxidant enzymes activity of *Atropa belladonna* L. under in vitro condition

Homa Noora[1], Saleh Shahabivand[1*], Ahmad Aghaee[1]

[1] Department of Biology, Faculty of Science, University of Maragheh, Maragheh, Iran.

(Received: 23/04/2016, Accepted: 21/12/2016)

Abstract

Symbiotic fungus *Piriformospora indica* has useful and unique features to enhance growth and resistance of plants against biotic and abiotic stresses. In the present study the effects of this endophyte fungus on the growth and activities of antioxidant enzymes in medicinal plant *Atropa belladonna* were studied. After co-existence, the effect of fungus on plant growth, total protein content and the activities of ascorbate peroxidase (APX, EC 1,11,1,11), catalase (CAT, EC 1,11,1,6) and peroxidase (POX, EC 1,11,1,7) enzymes were determined using a spectrophotometer. The results showed an increase on the growth parameters, and total protein content in root, stem and leaf of inoculated plants in comparation to the control. Inoculation by endophte fungus increased the total fresh weight of plantlets by 1.87-fold and shoot height by 2.11-fold. The presence of *P. indica* decreased all three enzyme activities in the stems and leaves, whereas it increased enzyme activities of CAT, APX and POX in roots by 2.2-, 2.3- and 2.5-fold, respectively, in comparison with control plants. We concluded that this fungus could be used to increase plant growth and as bio-material protection tool via increasing root antioxidant enzyme activities in important medicinal plant *Atropa belladonna*.

Key words: Antioxidant enzymes, *Atropa belladonna*, *Piriformospora indica*, Symbiosis.

*Corresponding Author, Email: shahabi70@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.8.1]