"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد دهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰
(ص ۱۴۰-۱۲۳)
مقاله پژوهشی

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 10, No.: 1, Spring 2021
(pp: 123-140)
DOI: 10.22034/ijsst.2020.128428.1307
Research Article

اثر قارچ *Piriformospora indica* بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه شنبلیله تحت تنش کادمیوم

فاطمه السادات سخایی[1]، زهرا موحدی[2*]، مهدی قبولی[3]، احسان محسنی فرد[4]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر
۲ و ۳. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر
۴. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
(تاریخ دریافت:۱۳۹۸/۰۹/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۱۲)

چکیده

تنش فلزات سنگین یکی از مهمترین عوامل محدود کنندهٔ رشد و عملکرد گیاهان در بسیاری از مناطق دنیا است. قارچ *Piriformospora indica* به عنوان یک قارچ اندوفیت شبه میکوریزی باعث تحریک رشد بسیاری از گونه‌های گیاهی گردیده و همچنین مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را افزایش می‌دهد. در این پژوهش، اثر تلفیقی قارچ اندوفیت *P. indica* (شاهد، اسپور و میسلیوم) و نیترات کادمیوم (شاهد، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) بر جوانه‌زنی گیاه شنبلیله و و نیز اثر تلفیقی قارچ اندوفیت *P. indica* (شاهد، اسپور و میسلیوم) و نیترات کادمیوم (شاهد، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) بر صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه شنبلیله در گلدان به صورت دو آزمایش جداگانه به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بررسی شده است. در آزمایش اثر تلفیقی قارچ اندوفیت *P. indica* و نیترات کادمیوم نتایج نشان داد که کادمیم ممکن است به گیاهان اجازه جوانه زدن را بدهد، اما افزایش غلظت آن سبب اختلال در برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر شنبلیله گردید. همچنین نتایج اثر تلفیقی قارچ اندوفیت *P. indica* و نیترات کادمیوم در کشت گلدانی درمجموع نشان داد که تنش کادمیوم باعث کاهش میانگین اکثر صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده و افزایش اکثر آنزیم‌های مورد مطالعه گردید. همچنین گیاهان تلقیح شده با قارچ در مقایسه با گیاهان شاهد از رشد و عملکرد بیشتری در شرایط تنش برخوردار بودند که این موضوع بر نقش مؤثر این قارچ در بهبود خصوصیات گیاه شنبلیله تحت شرایط تنش فلزات سنگین دلالت داشت.

کلمات کلیدی: قارچ پریفورموسپورا ایندیکا، صفات مورفوفیزیولوژیکی، شنبلیله، تنش کادمیوم

Effect of *Piriformospora indica* inoculation on some morphophysiological traits of fenugreek under cadmium stress

F.s. Sakhai[1], Z. Movahedi[2*], M. Ghabooli[3], E. Mohseni Fard

1. M.Sc. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Malayer University
2, 3. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Malayer University
4. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan
(Received: Dec. 12, 2019 – Accepted: May. 01, 2020)

Abstract

Heavy metal stress is one of the most important factors limiting the growth and yield of plants in many parts of the world. The fungus *Piriformospora indica*, as a mycorrhizal endophytic fungus, stimulates the growth of many plant species and also increases the resistance to biotic and abiotic stress. In this research, the interaction effect of *P. indica* and Cd on germination of fenugreek, also the interaction effect of *P. indica* and Cd in soil system were investigated on morphophysiological traits of fenugreek according to a factorial experiment based on completely randomize design (CRD) with 3 replication in two independent experiments. The results of *P. indica* and Cd interaction on fenugreek germination showed that Cd stress can allow plants to germinate, but by an increase in their concentration, some seed germination parameters of fenugreek may be impaired. The interaction effect of *P. indica* and Cd in soil culture showed that Cd stress reduced the most of measured morphological traits and increased the most of enzyme studied in fenugreek. According to these results, it seems that the fungus in addition to colonization of fenugreek also has an effect on its improvement in Cd stress.

Key words: Trigonehha foemum-L graecum, Morphophysiological traits, Piriformospora *indica*, Cadmium stress

* Email: zahra_movahedi_312@yahoo.com

مقدمه

امروزه از گیاهان دارویی به اشکال مختلف استفاده می‌شود و گرایش به سمت این گیاهان به دلیل خاصیت درمانی آنها روز به روز در حال افزایش است (Heidarpor *et al*., 2013; Bakhtiarizade and Souri, 2019). گیاه دارویی شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum – graecum* یکی از مهم‌ترین گیاهانی است که در طب سنتی ایران و ملل مختلف استفاده فراوانی دارد و جهت درمان کورک، دیابت، سلولیتس و سل استفاده می‌شود. قرن‌ها می‌گذرد که بذر شنبلیله و اندام هوایی آن به عنوان منبع ارزشمندی از پروتئین در تغذیه انسان و دام و طیورمصرف می‌شود (Ahmad *et al*., 2016).

امروزه یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های جلوی روی بشر، آلودگی آب‌ها و خاک‌ها با فلزات سنگین است (Hatamian *et al*., 2018). اصطلاح فلزات سنگین در واقع به فلزاتی اطلاق می‌شود که چگالی آنها بیشتر از پنج گرم بر سانتی‌متر مکعب و عدد جرمی آن بیشتر از ۲۰ است (Appenroth, 2010; Hatamian *et al*., 2019). فلزات سنگین از طریق فعالیت‌های انسانی نظیر حفر و استخراج معادن، فعالیت‌های کشاورزی چون مصرف بیش از حد کودهای فسفردار و استفاده از اوره و کود دامی در مقادیر بیش از حد نیاز، کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها، لجن فاضلاب، پساب‌های صنعتی و خانگی، صنایع متالوژیکی و الکترونیک، باتری سازی و صنایع کشاورزی می‌توانند وارد چرخه محیط زیست شده و آن را آلوده سازند (Souri *et al*., 2016; Souri *et al*., 2018). در بین فلزات سنگین، به کادمیوم توجه ویژه‌ای شده است چرا که ممکن است بدون ایجاد علایم سمیت، در اندام‌های گیاهی تجمع یافته و از این طریق وارد زنجیره غذایی گردد (Prince *et al*., 2002).

در سال‌های اخیر چندین فناوری با هدف کاهش فلزات سنگین توسعه یافته است. یکی از مهمترین این فن‌آوری‌ها، استفاده از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. هدف از استفاده از این میکروارگانیسم‌ها جذب عناصر سنگین در آب و خاک می‌باشد (Abbas *et al*., 2014). تیم تحقیقاتی وارما در سال ۱۹۹۸ میلادی، قارچ شبه میکوریز درون زیستی، بنام *Piriformospora indicia* را از خاک‌های ریزوسفری گیاهان خشکی پسند کنار و کهور از صحرای تار ایالت راجستان از کشور هندوستان کشف کردند که پس از آزمایشاتی که روی توالی DNA آن صورت گرفت مشخص شد که این قارچ متعلق به خانواده Sebacinaceae و از راسته Glomeromycota می‌باشد (Varma *et al*., 2012; Waller *et al*., 2005; Weiss *et al*., 2004). از قارچ *P.indica* به‌عنوان قارچ اندوفیت شبه میکوریزا یاد می‌کنند (Bagde *et al*., 2010) که سبب القای مقاومت در برابر عوامل زیستی و غیر زیستی، پاتوژن‌ها، شوری و خشکی می‌شود (Yang *et al*., 2012; Sun *et al*., 2010; Waller *et al*., 2005). *P.indica* برخلاف قارچ‌های آربوسکولار، می‌توانند در صورت نبود میزبان در محیط‌های ساده یا پیچیده به رشد خودشان ادامه دهند و همین امر سبب برتری این قارچ شده و امکان کشت را در محیط‌های مصنوعی فراهم می‌آورد. در واقع می‌توان چنین بیان کرد که قارچ شبه میکوریز *P. indica* یک قارچ اندوفیتی هست که همزیستی آن مسالمت آمیز و اختیاری بوده، برعکس آربوسکولار که همزیستی آن به صورت اجباری است (Varma *et al*., 1999; Ghabooli *et al*., 2013).

نتایج مطالعه در گیاهانی نظیر گندم، جو، برنج و یونجه، که تحت تنش قرار گرفتند، نشان داد که تلقیح با قارچ میکوریز سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، مقاومت به انواع تنش‌ها و بهتر شدن وضعیت نیاز آبی این گیاهان شده است (Karami and Zare, 2014; Amanifar *et al*., 2019; Jogawat *et al*., 2013; Hajinia *et al*., 2011 ;). در تحقیقی روی سویا نتایج نشان داد که تلقیح ریشه این گیاه با قارچ میکوریزا سبب افزایش جذب مواد مغذی بخصوص فسفر شده و از طرفی تعداد غلاف‌های ریشه سویا در غلظت‌های بالای سرب کاهش

یافت (Andrade *et al.*,2004).

مطالعه اثرات کادمیوم بر جوانه‌زنی و همچنین صفات و خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و نیز مطالعه روی آستانه تحمل گیاهان و روش‌های بیولوژیکی نظیر استفاده از قارچ‌های همزیست در افزایش تحمل نسبت به غلظت‌های مختلف این فلز در شرایط کنترل شده می‌تواند در بهبود کیفیت گیاهان و محصولات زراعی و افزایش بازده آنها از لحاظ محصول‌دهی متأثر باشد. با توجه به موارد اشاره شده، هدف از این پژوهش بررسی اثر تلقیح قارچ *Piriformospora indica* و غلظت‌های مختلف نیترات کادمیوم بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه شنبلیله در کشت گلدانی و همچنین بررسی جوانه‌زنی گیاه شنبلیله در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ انجام شد. این آزمایش بصورت فاکتوریل، فاکتور اول: قارچ *P.indica* (شاهد، تلقیح با میسلیوم و تلقیح با سوسپانسیون اسپور) و فاکتور دوم: نیترات کادمیوم (شاهد، غلظت ۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) با سه تکرار و بصورت دو آزمایش جداگانه در کشت خاکی و شرایط آزمایشگاهی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

کشت قارچ و آماده سازی اسپور

جدایه قارچ *P.indica* (تهیه شده از پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران) در پتری دیش محتوای محیط کشت پیچیده (حاوی عناصر میکرو، ماکرو، نمک‌ها، پیتون و عصاره مخمر)، کشت داده و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور به مدت ۴ هفته نگهداری شد (Ghabooli *et al*, 2013). پس از گذراندن مدت زمان لازم جهت تولید اسپور، مقدار ۳۰-۲۰ میلی‌لیتر محلول آب توئین ٪۲۰ به هر پتری دیش افزوده شده و پس از جمع آوری اسپورهای قارچ، تعداد آنها با استفاده از لام نئوبار شمارش شدند (۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر).

کشت قارچ و آماده سازی میسلیوم

جدایه قارچ *P.indica* در محیط کشت پیچیده (Complex medium) کشت داده و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور به مدت ۷-۱۰ روز نگهداری شد. پس از گذراندن مدت زمان لازم با استفاده از فیلتر کاغذی میسلیوم‌ها از محیط کشت جدا و به منظور حذف باقی مانده‌های محیط کشت چندین بار با آب مقطر شستشو داده شد (Bajaj *et al*., 2015).

آماده سازی و تلقیح بذر

بذر گیاه شنبلیله از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. سپس مقداری از بذر مذکور وزن شده و به طور مساوی درون سه بشر ریخته شد. در ابتدا با محلول هیپوکلرید سدیم ٪۳ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی گردید و سه بار با آب مقطر شستشو داده شد و مجدداً به مدت دو دقیقه درون آب مقطر قرار گرفت، پس از پایان شستشو به مدت ۳۰ ثانیه درون اتانول ٪۸۰ قرار داده شد و مجدداً با آب مقطر سه بار شستشو شد و اجازه داده شد که به مدت دو دقیقه درون آب مقطر قرار بگیرد، سپس ظروف یکبار مصرف ضدعفونی شده را آماده و داخل آن کاغذ صافی گذاشته شد. بعد از خیساندن کاغذ صافی، توسط یک پنس تمیز بذرها با فاصله، داخل ظروف گذاشته شد و به اتاقک رشد انتقال یافت. پس از ۴۸ ساعت از کشت بذور در اتاقک رشد (در این زمان جوانه‌ها حدوداً نیم تا یک سانتی‌متر بودند) تلقیح صورت گرفت. به منظور تلقیح با اسپور جوانه‌های یک اندازه داخل بشر حاوی اسپور قرار داده شده و به مدت ۳۰ دقیقه شیک شدند. برای تلقیح با میسلیوم نیز بذرها به مدت ۳۰ دقیقه با سوسپانسیون ٪۱ میسلیوم شیک شده و ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند، سپس آزمایشات زیر انجام شد.

ابتدا بذرهای تلقیح شده به پتری دیش‌های استریل و اتوکلاو شده منتقل شدند به طوری که داخل هر پتری ۳۰ تا بذر قرار داشت سپس روزانه تا پایان آزمایش (یعنی به مدت ۲۱ روز) به میزان دو سی‌سی از محلول نیترات کادمیوم (در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) به هر پتری دیش اضافه شد، سپس به اتاقک رشد با دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد، شمارش بذرهای جوانه زده در اولین روز بعد از کشت شمارش گردید، مبنای جوانه‌زنی بر اساس استاندارد (یعنی خروج دو میلی‌متری ریشه‌چه) بود. در پایان ۲۱ روز جوانه‌ها برداشت شدند. در این آزمایش صفات مورفولوژیک چون، وزن تر و خشک گیاهچه (ریشه‌چه و ساقه‌چه)، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و صفات فیزیولوژیک همچون آنزیم‌ها (کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، ال‌آسکوربات)، مالون‌دی‌آلدئید، سنجش عناصر آهن، کادمیوم و کلسیم اندازه‌گیری شدند.

در کشت گلدانی بذرهای تلقیح شده به گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر منتقل شدند به طوری که داخل هر گلدان ۱۲ عدد بذر کشت داده شد. بستر کشت مخلوطی از شن رودخانه‌ای، کوکوپیت از قبل خیس شده، پرلایت، پیت ماس و ماسه بادی به ترتیب به نسبت ۱: ۱: ۲: ۴: ۵ بود. برای آبیاری نیز بعد از مرحله سه برگی یک روز درمیان به هر گلدان کود NPK (۲۰٪-۲۰٪-۲۰٪) که حاوی ۰/۰۵٪ منیزیم، ۱۰۰۰ppm آهن، ۵۰۰ ppm روی، ۵۰۰ ppm منگنز، ۲۰۰ ppm مس، ۵۰ppm بور و ۱۰ppm مولیبدن بود و همچنین محلول کادمیوم (غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) به میزان ۸۰-۷۰ سی‌سی اضافه شد. دو هفته پس از کشت به دلیل مشاهده علایم کمبود آهن، هر هفته ۵ سی سی کلات آهن به هر گلدان اضافه گردید. پس از ۶۰ روز برداشت گیاهان صورت گرفت.

پارامترهای کمی شامل: سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام زیرزمینی، تعداد برگ، ارتفاع بوته، طول ریشه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی ۰/۲ گرم بافت تازه برگ در ۱۰سی‌سی استون ۸۰٪ ساییده شده و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۳، ۶۴۵ محاسبه گردید (Arnon,1967). سنجش نشت الکترولیت بر اساس روش Ben-Hamed و همکاران (2007)، سنجش فنول‌کل بر اساس روش Silinkard و Singleton (1977)، سنجش پروتئین بر اساس روش Beradford (1976)، سنجش مالون‌دی‌آلدئید بر اساس روش Davey و همکاران (2005)، سنجش ظرفیت‌آنتی‌اکسیدان بر اساس روش Chandrasekar و همکاران (2006)، سنجش پرولین بر اساس روش Bates و همکاران (1973)، سنجش آنزیم‌ها (کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، ال‌آسکوربات) به ترتیب بر اساس روش Aebi (1984)، Mac-Adam و همکاران (1994)، Nakano و Asada (1987) و میزان فسفر با استفاده از اسپکتروفتومتر، عناصر کادمیوم، کلسیم، آهن، روی و منیزیم با استفاده از دستگاه جذب اتمی و عناصر سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم فتومتر اندازه‌گیری شدند. بجز کادمیوم که مقدار آن در ریشه و برگ اندازه گیری شده، بقیه عناصر از برگ برای اندازه‌گیری استفاده شد. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول از روش Kochert (۱۹۸۷) استفاده شد. همچنین برای اندازه‌گیری کربوهیدرات نامحلول، پس از استخراج قندهای محلول، تفاله حاصل جمع‌آوری و به مدت ۲ ساعت درون دستگاه آون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس ۴/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۶ میلی‌لیتر اسید پرکلریک ۵۲٪ به آن اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و ادامه با روش Kochert (۱۹۸۷) انجام شد.

در نهایت آنالیز آماری بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت دو آزمایش مجزا، با استفاده از نرم افزار آماریSPSS انجام شد. جهت بیان تفاوت‌های آماری از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات کادمیوم و قارچ *Piriformospora indica* بر پارامترهای جوانه‌زنی در گیاه شنبلیله

بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین طول ریشه‌چه (۴/۶۷ cm) و ساقه‌چه (۷/۵۷ cm)، وزن تر (۷/۲۱ g) و خشک (۰/۲۹۷g) گیاهچه، مربوط به میسیلیوم و در عدم حضور نیترات کادمیوم بود (جدول۱) همچنین نتایج نشان داد که کمترین طول ریشه‌چه (۲/۳۱ cm) و ساقه‌چه (۳/۰۹cm)، وزن تر (۴/۲۸ g) و خشک (۰/۲۰۰۶ g) گیاهچه، مربوط به ترکیب تیمار ۳۰ میلی گرم در لیتر نیترات کادمیوم و عدم تلقیح قارچ *P. indica* بوده است (جدول۱).

جدول۱ - مقایسه میانگین اثر متقابل نیترات کادمیوم و قارچ *Piriformospora indica* بر برخی صفات جوانه‌زنی گیاه شنبلیله

Table 1- Mean comparison for the effect of interaction of Cd $(NO_3)_2$ and *Piriformospora indica* on some characteristics of germination in fenugreek

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ (mg l^{-1})	وزن خشک گیاهچه (g) Seedling dry (g) weight	وزن تر گیاهچه (g) Seedling fresh weight (g)	طول ریشه‌چه (cm) Radical (cm) length	طول ساقه‌چه (cm) Hypocotyl length (cm)
Control	Control	0.289 a	5.83 b	3.65 b	6.64 b
Control	10	0.274 ab	4.89 cd	2.78 c	5.41 c
Control	20	0.253 b	4.37 d	2.52 cd	3.54 d
Control	30	0.2006 c	4.28 d	2.31 d	3.09 e
Spore	Control	0.293 a	5.85 b	4.67 a	7.3 a
Spore	10	0.271 ab	5.38 bc	3.36 b	5.65 c
Spore	20	0.269 ab	4.67 cd	2.57 cd	3.7 d
Spore	30	0.243 b	4.32 d	2.37 cd	3.46 de
Mycelium	Control	0.297 a	7.21 a	4.72 a	7.57 a
Mycelium	10	0.274 ab	5.46 bc	3.55 b	5.83 c
Mycelium	20	0.272 ab	4.7 cd	2.64 cd	3.76 d
Mycelium	30	0.259 b	4.31 d	2.51 cd	3.53 d

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

نتایج مقایسه میانگین اثر نیترات کادمیوم (جدول۲) نشان داد که بیشترین میزان مالون دی آلدئید (۰/۷۸۶۶ nµol/g FW)، کادمیوم (۲/۸۹ mg/kg DW)، کاتالاز (۰/۳۶۶۹ u/mg protein)، گایاکول پراکسیداز (۰/۶۳۹ u/mg protein) مربوط به ترکیب تیماری ۳۰ میلی گرم در لیتر نیترات کادمیوم بوده است. کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید (۰/۵۱۵۲ nµol/g FW)، کادمیوم (۰ mg/kg)، کاتالاز (۰/۱۷۱۷ u/mg protein)، گایاکول پراکسیداز (۰/۲۴۷ u/mg protein) را نیز تیمار شاهد دارا بوده است.

به طورکلی نتایج این پژوهش اثر منفی را بر شاخص‌های جوانه‌زنی نشان داد. فلزات سنگین اثر مهارکنندگی خود را بر جوانه‌زنی دانه‌ها به روش‌های گوناگون اعمال می‌کنند. برخی فلزات سنگین با مهار هیدرولیز نشاسته آندوسپرم سرعت جوانه‌زنی را کاهش داده و از رشد اولیه‌ی بذور جلوگیری می‌کنند و برخی دیگر با آسیب رساندن به رویان از جوانه‌زنی دانه جلوگیری می‌کنند (Didwania *et al.*, 2019;

Jaouani *et al.*, 2018). کاهش جوانه‌زنی و قدرت بذر نخودفرنگی (Khan *et al.*, 2012) و ریحان (Fattahi *et al.*, 2019) در اثر استعمال فلزات سنگین، گزارش‌شده است. در پژوهشی دیگری در گیاه خارمریم، کادمیوم در تمام غلظت‌ها اثر مهاری داشته و روی صفات جوانه‌زنی اثر منفی و کاهشی گذاشته است (Khatamipour *et al.*, 2011).

جدول۲- مقایسه میانگین اثر نیترات کادمیوم روی صفات میزان مالون‌دی‌آلدئید، کادمیوم، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز گیاه شنبلیله

Table 2- Mean comparison for the effect of Cd $(NO_3)_2$ on malondialdehid, Cd, catalase and gayacol peroxidase of germination in fenugreek

$Cd(NO_3)_2$ (mg l^{-1})	گایاکول پراکسیداز (U/mg protein) Peroxidase (U/mg protein)	آنزیم کاتالاز (U/mg protein) Catalase (U/mg protein)	کادمیوم (mg/Kg DW) Cd (mg/Kg DW)	مالون‌دی‌آلدئید (nmol/g FW) MAD (nmol/g FW)
Control	0.247 c	0.1717 b	– c	0.5152 c
10	0.436 b	0.2627 ab	2.205 b	0.5413 c
20	0.486 b	0.30001 ab	2.81 a	0.6245 b
30	0.639 a	0.3669 a	2.89 a	0.7866 a

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability.

در این تحقیق کادمیوم در غلظت‌های مورد مطالعه بر درصد جوانه‌زنی اثر منفی نداشت، در برخی مطالعات نتایج نشان داد که در غلظت‌های پایین برخی فلزات سنگین نه تنها اثر منفی نداشته بلکه در برخی گیاهان اثر مثبت نیز مشاهده شده است (Hashemi *et al.*, 2016). طول گیاهچه (ساقه‌چه و ریشه‌چه) صفتی بود که در اثر تیمار با کادمیوم کاهش یافت. کاهش طول گیاهچه توسط سایر محققین در گیاهانی همچون چمن (Taghizadeh and Solgi, 2016) و سورگم (Mousavi *et al.*, 2017) تحت تنش فلز سنگین گزارش شده است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. یکی از دلایل کاهش طول گیاهچه در اثر تنش فلزات سنگین مربوط به فعالیت مریستم، مانند اندازه و طول زنده ماندن آپکس (Apex)، درصد سلول‌های سنتز کننده DNA و تغییرات میکروتوبول است، نتایج نشان می‌دهد که کادمیوم باعث کاهش رشد ریشه می‌شود که این امر به طور مستقیم با کاهش طول ریشه، فعالیت میتوزی و کاهش درصد سلول‌های سنتز شده از DNA مربوط می‌شود، بنابراین در شرایط تنش، فلزات با جذب عناصر غذایی به رقابت می پردازند و همین امر یکی از دلایل کاهش طول گیاهچه است (Fusconi *et al.*, 2007). در برخی گزارشات این کاهش طول گیاهچه در اثر فلزات سنگین را به علت دخالت این عناصر در فرآیند تقسیم سلولی و انحراف کروموزومی و میتوز غیرطبیعی دانسته‌اند (Hatamian *et al.*, 2018, 2019). وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه یکی دیگر از صفاتی بود که در این مطالعه تحت تأثیر فلزات سنگین قرار گرفت و با افزایش غلظت فلزات سنگین میزان این صفات کاهش پیدا کرد. وجود فلزات سنگین در منطقه ریزوسفر و ورود آن‌ها به گیاه سوخت و ساز سلولی را تحت تأثیر قرار داده و کاهش رشد را موجب می‌شود. فلزات سنگین روی میتوکندری، فتوسنتز و مقدار کلروفیل اثر منفی گذاشته و میزان رشد را کاهش می‌دهد. نتایج مطالعه‌ای در گیاه لوبیا چیتی نشان داد که در حضور فلزات سنگین وزن‌تر و خشک گیاهچه کاهش پیدا کرد (Amini *et al.*, 2016). بسته به نوع و گونه گیاهی، غلظت‌های مختلف عناصر سنگین مخصوصاً کادمیم و سرب منجر به تنش اکسیداتیو

و صدمات به اجزای حیاتی سلول‌های گیاهی مخصوصاً در نواحی مریستمی و در حال رشد می‌گردد (Hatamian *et al*., 2019; Fattahi *et al*., 2019). رادیکال‌های اکسیژن عمدتاً در کلروپلاست و میتوکندی تولید می‌شوند و با ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو بر چربی‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها سبب اختلال در سوخت و ساز طبیعی سلول، اختلال در فرآیندهای مهم تنفس و فتوسنتز و کاهش رشد می‌شوند (Mohammadipour and Souri, 2019).

نتایج تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات کادمیوم و قارچ *Piriformospora indica* بر صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه شنبلیله در کشت گلدانی

بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین تعداد برگ (۱۸۰/۱)، سطح برگ (۸۸۹/۴۶ mm^2)، وزن تر اندام‌هوایی (۱۶/۳۵ g) و وزن خشک اندام‌هوایی (۱/۷۵ g) ، طول ریشه (۱۷/۶ cm)، وزن تر ریشه (۷/۵ g)، وزن خشک ریشه (۰/۵۴۳۳g)، کلروفیل a (۱/۹۷ mg/g FW)، کلروفیل b (۱/۱۲۵ mg/g FW)، آهن (۱/۶۱ mg/kg DW)، روی (۱/۲۴mg/kgDW)، کاروتنوئید (۱/۸۸ mg/g FW)، کلسیم (۰/۶۸٪)، فسفر (۰/۰۰۹۲۷٪)، پتاسیم (۴/۵۵۷٪)، مربوط به میسیلیوم و در عدم حضور نیترات کادمیوم بود (جدول۲). همچنین نتایج نشان داد که کمترین تعداد برگ (۱۳۵/۳۳) ، سطح برگ (۲۲۲/۴۲mm^2)، وزن تر اندام‌هوایی (۱۰/۴۳ g) و وزن خشک اندام‌هوایی (۱/۱۳ g) ، طول ریشه (۱۳/۶ cm)، وزن تر ریشه (۲/۵۶ g)، وزن خشک ریشه (۰/۱۸۳۳g)، کلروفیل a (۰/۸۷ mg/g FW)، کلروفیل b (۰/۴۲۷۷ mg/g FW)، آهن (۰/۷۳ mg/kg DW)، کاروتنوئید (۰/۳۳۶ mg/g FW)، کلسیم (۰/۲۴۶٪)، فسفر (۰/۰۰۲۶٪)، پتاسیم (۳/۲۴۱٪)، روی (۰/۷۳۷ mg/kg DW) مربوط به ترکیب تیمار۳۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات کادمیوم و عدم تلقیح قارچ *P. indica* بوده است (جدول۳). براساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین پراکسید هیدروژن (۰/۰۱۳۵ µmol/g FW)، پرولین (۰/۰۰۵۴ mg/g FW)، آنتی اکسیدان (۲/۷۵٪)، مالون‌دی آلدئید (nµol/g FW ۱/۱۴)، کادمیوم ریشه (۰/۲۲۲۴ mg/kg DW)، کادمیوم برگ (۰/۵۲۱۳ mg/kg DW)، ال آسکوربات (۰/۱۲۴۸ u/mg protein)، گایاکول پراکسیداز (۰/۵۷۲ u/mg protein)، کاتالاز (۰/۰۵۵۴u/mg protein)، فنول (۲/۷۷mg/g FW)، کربوهیدرات محلول (µg/g DW ۲/۲۹)، کربوهیدرات نامحلول (µg/g DW ۰/۰۹۰۰)، پروتئین (۱/۱۶۸mg/g FW) و سدیم (۳۷/۴۱ mg/kg DW)، مربوط به ترکیب تیماری۳۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات کادمیوم و عدم تلقیح قارچ *P.indica* بوده است. در حالیکه کمترین پراکسید هیدروژن (۰/۰۰۶۶ µmol/g FW)، پرولین (۰/۰۰۵۴ mg/g FW)، آنتی اکسیدان (۰/۷۱٪)، مالون‌دی آلدئید (۰/۶۸ nµol/g FW)، کادمیوم ریشه (۰ mg/kg)، کادمیوم برگ (۰ mg/kg)، سدیم (۲۲/۲۹mg/g)، ال آسکوربات (۰/۰۰۰۵۹ u/mg protein)، گایاکول پراکسیداز (۰/۲۳۸۵ u/mg protein)، کاتالاز (۰/۰۰۷ u/mg protein)، فنول (۱/۳۳ mg/g FW)، کربوهیدرات محلول (µg/g DW ۱/۰۷)، کربوهیدرات نامحلول (µg/g DW ۰/۰۳۹۷) و پروتئین (۰/۲۷۷mg/g FW) را تلقیح با میسیلیوم و در عدم حضور کادمیوم دارا بوده است.

نتایج مقایسه میانگین اثر ساده نیترات کادمیوم و قارچ اندوفیت *P. indica* (جدول۴) نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به عدم بکار بردن نیترات کادمیوم و استفاده از تلقیح با قارچ بصورت میسیلیوم (به ترتیب ۱۶/۱۸ cm و ۱۸/۵۲) بوده است.

بطورکلی نتایج این پژوهش نشان داد که کادمیوم اکثر صفات مورد مطالعه را در سیستم خاکی تحت تأثیر قرار می‌دهد. وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه تحت تاثیر کادمیوم کاهش پیدا کرده بود که این کاهش در وزن بطور مستقیم متأثر از کاهش رشد در گیاه بوده است. ریشه‌ها که وظیفه جذب آب و مواد غذایی را دارند، تأثیر بسیار زیادی در جذب آب و املاح گوناگون دارند و عوامل مختلف محیطی می‌توانند ازطریق تأثیر بر ریشه، رشد گیاه را تحت تأثیر خود قرار دهند.

جدول۳- مقایسه میانگین اثر متقابل نیترات کادمیوم و قارچ *Piriformospora indica* بر صفات مورفوفیزیولوژیک شنبلیله در کشت گلدانی

Table 3- Mean comparison for the effect of interaction of Cd $(NO_3)_2$ and *Piriformospora indica* on morphophysiological traits of fenugreek in pot

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ ($mg\ l^{-1}$)	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ (mm^2) Leaf area(mm^2)	طول ریشه (cm) Root length (cm)
Control	Control	170.3 b	734.21 bc	17.06 ab
Control	10	148.6 ef	498.73 f	15.4 cd
Control	20	144.6 f	260.02 g	14.6 de
Control	30	135.33 g	222.43 g	13.6 e
Spore	Control	178.2 a	771.87 b	17.6 a
Spore	10	163.2 c	628.36 de	16.56 ab
Spore	20	161.1 c	614.54 de	16.3 ab
Spore	30	152.6 d	542.09 ed	15.63 cd
Mycelium	Control	180.1 a	889.46 a	18.13 a
Mycelium	10	164.3c	662.9 cd	16.96 ab
Mycelium	20	161.4 c	626.07 de	16.5 ab
Mycelium	30	159.2 c	578.3 f	16.3 abc

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

ادامه جدول ۳

Table 3- Continued

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ ($mg\ l^{-1}$)	وزن خشک ریشه (g) Root dry weight (g)	وزن تر ریشه (g) Root fresh weight (g)	وزن خشک اندام هوایی (g) Shoot dry weight (g)	وزن تر اندام هوایی (g) Shoot fresh weight (g)
Control	Control	0.3267 c	4.9 bc	1.57 b	14.37 b
Control	10	0.2224 ef	3.3 de	1.27 a	11.4 e
Control	20	0.2167 ef	3.26 de	1.25 e	113.5 e
Control	30	0.1833 f	2.56 e	1.13 f	10.43 f
Spore	Control	0.3933 b	5.17 b	1.62 b	14.57 b
Spore	10	0.29 cd	4.63 bcd	1.406 cd	12.7 c
Spore	20	0.2467 de	4.4 bcd	1.35 d	12.37 cd
Spore	30	0.2221 ef	3.36 cde	1.29 e	11.83 d
Mycelium	Control	0.5433 a	7.5 a	1.75 a	16.35 a
Mycelium	10	0.2933 cd	4.9 bc	1.44 c	14.19 b
Mycelium	20	0.2467 de	4.43 bcd	1.39 cd	12.48 c
Mycelium	30	0.2267 ef	3.73 bcde	1.34 d	12.25 cd

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

ادامه جدول ۳

Table 3- Continued

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ ($mg\ l^{-1}$)	کاروتنوئید (mg/g FW) Carotenoid (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW) Chlorophyll b (mg/g FW)	کلروفیل a (mg/g FW) Chlorophyll a (mg/g FW)	نشت الکترولیت (٪) Ionic leakage (%)
Control	Control	1.66 a	0.8161 bc	1.65 bc	36.67 g
Control	10	0.89 c	0.4744 fg	1.27 fg	63.74 c
Control	20	0.339 d	0.4539 fg	1.06 fg	83.15 a
Control	30	0.336 d	42.77 g	0.87 h	85.06 a
Spore	Control	1.17 b	0.8293 b	1.74 b	38.67 fg
Spore	10	1.19 b	0.7218 cd	1.45 de	58.69 cd
Spore	20	1.07 b	0.5717 ef	1.308 ef	65.76 bc
Spore	30	0.980 c	0.5423 efg	1.17 fg	71.76 b
Mycelium	Control	1.88 a	1.125 a	1.97 a	45.31 ef
Mycelium	10	1.4 ab	0.7834 c	1.55 cd	50.25 e
Mycelium	20	1.13 b	0.6413 de	1.41 de	52.76 de
Mycelium	30	0.97 c	0.5693 ef	1.22 fg	57.97 cd

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارد

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

ادامه جدول ۳

Table 3- Continued

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ ($mg\ l^{-1}$)	مالون‌دی‌آلدئید(nmol/g FW) MDA (nmol/g FW)	آنتی‌اکسیدان (٪) Antioxidant(٪)	پرولین (mg/g FW) Proline (mg/g FW)	پراکسید هیدروژن (µmol/g FW) H_2O_2 (µmol/g FW)
Control	Control	0.501 f	0.63 h	0.0017 e	0.0073 b
Control	10	0.835 d	1.92 c	0.0046 abc	0.0125 a
Control	20	1.07 ab	2.3 b	0.0051 ab	0.0129 a
Control	30	1.14 a	2.75 a	0.0054 a	0.0135 a
Spore	Control	0.671 e	0.71 h	0.0013 f	0.0068 b
Spore	10	0.83 d	1.32 efg	0.0027 de	b0.0088
Spore	20	0.87 cd	1.64 cde	0.0035 cd	b0.0082
Spore	30	0.96 bc	1.772 cd	0.0051 ab	0.0104 a
Mycelium	Control	0.672 e	1.15 g	0.0011 f	0.0066 b
Mycelium	10	0.68 e	1.27 fg	0.003 de	0.0069 b
Mycelium	20	0.86 cd	1.56 g	0.004 bcd	0.0082 b
Mycelium	30	0.94 cd	1.77 cd	0.0046 abc	0.0112 a

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

ادامه جدول ۳

Table 3- Continued

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ ($mg\ l^{-1}$)	روی (mg/Kg DW) Zn (mg/Kg DW)	آهن (mg/Kg DW) Fe (mg/Kg DW)	کادمیوم ریشه (mg/Kg DW) Cd in root (mg/Kg DW)	کادمیوم برگ (mg/Kg DW) Cd in leaf (mg/Kg DW)
Control	Control	1.15 a	1.24 bc	–e	–g
Control	10	0.745 b	0.913 def	0.085 a	0.257 cd
Control	20	0.739 b	0.75 g	0.198 a	0.353 b
Control	30	0.737 b	0.73 g	0.222 a	0.521 a
Spore	Control	1.23 a	1.31 b	–e	–g
Spore	10	0.837 b	1.05 de	0.056 c	0.148 ef
Spore	20	0.804 b	0.916 def	0.061 c	0.217 de
Spore	30	0.784 b	0.86 fg	0.145 b	0.312 bc
Mycelium	Control	1.24 a	1.61 a	–e	–g
Mycelium	10	0.868 b	1.09 cd	0.041 d	0.091 f
Mycelium	20	0.818 b	1.017 de	0.055 c	0.166 f
Mycelium	30	0.797 b	۰0.89 cef	0.130 b	0.286 bcd

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

ادامه جدول ۳

Table 3- Continued

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ ($mg\ l^{-1}$)	پتاسیم (٪) K (٪)	سدیم (mg/g DW) Na (mg/g DW)	فسفر (٪) P (٪)	کلسیم (٪) Ca (٪)
Control	Control	5.986 bc	23.72 d	0.0083 ab	0.656 a
Control	10	4.932 cd	27.25 c	0.0047 cd	0.379 c
Control	20	4.579 d	35.22 ab	0.0034 de	0.283 d
Control	30	3.241 e	37. 41 a	0.0026 e	0.246 d
Spore	Control	6.456 b	23.72 d	0.0092 a	0.681 a
Spore	10	5.832 bc	26.38 c	0.0072 b	0.581 a
Spore	20	5.311 cd	27.15 c	0.0057 c	0.524 a
Spore	30	5.052 cd	33.59 ab	0.0049 c	0.424 b
Mycelium	Control	7.455 a	22.29 d	0.0092 a	0.688 a
Mycelium	10	5.938 bc	26.35 c	0.0073 b	0.651 a
Mycelium	20	5.429 bcd	26.98 c	0.0057 c	0.562 a
Mycelium	30	5.214 cd	32.89 b	0.0049 c	0.45 b

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

ادامه جدول ۳

Table 3- Continued

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ (mg l^{-1})	کربوهیدرات نامحلول (µg/g DW) Insoluble carbohydrate (µg/g DW)	کربوهیدرات محلول (µg/g DW) Soluble carbohydrate (µg/g DW)	پروتئین (mg/g FW) Protein (mg/g FW)	فنول کل (mg/g FW) Phenol (mg/g FW)
Control	Control	0.039 h	1.07 f	0.277 f	1.33 f
Control	10	0.054 cde	2.07 c	0.554 d	2.37 abc
Control	20	0.066 bc	2.15 bc	0.904 b	2.41 abc
Control	30	0.090 a	2.29 a	1.316 a	2.77 a
Spore	Control	0.042 fg	1.34 e	0.459 de	1.58 ef
Spore	10	0.051 cde	1.56 d	0.492 de	2.07 cd
Spore	20	0.055 cde	2.11 c	0.736 c	2.3 bc
Spore	30	0.075 b	2.17 abc	1.227 a	2.70 ab
Mycelium	Control	0.041 fg	1.54 d	0.346 ef	1.65 de
Mycelium	10	0.048 efg	2.06 c	0.465 de	1.74 def
Mycelium	20	0.064 bcd	2.14 c	0.579 d	1.78 de
Mycelium	30	0.069 b	2.27 ab	1.168 a	2.60 ab

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

ادامه جدول ۳

Table 3- Continued

P. indica	$Cd(NO_3)_2$ (mg l^{-1})	ال آسکوربات (U/mg protein) L-ascorbate (U/mg protein)	گایاکول پراکسیداز (U/mg protein) Peroxidase (U/mg protein)	آنزیم کاتالاز (U/mg protein) Catalase (U/mg protein)
Control	Control	0.0034 d	0.348 cd	0.0036 c
Control	10	0.017 c	0.498 abc	0.013 b
Control	20	0.091 b	0.557 a	0.016 b
Control	30	0.124 a	0.572 a	0.055 a
Spore	Control	0.0024 d	0.374 bcd	0.0044 c
Spore	10	0.0029 d	0.442 abc	0.0059 c
Spore	20	0.004 d	0.480 abc	c0.007 c
Spore	30	0.081 b	0.552 a	b0.014 b
Mycelium	Control	0.00059 e	0.238 d	0.0032 c
Mycelium	10	0.0024 d	0.379 bcd	c0.0048 c
Mycelium	20	0.0028 d	0.470 abc	c0.0068 c
Mycelium	30	0.018 c	0.516 ab	b0.014 b

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اصلی نیترات کادمیوم و قارچ *Piriformospora indica* بر ارتفاع کل گیاه شنبلیله در کشت گلدانی

Table 4- Mean comparison for the effect of $Cd(NO_3)_2$ on total length of fenugreek in pot

P. indica	ارتفاع کل (cm) plant height (cm)	$Cd(NO_3)_2$ (mg l^{-1})	ارتفاع کل (cm) plant height (cm)
Control	14.83 b	Control	18.52 a
Spore	b15.6 a	10	15.98 b
Mycelium	16.18 a	20	14.08 c
		30	13.56 c

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.01 level of probability.

یکی از این تنش‌ها، تنش فلزات سنگین است که رشد ریشه را محدود کرده و از طریق آن فعالیت‌های رشدی گیاه تحت تأثیر قرارمی‌گیرد. بنابراین، اختلال در رشد ریشه باعث کاهش سطح جذب کننده موادغذایی، تغییر در ساختار غشای یاخته‌ای و کاهش جذب محتوای آب شده که این مسأله بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تعرق، تنفس و فتوسنتز اثر گذاشته و در نهایت موجب کاهش رشد در سایر قسمت‌های گیاه و ازجمله کاهش وزن تر و خشک گیاه می‌شود (Wani *et al*., 2012). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم در گیاه شاهی و تربچه میزان وزن تر و خشک کاهش یافته است (Bolandnazar *et al*., 2016) که این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

در غلظت‌های بالای کادمیم این عنصر بر بعضی پارامترهای سلولی (فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌ها، تنش اکسیداتیو و سمیت سلولی) اثر گذاشته که این مسئله در کاهش زیست توده و فعالیت فتوسنتزی نیز تأثیر دارد (Cheng *et al*., 2016). یکی دیگر از صفاتی که تحت تنش فلزات سنگین در این مطالعه کاهش پیدا کرده است، ارتفاع کل گیاه و طول ریشه می‌باشد. در جعفری (Khatib *et al*., 2008) نیز کاهش ارتفاع کل گیاه و طول ریشه در مواجهه با تنش فلزات سنگین گزارش شده است. غلظت بالای فلزات سنگین منجر به آسیب‌های ریشه‌ای، کاهش میزان کلروفیل، اختلال درفتوسیستم II و کاهش میزان جذب CO_2 می شود که یکی از دلایل کاهش رشد به شمار می‌رود (Paunov *et al*., 2018) این کاهش ارتفاع در غلظت‌های بالا می‌تواند به علت اختلال در فعالیت های متابولیسمی باشد زیرا این فلزات توسط سیستم آپوپلاست و سیم‌پلاست در گیاه جذب و منتقل می‌شوند که به دنبال آن موجب تنش‌های اکسیداتیو و کمبود مواد مغذی می‌شود (Yadav *et al*., 2016).

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان تجمع این عنصر در ریشه و اندام‌هوایی افزایش یافته است که نتایج گزارشات قبلی نیز نشان داد فلزات سنگین جمع آوری شده توسط گیاهان بیشتر در بافت‌های ریشه‌ای توزیع می‌شوند، که بیان کننده این است که در واقع یک استراتژی برای تحمل فلز به طور گسترده در بین سلول‌های ریشه وجود دارد و با افزایش غلظت فلزات سنگین میزان این عناصر در بافت‌های گیاهی نیز افزایش می‌یابد (Nouri *et al*., 2009). کاتالاز و پراکسیداز از جمله آنزیم‌هایی بودند که تحت تنش فلزات سنگین در گیاه شنبلیله افزایش داشتند. نتایج پژوهش‌های دیگر نشان داد که گیاهان مکانیسم‌های مختلفی جهت مبارزه با استرس دارند، اولین خط دفاعی که برای یک گیاه فراهم می‌شود محدود کردن جذب فلزات سنگین است و دومین خط دفاعی آن در زمان سمیت فلز، تولید آنتی اکسیدان‌ها و هورمون‌ها جهت مقابله با تنش اکسیداتیو می‌باشد به عبارتی می‌توان گفت که گیاهان برای محافظت از خود

درمقابل آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های اکسیژنی اغلب دارای یک سیستم آنتی اکسیدانی هستند که از ترکیبات آنزیمی مانند کاتالاز و پراکسیداز و وترکیبات غیر آنزیمی تشکیل شده‌اند (Ghori *et al*., 2019).

در این مطالعه تحت تاثیر کادمیوم میزان پرولین افزایش پیدا کرد. یکی از ترکیبات مهم که در شرایط تنش افزایش می‌یابد، پرولین است، در پاسخ به تنش در بسیاری از گیاهان میزان پرولین افزایش یافته و گیاه با تجمع پرولین، افزایش ذخیره سازی کربوهیدرات ها و پروتئین‌سازی می‌تواند مقاومت خود را در برابر تنش‌های مختلف افزایش دهد .(Kavikishor *et al*., 2005) پرولین یکی از محافظت کننده‌های غشاها است. افزایش میزان پرولین در کاهش اثرات تنش نقش دارد، در واقع به صورت اسمولیت‌های آلی عمل می‌کنند. پرولین تحمل گیاهان به تنش را به طریق مختلف از جمله تنظیم اسمزی، حفاظت آنزیم‌ها در برابر دناتوره شدن و تثبیت سنتز پروتئین، افزایش می‌دهد. تجمع پرولین سبب کاهش اثرات تنش، کاهش اسیدی شدن سلول، درنتیجه تولید $NADP^+$ و حمایت از مسیر اکسیداتیو پنتوزفسفات می‌شود، چون وابسته به $NADP^+$ بوده و توسط NADPH مهارمی‌شود (Hayat *et al*., 2012).

نتایج نشان داد که در اثر کادمیوم تعداد و سطح برگ نیز کاهش یافت. کاهش تعداد برگ با افزایش غلظت کادمیم در برخی گیاهان همچون چغندر لبویی (Behtash *et al*., 2010) و *Phaseolus mungo* (Siddhuand and Ali-Khan, 2012) گزارش شده است. رنگیزه‌های فتوسنتزی یکی دیگر از صفاتی است که تحت تأثیر کادمیوم کاهش داشته است. در بسیاری از گیاهان ازجمله شاهی (Gill *et al*., 2012) و گوجه‌فرنگی (Khan *et al*., 2019) میزان رنگیزه های فتوسنتزی در هنگام تیمار با کادمیوم کاهش می‌یابد. مطالعات زیادی نشان می‌دهد که غلظت بالای کادمیوم تأثیر خود را بر فعالیت رنگیزه‌های فتوسنتزی بخصوص ساخت کلروفیل و کاروتنوئید و آسیب غشایی می‌گذارد (Ekmekci *et al*., 2008). در مطالعه‌ای نتایج نشان داد که در برخی موارد کادمیوم اثر خود را از طریق کاهش تکثیر کلروپلاست و تعداد روزنه در سطح برگ می‌گذارد (Baryla *et al*., 2001).

با توجه به نتایج این پژوهش، در حضور قارچ اثرات منفی کادمیوم تا حد زیادی کاهش یافته است. در پژوهشی روی اثر تلقیح قارچ DSE (Dark Septate Endophytes) با گیاه ذرت نتایج نشان داد که تلقیح با قارچ DSE، سبب افزایش بیوماس گیاه ذرت شده و از طرفی باعث کاهش اثرات منفی گیاهان تحت تنش کادمیوم شد. تلقیح با قارچ اندوفیت سبب افزایش فعالیت‌های فتوسنتزی و تنظیم مقدار فیتوهورمون‌ها شده و به عنوان روشی موثر جهت کاهش تنش کادمیوم در گیاهان پیشنهاد شده است (He *et al*., 2017). نتایج مطالعه‌ای در گیاه آفتابگردان نشان داد که در غلظت‌های مختلف کادمیوم در خاک‌هایی که ریشه‌های تلقیح شده با *P.indica* دارند در مقابل خاک‌هایی که ریشه‌های تلقیح نشده دارند میزان رشد گیاه و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در آنها افزایش می‌یابد. نتایج پژوهشی نشان داد که *P. indica* می‌تواند تحمل گیاه آفتابگردان، به سمیت کادمیوم را از طریق افزایش سطح رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش تجمع کادمیوم افزایش دهد از طرفی این قارچ در بهبود رشد و عملکرد گیاهان در برابر تجمع اکسیژن‌های واکنشگر (ROS) نقش مهمی را ایفا می‌کنند و سبب مقاومت گیاهان به این فلزات می‌شود (Shahabivand *et al*., 2018, 2017).

در پژوهش دیگر آمده که تلقیح ریشه گیاهانی چون توتون و گندم با قارچ *P.indica* سبب کاهش اثرات ناشی از سمیت کادمیوم شده و بیوماس این گیاهان را افزایش داده است همچنین نشان داده شد که تلقیح ریشه این گیاهان با قارچ اندوفیتی *P.indica* سبب کاهش اثرات تنش کادمیوم بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود (Shahabivand *et al*., 2012; Hui*et al*., 2015). در پژوهش دیگر آمده که تلقیح

گیاهان با قارچ *P.indica* سبب افزایش تولید هورمون‌های اکسین و سیتوکنیین شده که به دنبال آن سبب افزایش تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها می‌گردد، همچنین این قارچ سبب افزایش قدرت جذب در گیاهان می‌شود (Sirrenberg, 2007; Xu *et al*., 2018; Vadassery *et al*., 2008; Jisha *et al*., 2019). سطوح هیف‌های قارچ پوشیده شده از فراوان‌ترین آمینوپلی‌ساکاریدهایی چون Keithine و Chitosan که دارای سازگاری زیستی بالا، سمیت پایین، زیست تخریب پذیری و خواص ضد میکروبی قابل قبول هستند که تحت عنوان ماده‌های شیمیایی جذبی، جهت جذب فلزات سنگین به کار می‌روند و مکانیسم عمل به این صورت است که کادمیوم به گروه‌های کاربردی (کربوکسیل، هیدروکسیل، آمینو فسفات) می‌چسبند و در درون این گروه‌ها منقبض شده و مانع از تحرک و پویایی آنها و یا همچنین انتقال به بخش‌های هوایی می‌شود (Sanchez-Vallet *et al*., 2015; Tayel *et al*., 2016).

نتیجه‌گیری کلی

بطورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که اگرچه ممکن است کادمیوم در غلظت‌های پایین به گیاهان اجازه جوانه‌زدن را بدهد، اما افزایش غلظت آن می‌تواند سبب اختلال در برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر شنبلیله گردد. از طرف دیگر، نتایج بررسی اثر تلفیقی قارچ اندوفیت *P. indica* و نیترات کادمیوم در سیستم گلدانی نشان داد که، تلقیح گیاهان شنبلیله با قارچ *P. indica* توانسته است تا حدی اثرات مضر تنش کادمیوم را کاهش دهد، بطوریکه در گیاهان تلقیح نشده، تنش به ترتیب باعث کاهش میانگین اکثر صفات مورفولوژیک و افزایش اکثر آنزیم‌های مورد مطالعه گردیده است اما گیاهان تلقیح شده با قارچ در مقایسه با گیاهان شاهد از رشد و عملکرد بیشتری در شرایط تنش برخوردار بودند که این موضوع بر نقش مؤثر این قارچ در بهبود خصوصیات گیاه شنبلیله تحت شرایط تنش فلزات سنگین دلالت داشت.

منابع

Reference

Abbas, S.H., I.M. Ismail, T.M. Mostafa, and A.H. Sulaymon. 2014. Biosorption of Heavy Metals: A Review. J. Chem. Sci Technol. 3(4): 74-102.

Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Method Enzymol. 105: 121-126.

Ahmad, A., S.S. Alghamdi, K. Mahmood, and M. Afzal. 2016. Fenugreek a multipurpose crop: Potentialities and improvements. Saudi J. Biol. Sci. 23(2): 300–310.

Amanifar, S., E. Vatankhah, Z. Toghranegar, and A. Akbari-Vahid. 2019. The effect of Mycorrhiza-Like fungus *Piriformospora indica* on some physiological and biochemical responses of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) under water deficit stress. Water Soil Sci. 29(3): 1-250. (In Persian)

Amini, F., H.R. Baluchi, M. Movahedi Dehnavi, and M. Attarzadeh. 2016. Effects of different concentrations of heavy metals application on germination indices and seed vigor of Pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iran J. Seed Sci. Res. 3 (2): 105-95. (In Persian)

Andrade, S.A.L., C.A. Abreu, M.N. Abred, and A.D.D. Silveria. 2004. Influence of lead addition on arbuscular mycorrhiza and Rhizobium symbioses under soybean plants. Appl. Soil Ecol. 26: 123-137.

Appenroth, K.J. 2010 Definition of "heavy metals" and their role in biological systems. Pp 19-29. *In* I. Sherameti, and A. Varma (eds.). Soil heavy metals. Springer, Berlin, Heidelberg.

Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. J. 23:112-121.

Bagde, U.S., R. Prasad, and A. Varma. 2010. Interaction of mycobiont: *Piriformospora indica* with medicinal plants and plants of economic importance. Afr. J. Biotechnol. 9: 9214-9226.

Bajaj, R., W. Hu, and Y. Huang, et al. 2015. The beneficial root endophyte Piriformospora indica reduces egg density of the soybean cyst nematode. Biol. Control. 90: 193-199.

Bakhtiarizade, M. and M.K. Souri. 2019. Beneficial effects of rosemary, thyme and tarragon essential oils on postharvest decay of Valencia oranges. Chem. Biol. Technol. Agri. 6(1):9. https://doi.org/10.1186/s40538-019-0146-3.

Baryla, A., P. Carrier, F. Franck, C. Coulomb, C. Sahut, and M. Havaux. 2001. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. Planta. 212: 696–709.

Bates, L. S., R. P. Waldern, and I. D. Tear. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Behtash, F., S.J. Tabatabaii, M.J. Malakouty, M.H. Sorour-Aldin, and Sh. Ustan. 2010. Effect of cadmium and silicon on growth and some physiological aspects of Red Beet. J. Agric. Sci. Sustain. Prod. 2 (1): 53-67. (In Persian)

Ben Hamed, K., A. Castagna, E. Salem, A. Ranieri, and C. Abdelly. 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum L.*) under salinity conditions, a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Reg. 53: 185-194.

Bolandnazar, S., S. Khorsandi, and M. Adlipoor. 2016. Effect of cadmium and zeolite on growth characteristics of Cress (*Lepidium sativum L.*) and Radish (*Raphanus sativus L.*). J. Plant Prod. Technol. 8(1): 137-146. (In Persian)

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principles of protein dyebinding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Chandrasekar, D., K. Madhusudhana, S. Ramakrishna, and P.V. Diwan. 2006. Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: A sensitive screening method for polyherbal formulations. J. Pharm. Biomed. Anal. 40(2): 460-464.

Cheng, J., H. Qiu, Z. Chang, Z. Jiang, and W. Yin. 2016. The effect of cadmium on the growth and antioxidant response for freshwater algae Chlorella vulgaris. Springer Plus. 5: 1290. https://doi.org/10.1186/s40064-016-2963-1.

Davey, M.W, E. Stals, B. Panis, J. Keulemans, and R.L. Swennen. 2005. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. Anal Biochem. 347: 201–207

Didwania, N., S. Jain, and D. Sadana. 2019. *In vitro* phytotoxic effects of cadmium on morphological parameters of *Allium cepa*. J. Biol. Sci. 12(1): 37-41.

Ekmekçi, Y., D. Tanyolac, and B. Ayhan. 2008. Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. J. plant physiol. 165(6): 600-611.

Fattahi, B., K. Arzani, M.K. Souri, and M. Barzegar. 2019. Effects of cadmium and lead on seed germination, morphological traits, and essential oil composition of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Ind. Crop Prod. 138: 111584. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111584

Fusconi, A., C. Gallo, and W. Camusso. 2007. Effects of cadmium on root apical meristems of *Pisum sativum* L, cell viability, cell proliferation and microtubule pattern as suitable markers for assessment of stress pollution. Mutat. Res./Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 632: 9-19.

Ghabooli, M., B. Khatabi, F.S. Ahmadi, M. Sepehri, M. Mirzaei, A. Amirkhani, J.V. Jorrín-Novo, and G.H. Salekdeh. 2013. Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. J. Proteome. 94: 289-301.

Ghori, N.H., T. Ghori, M.Q. Hayat, S.R. Imadi, A. Gul, V. Altay, and M. Ozturk. 2019. Heavy metal stress and responses in plants. Int. J. Environ. Sci. Technol. 16(3), 1807-1828.

Gill, S.S., N.A. Khan, and N. Tuteja. 2012. Cadmium at high dose pertubs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium Sativum L*). J. Plant Sci, 182: 112-120.

Hajinia, S., M.J. Zarea, E. Mohammadi Goltapeh, and F. Rejali. 2011. Investigating the efficacy of endophytic fungus *Piriformospora indica* and Azospirillum strains on alleviation of detrimental effect of salt stress on wheat (*Triticum aestivum* cv. Sardari). Environ. Stress Crop Sci. 4(1): 21-31. (In Persian)

Hashemi, H., H. Oloumi, F. Rezanejad, and Kh. Kalantari. 2016. The effect of 24- Epibrassinolid on germination and tube growth of *in vitro Petunia hybrida* L. pollen under cadmium stress. J. Plant Res. 29(2): 451-460. (In Persian)

Hatamian, M., A. Rezaie Nejad, M. Kafi, MK. Souri, and K. Shahbazi. 2018. Interactions of Lead and Nitrate on growth characteristics of Ornamental Judas Tree (*Cercis siliquastrum*). Open Agric. 3: 386-392.

Hatamian, M., A. Rezaie Nejad, M. Kafi, MK. Souri, and K. Shahbazi. 2019. Growth characteristics of ornamental Judas tree (*Cercis siliquastrum* L.) seedling under different concentrations of lead and cadmium in irrigation water. Acta Sci.Pol-Hortoru. 18(2): 87-96.

He, Y., Z. Yang, M. Li, M. Jiang, F. Zhan, Y. Zu, T. Li, and Z. Zaho. 2017. Effects of a dark septate endophyte (DSE) on growth, cadmium content, and physiology in maize under cadmium stress. Environ Sci. Pollut. Res. 24(2):119.

Heidarpour, O., M.K. Souri, and R. Omidbaigi. 2013. Changes in content and constituents of essential oil in different plant parts of Lovage (*Levisticum officinale* Koch. Cv. Budakalaszi) cultivated in Iran. J. Essent. Oil Bear. Plant. 16(3):318-322.

Hui, F., J. Liu, Q. Gao, and B. Lou. 2015. *Piriformospora indica* confers cadmium tolerance in *Nicotiana tabacum*. J. Environ. Sci. 37: 184-191.

Hayat, S., Q. Hayat, M.N. Alyemeni, A.S. Wani, J. Pichtel, and A. Ahmad. 2012. Role of proline under changing environments. Plant Signal. Behav. 7 (11): 1456–1466.

Jaouani, K., I. Karmous, M. Ostrowski, E. El Ferjani, A. Jakubowska, and A. Chaoui. 2018. Cadmium effects on embryo growth of pea seeds during germination: Investigation of the mechanisms of interference of the heavy metal with protein mobilization-related factors. J. Plant Physiol. 226: 64-76.

Jisha, S., K.N. Anith, and K.K. Sabu. 2019. The protective role of *Piriformospora indica* colonization in *Centella asiatica* L. *in vitro* under phosphate stress. Biocatal. Agric. Biotechnol. 19:101088.

Jogawat, A., S. Saha, M. Bakshi, V. Dayaman, M. Kumar, M. Dua, A.Varma, R. Oelmüller, N. Tuteja, and Johri, A.K. 2013. *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. Plant Signal. Behav. 8 (10): 1559-2324.

Karami, A., and M.J. Zarea. 2014. Physiological and nutritional responses of inoculated Alfalfa (*Medicago sativa. cv hamedani*) with the fungus *Piriformospora indica* and bacterium *Azospirillum Spp* under salt stress.J. Crop Prod. 7 (1): 109-129. (In Persian)

Kavi Kishor, P.B., S. Sangam, R.N. Amrutha, P. Sri Laxmi, K.R. Naidu, S.S. Rao Sreenath, K. J. Reddy, P. Theriappan, and N. Sreenivasulu. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Curr. Sci. 88(3): 438-424.

Khan M.R., F.A. Mohiddin, M.N. Ejaz, and M.M. Khan. 2012. Management of root-knot disease in eggplant through the application of biocontrol fungi and dry neem leaves. Turk. J. Biol. 36: 161-169.

Khan, M.Y., V. Prakash, V. Yadav, D.K. Chauhan, S.M. Prasad, N. Ramawat, and S. Sharma. 2019. Regulation of cadmium toxicity in roots of tomato by indole acetic acid with special emphasis on reactive oxygen species production and their scavenging. Plant Physiol. Biochem. 142: 193-201.

Khatamipour, M., E. Piri, Y. Esmaeilian, and A. Tavassoli. 2011. Toxic effect of cadmium on germination, seedling growth and proline content of Milk thistle (*Silybum marianum*). Scholars Research Library. Ann. Biol. Res. 2 (5):527-532.

Khatib, M., M.H. Rashed Mohasel, A. Ganjali, and M. Lahouti. 2008. The Effects of different nickel concentration on some morpho-physiological characteristics of Parsley (*Petroselinum crispum*). Iran J. Field Crop Res. 2: 295-302. (In Persian)

Kochert, G. 1987. Carbohydrate determination by the phenolsulfuric acid method. In Helebus Cambrige Univ. Press, Cambridge.

Mac-Adam, J.W., C.J. Nelson, and R.E. Sharp. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. Plant Physiol. 99: 872-878.

Mohammadipour N., and M.K. Souri. 2019. Effects of different levels of glycine in the nutrient solution on the growth, nutrient composition and antioxidant activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.). Acta Agrobotan. 72(1):1-9.

Mousavi, S.A., M. Oveysi, and A. Iranbakhsh. 2017. The effects of lead and cadmium contamination on seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor L.*).Agron. Res. Semi Desert Reg. 14(3): 217-229. (In Persian)

Nakano, Y., and K. Asada. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydro ascorbate radical. Plant cell physiol. 28(1): 131-140.

Nouri, J., N. Khorasani, B. Lorestani, M. Karami, A.H. Hassani, and N. Yousefi. 2009. Accumulation of heavy metals in soil and uptake by plant species with phytoremediation potential. Environ. Earth Sci. 59(2): 315-323.

Paunov, M., L. Koleva, A. Vassilev, J. Vangronsveld, and V. Goltsev. 2018. Effects of different metals on photosynthesis: Cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat. Int. J. Mol. Sci, 19(3): 787.

Prince, W. S., P. Senthil Kumar, K. D. Doberschutz, and V. Subburam. 2002. Cadmium toxicity in mulberry plants with special reference to the nutritional quality of leaves. J. Plant Nutr. 25: 689 –700.

Sanchez-Vallet, A., J.R. Mesters, and B.P. Thomma. 2015. The battle for chitin recognition in plant-microbe interactions. FEMS. Microbial Rev. 39(2):171-183.

Shahabivand, S., A. Parvaneh, and A.A. Aliloo. 2018. The cadmium toxicity in *Helianthus annuus* can be modulated by endosymbiotic fungus (*Piriformospora indica*). J. Genet Resour, 4(1): 44-55.

Shahabivand, S., A. Parvaneh, and A.A. Aliloo. 2017. Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. Ecotoxicol. Environ. Saf. 145: 496-502.

Shahabivand, S., H. Zare-Maivan, E.M. Goltapeh, M. Sharifi, and A.A. Aliloo. 2012. The Effects of root endophyte and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and cadmium accumulation in wheat under cadmium toxicity. Plant Physiol. Biochem. 60: 53-58.

Siddhu, G., and M. A. Ali-Khan. 2012. Effects of cadmium on growth and metabolism of *Phaseolus mungo*. J. Environ. Biol. 33: 173-179.

Silinkard, K., and V.L. Singleton. 1977. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol Vitic, 28(1): 49-55.

Sirrenberg, A., C. Göbel, S. Grond, G. N. Czempinski, A. Ratzinger, P. Karlovsky, P. Santos, I. Feussner, and K. Pawlowski. 2007. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. Physiol. Plant. 131 (4): 581-589.

Souri, M.K., N. Alipanahi, M. Hatamian, M. Ahmadi, and T. Tesfamariam. 2018. Elemental Profile of Heavy Metals in Garden cress, Coriander, Lettuce and Spinach, Commonly Cultivated in Kahrizak, South of Tehran-Iran. Open Agric. 3(1): 32-37.

Souri, M.K., N. Alipanahi, and G. Tohidloo. 2016. Heavy metal content of some leafy vegetable crops grown with waste water in southern suburb of Tehran-Iran. Veg. Sci. 43(2):156-162.

Sun, C., J.M. Johnson, D. Cai, I. Sherameti, R. Oelmüller, and B. Lou. 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. J. Plant Physiol. 167: 1009-1017.

Taghizadeh, M., and E. Solgi. 2016. Evaluation of lead stress on seedling growth stages and establishment of Bermuda grass. J. Plant Ecol. Conser. 4(8) 65-65. (In Persian)

Tayel, A.A., M.M. Gharieb, H.R. Zaki, and N.M. Elguindy. 2016. Bio-clarification of water from heavy metals and microbial effluence using fungal chitosan. Int. J. Biol. Macro. 83: 277-281.

Vadassery, J., C. Ritter, Y. Venus, I. Camehl, A. Varma, B.Shahollari, O. Novák, and R. Oelmüller. 2008. The role of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between Arabidopsis and *Piriformospora indica*. Mol. Plant-Microbe Interact. 21(10): 1371-1383.

Varma, A., I. Sherameti, S. Tripathi, R. Prasad, A. Das, M. Sharma, and K. Rastogi. 2012. 13 The Symbiotic Fungus *Piriformospora indica*: Review. Pp 231-254. *In* B. Hock (ed.). Fungal Associations. Springer, Berlin, Heidelberg.

Varma A., S. Verma, N. Sahay, B. Butehorn, and P. Franken. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Appl. Environ. Microbiol. 65(6): 2741-2744.

Waller, F., B. Achatz, H. Baltruschat, J. Fodor, K. Becker, M. Fischer, T. Heier, R. Hückelhoven, C. Neumann, D. Von- Wettstein, and P. Franken. 2005. The Endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 102(38):13386-13391.

Wani P.A., M.S. Khan, and A. Zaidi. 2012. Toxic effects of heavy metals on germination and physiological processes of plants. Pp 45-66. *In* A. Zaidi, P. Wani, M. Khan (Eds). Toxicity of heavy metals to legumes and bioremediation. Springer, New York.

Weiss, M., M.A. Selosse, K.H. Rexer, A. Urban, and F. Oberwinkler. 2004. Sebacinales, a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. Mycol. Res. 108(9):1003-1010.

Xu, L., C. Wu, R. Oelmüller, and W. Zhang. 2018. Role of phytohormones in *Piriformospora indica*-induced growth promotion and stress tolerance in plants: more questions than answers. Fron. Microbiol. 9: 1646. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01646

Yadav, V., N. Arif, S. Singh, P.K. Srivastava, S. Sharma, D.K. Tripathi, **N. Dubey, and D.K. Chauhan**. 2016. Exogenous mineral regulation under heavy metal stress: Advances and prospects. Biochem. Pharmacol. 5(220): 2167-0501.

Yang, Y.Z., F. Zha, J.M. Zhang, S.Q. Dong, and J.Q. Zhu. 2012. Effects of *Pirformaspora indica* on cotton resistance to waterlogged stress. Adv. J. Food Sci. Technol. 4: 413-416.