



# بررسی نقش قارچ‌های آندوفیت جداسازی شده از گیاه ذرت در تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs)

زهرا قاسمی<sup>۱\*</sup>، سید یحیی صالحی لیسار<sup>۱</sup>، غلامرضا زرینی<sup>۲,۳</sup> و آنتینا انتظامی<sup>۱</sup>

۱ \* گروه زیست‌شناسی گیاهی، سلولی و مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲ - گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳- گروه پژوهشی بیوتکنولوژی میکروبی، مرکز تحقیقات علوم زیستی و بیوتکنولوژی (RCBB)، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌ها نشان داد که قارچ‌های آندوفیت جداسازی شده از گیاه ذرت توانایی بالایی در تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای دارند. تمامی نمونه‌ها کاهش قابل توجهی در میزان PAH باقی‌مانده نشان دادند، به طوری که درصد تجزیه در بازه ۱۵/۹۷ تا ۴۵/۹۹ درصد قرار داشت. این نتایج بیانگر کارایی بالا در حذف این ترکیبات پایدار از محیط کشت است. این نتایج با گزارش‌های پیشین مبنی بر توان بالای قارچ‌های آندوفیت در تجزیه ترکیبات آروماتیک پایدار همخوانی دارد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که قارچ‌های آندوفیت از طریق تولید آنزیم‌هایی مانند مونواکسیژنازها، دی‌اکسیژنازها و سیستم سیتوکروم P450 قادر به شکستن حلقه‌های آروماتیک PAHها هستند (Patel et al., 2020; Jha et al., 2023).

کد قارچ	تیمار شده با پیرن	تیمار شده با پیرن	اندام	درصد باقی‌مانده	درصد تجزیه
F1	تیمار شده با پیرن	تیمار شده با پیرن	اندام هوایی	1.17	98.8
F2	تیمار شده با پیرن	تیمار شده با پیرن	ریشه	1.916	98.08
F3	تیمار شده با پیرن	تیمار شده با پیرن	ریشه	2.63	97.37
F4	تیمار شده با پیرن	تیمار شده با پیرن	ریشه	2.85	97.15
F5	تیمار شده با پیرن	تیمار شده با پیرن	ریشه	5.73	99.27
F6	تیمار شده با پیرن	تیمار شده با پیرن	اندام هوایی	0.67	99.33
F7	تیمار شده با فنانترین	تیمار شده با فنانترین	اندام هوایی	0.55	99.45

جدول ۱- میزان تجزیه پیرن توسط قارچ‌های جدا شده از گیاهان ذرت شاهد و تیمار شده با PAH. غلظت اولیه پیرن در تمامی محیط‌ها ۷۵ میلی‌گرم در لیتر و فنانترین ۵۰ میلی‌گرم بود. در نمونه‌های تیمار شده با پیرن، اختلافی در میزان تجزیه بر اساس اندام گیاهی محل جداسازی قارچ‌ها مشاهده شد. قارچ جداسازی شده از اندام هوایی (F6) کمترین مقدار باقی‌مانده پیرن را با مقدار ۶۷/۰ mg/l نشان داد و بالاترین درصد تجزیه (۳۳/۹۹٪) را به خود اختصاص داد. در مقابل، قارچ‌های جداسازی شده از ریشه‌ها میزان باقی‌مانده بیشتری از پیرن را نشان دادند، به طوری که مقادیر باقی‌مانده در این گروه بین ۹۲/۱۶ تا ۸۵/۲ متغیر بود و درصد تجزیه آن‌ها اندکی کمتر از نمونه‌های اندام هوایی ثبت شد. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که محل جداسازی قارچ‌های آندوفیت (ریشه یا اندام هوایی) می‌تواند بر کارایی آن‌ها در تجزیه پیرن تأثیرگذار باشد. در نمونه تیمار شده با فنانترین (F7)، قارچ جداسازی شده از اندام هوایی بالاترین میزان تجزیه را با ۴۵/۹۹ درصد نشان داد و کمترین مقدار فنانترین باقی‌مانده (۵۵/۰) در این نمونه ثبت شد. این نتیجه نشان می‌دهد که قارچ‌های آندوفیت جداسازی شده از اندام‌های هوایی گیاه ذرت، به‌ویژه در مواجهه با فنانترین، از توان تجزیه بسیار بالایی برخوردارند.

در مطالعات مشابه، توانایی تجزیه PAHها توسط قارچ‌های آندوفیت گزارش شده است. به‌عنوان مثال Patel et al. (2020) و همکاران (Patel et al., 2020) نشان دادند که جداسازی قارچی قادر به حذف بیش از ۹۰ درصد PAHها در محیط‌های کشت آزمایشگاهی هستند. همچنین، Jha و همکاران (Jha, Kaur et al., 2023) دریافتند که قارچ‌های اندام هوایی به دلیل فعالیت آنزیمی بالاتر نسبت به جداسازی ریشه‌ای، کارایی بالاتری در تجزیه آلاینده‌ها دارند. یافته‌های این پژوهش با این نتایج همسو بوده و نشان می‌دهد که اختلاف عملکرد قارچ‌های اندام‌های مختلف، احتمالاً به تفاوت در شرایط میکروزیست محیطی و توان متابولیسی آن‌ها مربوط می‌شود. این مقایسه‌ها ضمن تأیید داده‌های تجربی حاضر، اهمیت انتخاب منبع اندام گیاهی مناسب برای جداسازی قارچ‌های آندوفیت در مطالعات زیست‌پالایی را برجسته می‌سازد.

### ۵. نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که قارچ‌های آندوفیت جداسازی شده از گیاه ذرت از توان تجزیه بسیار بالایی در برابر هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای برخوردارند. درصد تجزیه پیرن و فنانترین توسط جداسازی قارچی در شرایط آزمایشگاهی در بازه ۹۷.۱۵ تا ۹۹.۴۵ درصد قرار داشت. بیشترین میزان تجزیه پیرن (۹۹.۳۳ درصد) توسط قارچ جداسازی شده از اندام هوایی و کمترین مقدار باقی‌مانده آلاینده (۰.۶۷ میلی‌گرم در لیتر) ثبت شد. همچنین، قارچ آندوفیت جداسازی شده از اندام هوایی در مواجهه با فنانترین، بیشترین کارایی تجزیه معادل ۹۹.۴۵ درصد و کمترین غلظت باقی‌مانده (۰.۵۵ میلی‌گرم در لیتر) را نشان داد. به‌طور کلی، مقایسه نتایج عددی نشان داد که قارچ‌های جداسازی شده از اندام‌های هوایی نسبت به قارچ‌های ریشه‌ای، کارایی بالاتری در تجزیه PAHها دارند. این یافته‌ها پتانسیل بالای سامانه گیاه-قارچ ذرت را به‌عنوان یک رویکرد کمی، کارآمد و سازگار با محیط‌زیست برای زیست‌پالایی محیط‌های آلوده به PAHها تأیید می‌کند.

## منابع

کاشمی، ح (۱۳۸۴)، مورفولوژی و آناتومی غلات، دانشگاه تبریز."

Ailijiang, N., N. Zhong, X. Zhou, A. Mamat, J. Chang, S. Cao, Z. Hua and N. Li (2022). "Levels, sources, and risk assessment of PAHs residues in soil and plants in urban parks of Northwest China." *Scientific reports* 12(1): 21448.

Barathan, M., S. L. Ng, Y. Lokanathan, M. H. Ng and J. X. Law (2024). "Plant defense mechanisms against polycyclic aromatic hydrocarbon contamination: Insights into the role of extracellular vesicles." *Toxics* 12(9): 653.

Jha, P., T. Kaur, I. Chhabra, A. Panja, S. Paul, V. Kumar and T. Malik (2023). "Endophytic fungi: hidden treasure chest of antimicrobial metabolites interrelationship of endophytes and metabolites." *Frontiers in microbiology* 14: 1227830.

## چکیده

هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) از جمله آلاینده‌های آلی پایدار خاک هستند که به دلیل سمیت بالا، خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی، مخاطرات جدی برای سلامت انسان و امنیت غذایی ایجاد می‌کنند. تجمع این ترکیبات در خاک و انتقال آن‌ها به گیاهان زراعی، ضرورت توسعه روش‌های کارآمد و سازگار با محیط‌زیست برای حذف آن‌ها را افزایش داده است. در این مطالعه، توان تجزیه زیستی پیرن و فنانترین توسط قارچ‌های آندوفیت جداسازی شده از اندام‌های مختلف گیاه ذرت (*Zea mays L.*) مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان ذرت در بستر آلوده به PAH کشت داده شدند و قارچ‌های آندوفیت از ریشه و اندام‌های هوایی جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی مورفولوژیکی شدند. ارزیابی توان تجزیه نشان داد که تمامی جداسازی‌ها قادر به تجزیه مؤثر PAHها بودند و توان تجزیه آنها در بازه ۱۵/۹۷ تا ۴۵/۹۹ درصد قرار داشت. بیشترین میزان تجزیه مربوط به قارچ‌های جداسازی شده از اندام‌های هوایی بود که در مورد فنانترین، حداکثر تجزیه ۹۹.۴۵ درصد و کمترین مقدار باقی‌مانده آلاینده را نشان دادند. نتایج این پژوهش پتانسیل بالای قارچ‌های آندوفیت ذرت را برای کاربرد در زیست‌پالایی پایدار محیط‌های آلوده به PAHها تأیید می‌کند.

## مقدمه

هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs)، گروهی از آلاینده‌های آلی پایدار هستند و به علت دارا بودن ویژگی‌های سمی و توان جهش‌زایی و سرطان‌زایی، تهدیدی جدی برای سلامت انسان، جانوران و گیاهان محسوب می‌شوند (Patel, Shaikh et al., 2020). آلودگی خاک با PAHها یکی از چالش‌های عمده زیست‌محیطی است، زیرا بخش عمده این ترکیبات در خاک تجمع یافته و به راحتی تجزیه نمی‌شوند (Ailijiang, Zhong et al., 2022). این موضوع موجب افزایش خطر انتقال PAHها به زنجیره غذایی از طریق جذب توسط گیاهان و بروز بیماری در انسان می‌شود (Power, White et al., 2021). آنها پس از ورود به گیاه، در اندام‌های مختلف تجمع یافته و موجب بروز اختلالات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیسی می‌شوند. PAHها به‌عنوان یک تنش غیرزیستی، رشد و توسعه گیاه را مختل می‌کنند و با افزایش تنش اکسیداتیو و تغییر در بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش همراه هستند (Barathan, Ng et al., 2024).

گیاه ذرت (*Zea mays L.*) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی جهان، به‌طور بالقوه در معرض جذب و تجمع PAHها قرار دارد (کاشمی، ۱۳۸۴). تجمع این ترکیبات در بافت‌های ذرت می‌تواند پیامدهای جدی برای ایمنی غذایی و سلامت عمومی به همراه داشته باشد.

در سال‌های اخیر، پالایش زیستی به‌عنوان یکی از مؤثرترین روش‌ها برای حذف PAHها از محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است. قارچ‌های آندوفیت گروهی از میکروارگانیسم‌های همزیست گیاهی هستند که قادرند با تولید آنزیم‌هایی از جمله مونواکسیژنازها، دی‌اکسیژنازها و سیستم سیتوکروم P450، حلقه‌های بنزنی PAHها را بشکنند و این ترکیبات را به مواد کم‌ضرر یا بی‌ضرر تبدیل کنند. علاوه بر آن، همزیستی قارچ‌های آندوفیت با گیاهان می‌تواند از طریق افزایش فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی، بهبود فتوسنتز و تقویت متابولیسم انرژی، اثرات سمی PAHها را در گیاهان کاهش دهد (Jha, Kaur et al., 2023). بررسی نقش قارچ‌های آندوفیت در تجزیه PAHها در گیاه ذرت می‌تواند زمینه‌ساز توسعه راهکارهای نوین پالایش زیستی و ارتقای امنیت غذایی کشاورزی پایدار باشد که هدف این مطالعه می‌باشد.

Polycyclic aromatic hydrocarbon

## مواد و روش‌ها

پیرن و فنانترین با درجه خلوص بالا (Merck, Germany) به‌طور جداگانه در اتانول حل گردیدند و محلول‌هایی با غلظت نهایی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر تهیه شدند. محلول‌ها به پرلیت استریل افزوده و پس از تبخیر کامل اتانول، برای کشت گیاه ذرت استفاده شدند.

بذرهای ذرت تهیه‌شده از مرکز تحقیقات کشاورزی ایران (کرج) با هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی و در پرلیت استریل حاوی تیمارهای PAHs کشت شدند. گیاهچه‌ها در شرایط کنترل‌شده (دمای °C ۲۵-۳۰، چرخه نوری ۱۶/۸ ساعت و رطوبت نسبی ۶۰٪) رشد داده شدند. آبیاری هر دو روز یک‌بار انجام و محلول هوگلدن با غلظت ۵۰ و سپس ۱۰۰٪ به ترتیب در روزهای چهارم و دهم افزوده شد. پس از ۲۱ روز، گیاهان برداشت شدند. قارچ‌های آندوفیت از ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان شاهد و تیمار شده پس از استریل سطحی، کشت داده شدند. نمونه‌های گیاهی خردشده روی محیط‌های MEA یا PDMA حاوی آن‌تی‌بیوتیک کشت و به مدت ۵-۷ روز در دمای °C ۲۵-۲۸ انکوبه شدند. جداسازی خالص بر اساس ویژگی‌های کلنی و صفات مورفولوژیکی میکروسکوپی شناسایی شدند. کلنی‌های قارچی متمایز از نظر رنگ، بافت و سرعت رشد انتخاب و به‌صورت متوالی روی محیط تازه کشت داده شدند تا جداسازی خالص به‌دست آید. ویژگی‌های ریخت‌شناسی کلنی‌ها و ساختارهای میکروسکوپی قارچ‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و تهیه لام مرطوب بررسی شد. جداسازی قارچی در محیط نمک‌های معدنی (MSM) حاوی پیرن یا فنانترین (۱۶۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان تنها منبع کربن کشت داده شدند و به مدت ۱۰ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. PAHها از محیط کشت با استفاده از اتر نفت استخراج شدند. فاز آلی پس از خشک‌کردن با سولفات سدیم بدون آب و تبخیر حلال، در متانول با درجه HPLC حل شد.

نمونه‌ها پس از فیلتراسیون با فیلتر ۲۲/۰ μm با دستگاه HPLC مجهز به ستون C18 و آشکارساز UV در طول موج ۲۵۴ نانومتر آنالیز شدند. متانول به‌عنوان فاز متحرک با دبی یک میلی‌لیتر در دقیقه مورد استفاده قرار گرفت (Patel, Shaikh et al., 2020). داده‌ها پس از ثبت در نرم‌افزار Excel، با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ p ≤ انجام گرفت.