اثر غلظت‌های مختلف نیکل در محیط کشت بر رشد گیاه، انباشتگی نیکل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برخی گونه‌های *Pistacia*

سید مجید قادریان* و نجمه پاکدامن

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۸/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۰)

چکیده:

خاک‌های سرپنتین دارای غلظت‌های زیاد و سمی فلزات سنگین نظیر نیکل، کروم و کبالت می‌باشند. گروهی از گیاهان، مانند گونه *Pistacia atlantica*، با کسب سازش‌های خاص قادرند در این خاک‌ها رشد کنند. در تحقیق حاضر، رشد، انباشتگی نیکل و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گونه‌های سرپنتین *P. atlantica* و غیرسرپنتین *P. vera* و *P. khinjuk*، در پاسخ به افزایش غلظت نیکل در محیط کشت بررسی گردید. نتایج مربوط به تأثیر افزایش غلظت نیکل بر وزن خشک گیاهان، نشان دهنده تحمل بیشتر گونه سرپنتین *P. atlantica* در مقایسه با گونه‌های غیر سرپنتین *P.vera* و *P. khinjuk* بود. گونه‌های سرپنتین و غیرسرپنتین *Pistacia* با توجه به غلظت بیشتر نیکل در بخش‌های هوایی نسبت به ریشه‌ای جزء گیاهان سد کننده محسوب می‌شوند که با تجمع نیکل در ریشه‌ها، از انتقال آن به بخش هوایی تا حدودی جلوگیری می‌کنند. در این تحقیق، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گونه‌های سرپنتین و غیرسرپنتین *Pistacia* با افزایش غلظت نیکل در محیط افزایش یافت. فعالیت این آنزیم‌ها، احتمالاً به منظور حفظ سامانه فتوسنتزی در برابر تنش اکسیداتیو حاصل از غلظت‌های زیاد نیکل، در بخش‌های هوایی به مراتب بیشتر از بخش‌های ریشه‌ای بود. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی گونه سرپنتین *P. atlantica* در پاسخ به افزایش غلظت نیکل محیط، به طور متمایز بیش از گونه‌های غیرسرپنتین بود. بنابراین فعالیت این آنزیم ممکن است به عنوان یکی از عوامل مؤثر در افزایش تحمل گونه سرپنتین، در مقایسه با گونه‌های غیر سرپنتین، نسبت به افزایش غلظت نیکل محیط باشد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، نیکل، *Pistacia atlantica*، *Pistacia khinjuk*، *Pistacia vera*

مقدمه:

خاک‌های سرپنتین شامل مجموعه‌ای منحصر به فرد از شرایط پر تنش زیستی می‌باشند. از ویژگی‌های تنش‌زای خاک‌های سرپنتین می‌توان به نسبت پایین کلسیم به منیزیم (Ca/Mg)، ظرفیت محدود نگه‌داری آب، کمبود شدید عناصر ضروری مانند نیتروژن (N) و فسفر (P) و همچنین مقادیر زیاد فلزات سنگین اشاره کرد (Proctor, 1999; Carranza-Alvarez *et al.*, 2008; Bauge *et al.*, 2013). در میان فلزات سنگین نیکل (Ni) دارای جایگاه ویژه‌ای است. برخلاف کادمیم (Cd)، سرب (Pb)، جیوه (Hg)،

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ghaderian@sci.ui.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

نقره (Ag) و چندین فلز سنگین دیگر که جزء ترکیب آنزیم‌های گیاهی نمی‌باشند، نیکل در ساختار اوره‌آز نقش دارد و مقادیر کم نیکل (۰/۰۱ تا ۵ میکروگرم در هر گرم وزن خشک گیاه) برای برخی گونه‌های گیاهی ضروری است. از طرفی دیگر، نیکل همانند آهن، روی و مس در رشد و نمو گیاهان دخالت ندارد. با این حال، غلظت‌های بالای نیکل نیز مانند سایر فلزات سنگین برای گیاهان سمی می‌باشد (Seregin and Kozhevnikova, 2006; Valdez and Alexandrova, 2012).

سمیت نیکل به صورت عمومی و اختصاصی است. سمیت عمومی آن مشابه سمیت سایر فلزات سنگین می‌باشد و بر گستره‌ای از فرایندهای متابولیسمی گیاه تأثیر می‌گذارد (Maksymiec, 1997). از بارزترین اثرات سمی این فلزات می‌توان به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن اشاره نمود که در آسیب‌رسانی به غشاهای پلاسمایی، اسیدهای نوکلوئیک و رنگدانه‌های کلروپلاستی نقش بسزایی دارند (Fang and Kao, 2000; Tewari *et al.*, 2002; Juknys *et al.*, 2012; Agrawal *et al.*, 2013). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن ممکن است در نتیجه عدم تعادل بین تولید آن‌ها و فعالیت سامانه آنتی‌اکسیدان ایجاد شود. سامانه آنتی‌اکسیدان سلول شامل ترکیبات آنزیمی مانند کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) و همچنین ترکیبات غیرآنزیمی ازجمله گلوتاتیون و کارتنوئیدها می‌باشد (Srivastava *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2011). نیکل و سایر فلزات سنگین قادرند با دخالت در هموستازی عناصر ضروری (مانند عناصری که در ساختمان آنزیم‌ها شرکت می‌کنند) و اتصال به گروه‌های فعال پروتئینی (از جمله گروه سولفیدریل) بر عملکرد بسیاری از آنزیم‌ها تأثیر بگذارند (Seregin and Kozhevnikova, 2006; Mishra and Dubey, 2013). فلزات سنگین موجب کاهش میزان کلروفیل در برگ‌ها، کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاهان می‌شوند (Gajewska *et al.*, 2006; Gajewska and Skodowska, 2007; Ghasemi *et al.*, 2009; Pakdaman et al., 2013).

ویژگی اختصاصی سمیت نیکل، شامل مهار رشد ریشه‌های جانبی می‌باشد و از این جهت با سایر فلزات سنگین از جمله کبالت، مس، کادمیوم، روی و جیوه متفاوت است. جلوگیری از انشعاب ریشه توسط نیکل، احتمالاً ناشی از تجمع آن در آندودرم و دایره محیطیه و اختلال در تقسیم سلولی آنها می‌باشد (Seregin *et al.*, 2003; Seregin and Kozhevnikova, 2006).

خاک‌های سرپنتین عموماً تحت عنوان خاک‌هایی با تولید کم شناخته می‌شوند، زیرا شرایط نامساعد این خاک‌ها رشد گیاهان را به شدت تحت تأثیر قرار داده و محدود می‌کنند. گیاهان مقاوم موجود در خاک‌های سرپنتین، سازوکارهای مختلفی را جهت رویارویی با این شرایط نامساعد به کار می‌گیرند (Ghaderian and Baker, 2007). از جمله این سازوکارها می‌توان به افزایش سنتز ترکیبات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و همچنین کده‌بندی سلولی و زیر سلولی برای سمیت زدایی فلزات سنگین سمی اشاره نمود (Clements, 2001; Hall, 2002, Asemane *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2011). علاوه بر این، برخی گونه‌های گیاهی مقاوم با به کار گیری سازوکار سدکنندگی، جذب و/یا انتقال فلزات سنگین را از ریشه به بخش‌های هوایی محدود می‌کنند (Baker, 1981). گروهی دیگر از گیاهان، سازوکار بیش‌تجمع‌دهندگی را به کار می‌گیرند و فلزات سنگین را بیشتر در بخش‌های هوایی خود ذخیره می‌کنند (Baker, 1981).

خاک‌های سرپنتین در نواحی مختلفی از ایران، از جمله شهرستان آباده طشک واقع در استان فارس، گسترش یافته‌اند (فتاحی، ۱۳۸۴) و تا کنون مطالعات اندکی در مورد گیاهان و سازوکارهای مقاومتی آنها در این مناطق صورت گرفته است. گیاهان مربوط به جنس *Pistacia*، جزء معدود گیاهان درختی هستند که قادر به رویش در شرایط نامساعد خاک‌های سرپنتین می‌باشند (Ghaderian and Baker, 2007). این گیاهان از نظر اقتصادی اهمیت قابل توجهی دارند و سه گونه بنه، *P. atlantica* Desf.، پسته خوراکی، *P. vera* L. و خنجک، *P. khinjuk* Stocks، به طور طبیعی در ایران

Archive of SID

www.SID.ir

رشد می‌کنند (Farnoosh, *et al.*, 2008). لذا هدف از این تحقیق، بررسی اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر رشد گونه سرپنتین *P. atlantica* در مقایسه با گونه‌های غیرسرپنتین *P.vera* و *P. khinjuk*، به‌منظور ارزیابی دقیق پاسخ‌های گونه سرپنتین و تفسیر بهتر نتایج، بود. همچنین میزان انباشتگی نیکل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گیاهان مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها:

کشت گیاهان: بذرهای گونه *P. atlantica*، از جمعیت‌های روییده در خاک‌های سرپنتین آباده‌طشک (استان فارس) و بذرهای گونه‌های *P. khinjuk* و *P. vera* به ترتیب از مناطق غیرسرپنتین جندق (استان اصفهان) و رفسنجان (استان کرمان) جمع‌آوری شدند. برای جداسازی بذرهای پوک *P. atlantica* و *P. khinjuk*، تمامی بذرها در ظرف محتوی آب قرار داده شدند و سپس بذرهای پوک که روی سطح آب قرار می‌گرفتند از بذرهای سالم جدا شدند. پوسته‌های چرمی و چوبی بذرها جدا گردید و بذرها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ویتاواکس ۲ درصد، ضدعفونی شدند. داخل هر پتری‌دیش شیشه‌ای ۱۰ سانتی متری، ۴ عدد کاغذ صافی واتمن شماره ۱ قرار گرفت و اتوکلاو گردید. بذرهای ضدعفونی شده با محلول ویتاواکس، به همراه ۶ میلی‌لیتر آب مقطر به پتری‌دیش‌ها اضافه شدند. به صورتی که ۲ عدد کاغذ صافی زیر و ۲ عدد کاغذ صافی روی بذرها قرار گرفت. پس از ۴ الی ۵ روز، گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی ۹ سانتی متری حاوی مخلوطی از پرلیت ریز و درشت منتقل شدند. بذرهای گونه زراعی *P. vera* نیز بعد از جدا کردن پوسته چرمی، به مدت ۱۰ روز در دمای ۴° C و ۲ روز در آب قرار داده شدند و سپس به گلدان‌های حاوی پرلیت ریز و درشت، منتقل گشتند. گلدان‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی، در اتاق کشت قرار داده شدند. یک هفته بعد از کاشت بذرها، گیاهچه‌های حاصل به مدت ۲۸ روز با غلظت‌های مختلف نیکل (۰، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) در ۲۰٪ محلول غذایی پایه تغییر یافته هوگلند، تیماردهی شدند (Parker and Norvell, 1999).

غلظت‌های مختلف نیکل، با تغییر در غلظت نمک $NiSO_4.6H_2O$ به دست آمدند. محلول غذایی پایه تغییر یافته هوگلند (محلول کنترل فاقد نیکل) از ترکیبات شیمیایی زیر تشکیل شده بود (اعداد داخل پرانتز غلظت ماده مورد نظر را برحسب میلی‌مولار نشان می‌دهند):

$Ca(NO_3)_2.4H_2O$ (1.5), NH_4NO_3 (0.5), KNO_3 (1), KH_2PO_4 (0.02), H_3BO_3 (0.001), $MnSO_4.H_2O$ (0.0007), NaCl (0.1), NaOH (0.9), $MgSO_4.7H_2O$ (0.5), $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ (0.0001), $CuSO_4$ (0.0001), $ZnSO_4.7H_2O$ (0.0005), FeEDDHA (0.05).

pH محلول غذایی با اضافه کردن محلول ۱ مولار HCl یا NaOH به ۶ رسانده شد (Schat *et al.*, 1996) . قابل ذکر است که محلول‌های غذایی شاهد (فاقد نیکل) و تیمارهای حاوی نیکل، هر ۷ روز یک بار جایگزین شدند.

اندازه گیری وزن خشک گیاهان: پس از پایان تیماردهی، گیاهچه‌های موجود در هر گلدان برداشت شدند و بخش‌های هوایی و ریشه‌ای آنها جدا گردید. سپس به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند و وزن خشک آنها به صورت جداگانه برای هر غلظت و در همه تکرارها محاسبه گردید. میزان وزن خشک گیاه، به عنوان شاخص سمیت بعد از دوره تیمار در نظر گرفته شد.

تعیین تجمع نیکل: به منظور تعیین و اندازه‌گیری میزان تجمع نیکل در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گیاه، مواد خشک گیاهی در اسید نیتریک ۷۰٪ تجزیه گردید و سپس به مدت ۳ ساعت در حمام شنی با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، ۱ تا ۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۳۷٪ در دمای معمولی اتاق به آنها اضافه گردید و دوباره در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا این که محلول شفافی به دست آمد. حجم هر نمونه، با آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و غلظت

Archive of SID

www.SID.ir

نیکل موجود در این محلول‌ها، توسط دستگاه طیف سنج جذب اتمی (AAS, Shimadzu model 6200) تعیین گردید (Ghasemi *et al*., 2009).

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: برای بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان آسکوربات پروکسیداز و کاتالاز، بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گیاهان جدا گردید و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. ۰/۱ گرم از بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گیاهان در ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات حاوی PVP (polyvinylpolypyrrolidone)، توسط هاون‌های چینی ساییده شد تا به محلول کاملاً همگنی تبدیل گردد. قابل ذکر است که تمامی مراحل ذکر شده بر روی یخ انجام گرفت. سپس بافت‌های عصاره‌گیری شده به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ rpm و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، توسط دستگاه سانتریفیوژ Ependorf AG 5415D تحت نیروی گریز از مرکز قرار گرفتند. برای تعیین فعایت آنزیم کاتالاز، غلظت ۱۰ میلی‌مولار H_2O_2 در بافر واکنش (بافر فسفات سالین بدون PVP) تهیه شد (۱۱۵ میکرولیتر از H_2O_2 در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر واکنش). ۹۸۰ میکرولیتر از محلول واکنش با ۲۰ میکرولیتر عصاره گیاهی در داخل کووت ریخته شد و میزان جذب آنها در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر قرائت گردید. در ضمن ۹۸۰ میکرولیتر از محلول واکنش به همراه ۲۰ میکرولیتر آب مقطر برای تهیه بلانک مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که فعالیت یک واحد آنزیم کاتالاز براساس سرعت مصرف آب‌اکسیژنه در یک میکرومول در دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (Aebi, 1983).

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ، ابتدا ۱۰ میلی‌گرم BSA (bovine serum albomin) در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. سپس ۴۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد تا استوک ۵۰ میلی‌مولار آن تهیه شود. سپس برای تهیه محلول ۰/۵ میلی‌مولار آن، ۱۰۰ میلی‌لیتر از این استوک در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. محلول ۰/۲ میلی‌مولار EDTA، با ترکیب ۱۰ میکرولیتر از استوک ۰/۵ میلی‌مولار آن در ۲۵ میلی‌لیتر بافر واکنش (بافر فسفات سالین بدون PVP) به دست آمد و جهت تهیه محلول ۲۵۰ میلی‌مولار H_2O_2، ۲۸۰ میکرولیتر آن در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. سپس ۶۲۵ میکرولیتر بافر فسفات حاوی EDTA، ۱۷۵ میکرولیتر اسید آسکوربیک، ۵۰ میکرولیتر H_2O_2، ۵۰ میکرولیتر BSA و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی داخل کووت ریخته شد و جذب آنها در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر قرائت گردید. در ضمن برای تهیه بلانک، از ۶۲۵ میکرولیتر بافر فسفات حاوی EDTA، ۱۷۵ میکرولیتر اسید آسکوربیک، ۵۰ میکرولیتر H_2O_2، ۵۰ میکرولیتر BSA و ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استفاده شد. لازم به ذکر است که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس سرعت مصرف آسکوربات در یک میکرومول در دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (Nakano and Asada, 1981).

آنالیز آماری داده‌ها: برای هر یک از گونه‌های گیاهی *P. atlantica*، *P. vera* و *P. khinjuk* رشد یافته در محیط‌های کشت تغییر یافته هوگلند با غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۵، ۱ و یا ۱/۵ میلی‌مولار نیکل، سه تکرار در نظر گرفته شد. آنالیز آماری داده‌های مربوط به وزن خشک، غلظت نیکل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گیاهان، با استفاده از نرم افزار SPSS (PASW statistics 18) انجام گرفت. آنالیز واریانس یک راهه (ANOVA) برای بررسی تغییرات درون گونه‌ای وزن خشک گیاهان، مقادیر نیکل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بافت‌های هوایی و ریشه‌ای انجام شد. همچنین به منظور پی‌بردن به معنی‌دار بودن یا نبودن تفاوت میانگین‌ها، از آزمون Duncan استفاده گردید.

نتایج:

رشد گیاهان: شکل ۱، نتایج مربوط به اثر غلظت‌های مختلف نیکل (۰، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) را

Archive of SID

www.SID.ir

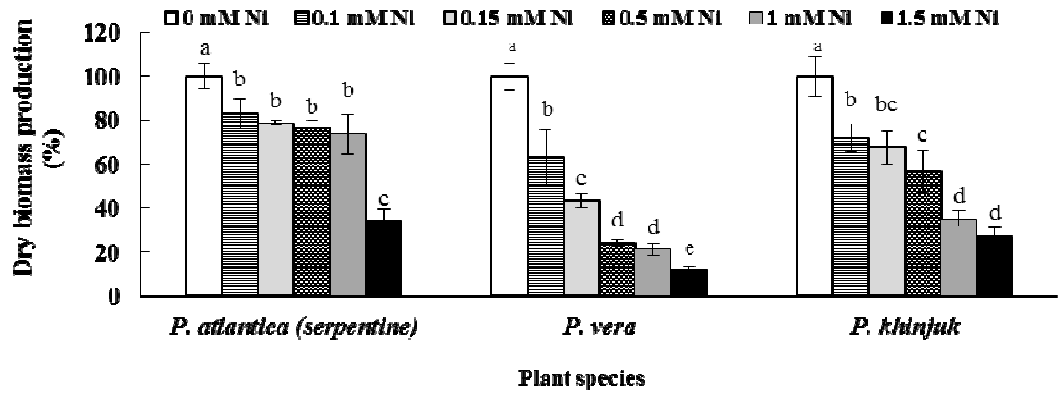
بر میزان وزن خشک نسبی (درصد) گونه‌های سرپنتین *P. atlantica* و غیرسرپنتین *P. vera* و *P. khinjuk*، نشان می‌دهد. وزن خشک نسبی گونه سرپنتین *P. atlantica* رشد یافته در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار نیکل نسبت به نمونه شاهد کمتر بود. با افزایش غلظت نیکل در محلول غذایی از ۰/۱ تا ۱ میلی‌مولار، هیچ تغییر معنی‌داری در وزن خشک نسبی *P. atlantica* مشاهده نشد، اما غلظت بالاتر نیکل (۱/۵ میلی‌مولار) وزن خشک نسبی این گونه را کاهش داد. پاسخ گونه‌های غیر سرپنتین در این شرایط متفاوت بود. وزن خشک گونه *P.vera* رشد یافته تحت تیمارهای مختلف نیکل، نسبت به نمونه شاهد کمتر بود (شکل ۱). با افزایش غلظت نیکل از ۰/۱ به ۰/۱۵ و یا از ۰/۱۵ به ۰/۵ میلی‌مولار، وزن خشک نسبی گیاهان این گونه، به طور معنی‌داری کاهش یافت، اما تفاوتی بین تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار نیکل مشاهده نشد. چنانچه غلظت نیکل در محیط از ۱ به ۱/۵ میلی‌مولار رسید، رشد گیاهان به طور معنی‌دار کاهش یافت. در مورد گونه *P. khinjuk* نیز، همانند دو گونه قبلی، گیاهانی که در محیط کشت بدون نیکل رشد کردند، بیشترین وزن خشک نسبی را داشتند (شکل ۱). افزایش غلظت نیکل از ۰/۱ به ۰/۵ و از ۰/۵ به ۱/۵ میلی‌مولار در محلول غذایی، رشد نسبی این گیاهان را به طور معنی‌داری کاهش داد. تفاوتی میان وزن خشک گیاهان رشد یافته در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۱۵، ۰/۱۵ و ۰/۵، و همچنین ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار نیکل مشاهده نشد.

تجمع نیکل: غلظت‌های مختلف نیکل در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گونه‌های *P. atlantica* (سرپنتین)، *P. vera* و *P. khinjuk* (غیرسرپنتین) که تحت تیمار غلظت‌های مختلف نیکل در محیط کشت قرار گرفته بودند، در شکل ۲ نشان داده شده است. همان گونه که نتایج در شکل ۲a نشان می‌دهند، غلظت نیکل در بخش هوایی گیاهان شاهد، ناچیز بود ($۵-۵۰\mu g.g\ dw^{-1}$) و با افزودن نیکل به محیط کشت، غلظت آن به طور معنی‌داری در بافت‌های گیاهی زیاد شد. با افزایش غلظت نیکل از ۰/۱ به ۰/۱۵ میلی‌مولار در محیط کشت، تغییر معنی‌داری در غلظت این عنصر در بخش هوایی گونه سرپنتین *P. atlantica* مشاهده نشد، اما چنانچه غلظت آن در محیط به ۰/۵ میلی‌مولار رسید، غلظت آن در بخش هوایی نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۲a). تغییر تیمار نیکل از ۰/۵ به ۱ میلی‌مولار، تأثیر معنی‌داری بر غلظت آن در بخش هوایی گونه سرپنتین نداشت. با افزایش غلظت نیکل از ۱ به ۱/۵ میلی‌مولار در محیط، غلظت آن در بخش هوایی این گونه حدود ۲/۵ برابر افزایش یافت. گونه غیرسرپنتین *P. vera* نسبت به گونه سرپنتین، نیکل کمتری را در بخش هوایی خود تجمع داد (شکل ۲a). افزایش غلظت نیکل در محیط کشت از ۰/۱ به ۰/۵ و از ۰/۵ به ۱/۵ میلی‌مولار با افزایش غلظت آن در بخش هوایی گیاهان گونه *P. vera* همراه بود (شکل ۲a). نتایج نشان دادند که در مورد این گونه، تفاوت معنی‌داری بین ۰/۱ و ۰/۱۵ و همچنین بین ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار نیکل در محیط کشت وجود نداشت. غلظت نیکل در بخش‌های هوایی گیاهان گونه *P. khinjuk*، نسبت به دو گونه دیگر، به ویژه در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار آن در محیط کشت، بیشتر بود (شکل ۲a). غلظت نیکل در بخش هوایی این گونه با افزایش تیمار آن در محیط کشت از ۰/۱ به ۰/۵، ۰/۵ به ۱ و از ۱ به ۱/۵ میلی‌مولار، به طور معنی‌داری افزایش یافت. تفاوتی میان نتایج حاصل از تیمارهای ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌مولار نیکل در گونه *P. khinjuk* مشاهده نشد.

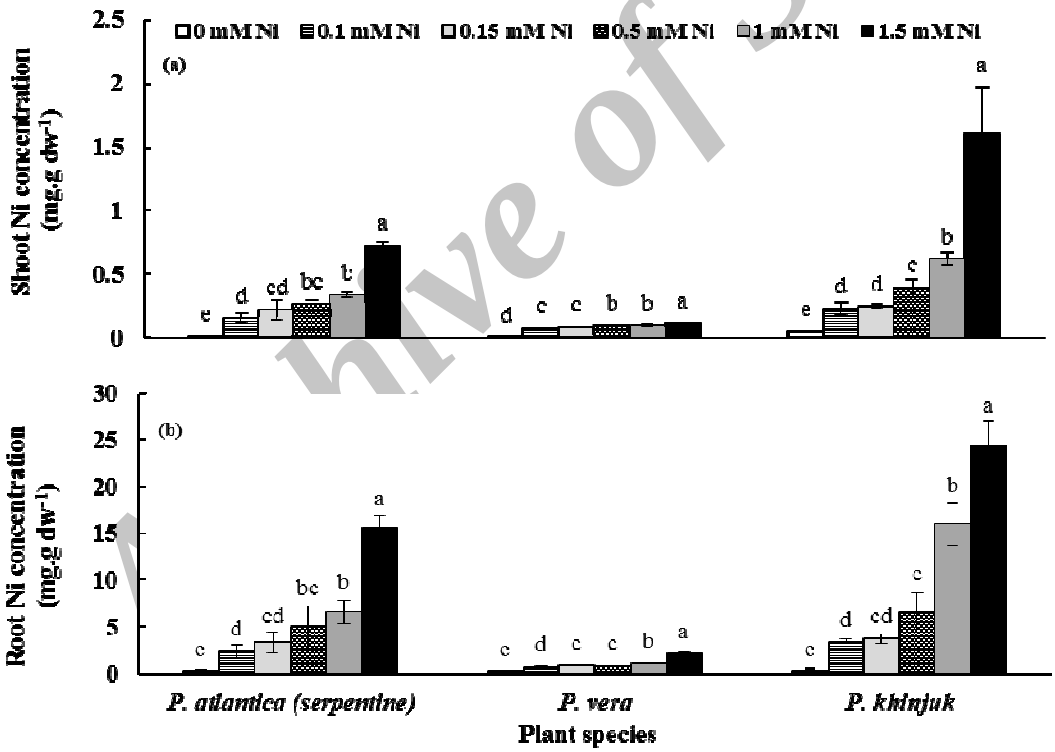
همان گونه که نتایج در شکل ۲b نشان می‌دهند، غلظت نیکل تجمع یافته در ریشه‌های گونه‌های مختلف سرپنتین و غیرسرپنتین، حدود ۱۰ برابر بیشتر از بخش‌های هوایی بود. تیمار نیکل در تمامی گونه‌های مورد مطالعه موجب افزایش تجمع نیکل در ریشه‌ها شد. غلظت نیکل در بخش‌های ریشه‌ای گونه سرپنتین *P. atlantica*، با افزایش غلظت آن در محیط کشت از ۰/۱ به ۰/۵ و از ۰/۵ به ۱/۵ میلی‌مولار، به طور معنی‌دار افزایش یافت (شکل ۲b). تغییر غلظت نیکل از ۰/۱ به ۰/۱۵، ۰/۱۵ به ۰/۵ و همچنین از ۰/۵ به ۱

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱- تأثیر افزایش غلظت نیکل در محلول غذایی بر وزن‌خشک نسبی (به صورت درصدی از حداکثر رشد) گونه‌های سرپنتین *P. atlantica* و غیرسرپنتین *P. vera* و *P. khinjuk* مقادیر، میانگین وزن خشک نسبی سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمار بر میزان وزن خشک نسبی گیاهان، به صورت درون گونه‌ای، با استفاده از آزمون Duncan می‌باشند ($P<0.05$).



نمودار ۲- تغییر در غلظت نیکل در بخش‌های هوایی *(a)* و ریشه‌ای *(b)* گونه‌های سرپنتین *P. atlantica* و غیرسرپنتین *P. atlantica* *P. khinjuk* و *P. vera* در پاسخ به افزایش غلظت نیکل (از ۰ تا ۱/۵ میلی‌مولار) در محیط کشت. مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمار بر میانگین غلظت نیکل، به صورت درون گونه‌ای، با استفاده از آزمون Duncan می‌باشند ($P<0.05$).

میلی‌مولار در محیط کشت، تأثیر معنی‌داری بر تجمع این عنصر در بخش ریشه‌ای گونه سرپنتین نداشت. غلظت نیکل تجمع یافته در ریشه گیاهان غیرسرپنتین گونه *P. vera* نسبت به دو گونه دیگر *P. atlantica* (سرپنتین) و *P.*

Archive of SID

www.SID.ir

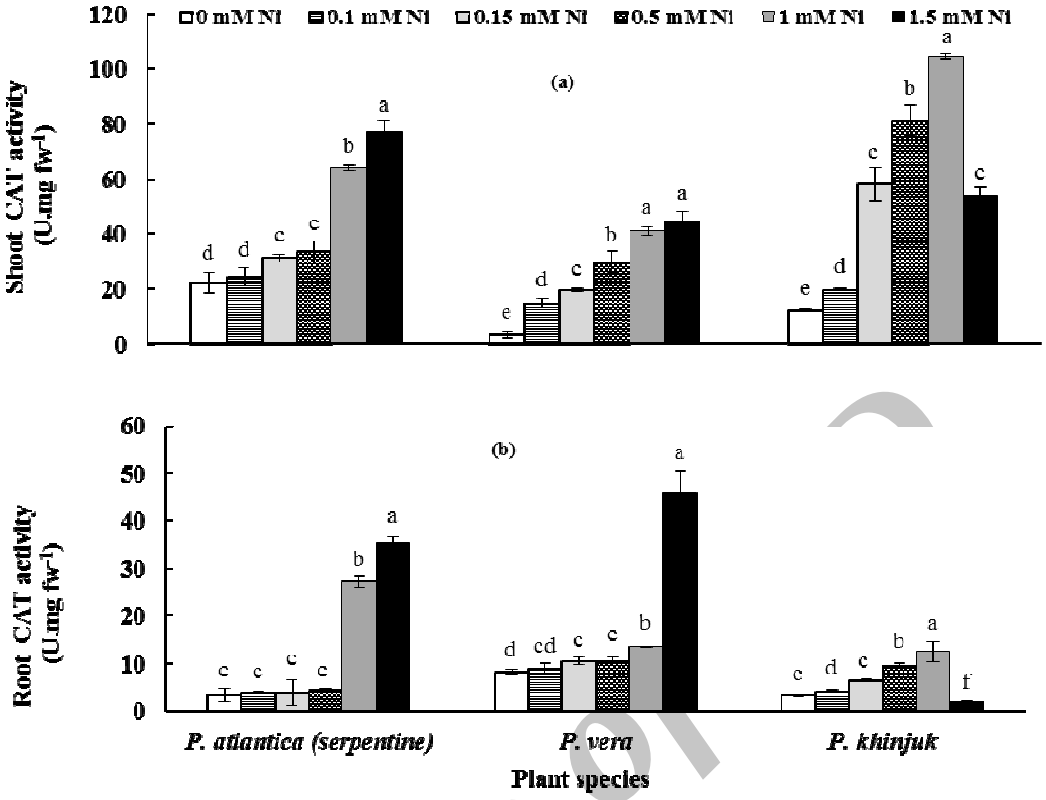
khinjuk (غیرسرپنتین)، به ویژه در غلظت‌های بالای نیکل در محیط کشت، کمتر بود (شکل ۲b). همان گونه که نتایج نشان می‌دهند، افزایش غلظت نیکل در محیط کشت از ۰/۱ به ۰/۱۵، ۰/۱۵ به ۱ و همچنین از ۱ به ۱/۵ میلی‌مولار موجب افزایش انباشتگی (غلظت) نیکل در ریشه‌های گونه *P. vera* شد. تفاوت معنی‌داری میان نتایج حاصل از تیمارهای ۰/۱۵ و ۰/۵ میلی‌مولار نیکل در این گونه وجود نداشت (شکل ۲b). تجمع نیکل در بخش ریشه‌ای گونه غیرسرپنتین *P. khinjuk*، نسبت به دو گونه سرپنتین *P. atlantica* و غیرسرپنتین *P. vera*، به ویژه در غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار نیکل در محیط کشت، به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر بود (شکل ۲b). افزایش غلظت نیکل در محیط از ۰/۱۵ تا ۱/۵ میلی‌مولار موجب افزایش تجمع آن در ریشه‌های گیاهان گونه *P. khinjuk* شد (شکل ۲b). تفاوت معنی‌داری میان نتایج مربوط به تیمارهای ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌مولار نیکل در محیط کشت مشاهده نشد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گونه‌های سرپنتین *P. atlantica* و غیر سرپنتین *P. vera* و *P. khinjuk* رشد یافته در محیط‌های کشت دارای غلظت‌های مختلف نیکل در شکل ۳ نشان داده شده است. همان گونه که نتایج نشان می‌دهند، تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های هوایی گونه سرپنتین *P. atlantica* در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار نیکل نسبت به نمونه شاهد مشاهده نشد (شکل ۳a). با افزایش غلظت نیکل در محیط کشت از ۰/۱ به ۰/۱۵ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های هوایی گونه سرپنتین افزایش یافت، اما تفاوت معنی‌داری میان نتایج حاصل از تیمارهای ۰/۱۵ و ۰/۵ میلی‌مولار نیکل در محیط کشت وجود نداشت. فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش هوایی گونه مزبور با افزایش غلظت نیکل از ۱/۵–۰/۵ میلی‌مولار در محیط کشت، به طور معنی‌دار افزایش یافت (شکل ۳a). در گونه *P. vera* مشاهده شد که تیمار نیکل در محیط کشت موجب افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز در بخش‌های هوایی می‌شود (شکل ۳a). همان طور که نتایج نشان می‌دهند، فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های هوایی این گونه زراعی با افزایش غلظت نیکل از ۱–۰/۱۵ میلی‌مولار در محیط کشت، افزایش یافت. تغییر غلظت نیکل در محیط کشت از ۱ به ۱/۵ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری بر فعالیت کاتالاز در بخش‌های هوایی گونه مزبور نداشت (شکل ۳a). افزایش غلظت نیکل از ۱–۰ میلی‌مولار در محیط با افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های هوایی گونه‌های غیر سرپنتین *P. vera* و *P. khinjuk* همراه بود (شکل ۳a). چنانچه غلظت نیکل در محیط از ۱ به ۱/۵ میلی‌مولار افزایش یافت، فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش هوایی گونه *P. vera* تغییر معنی‌داری نکرد اما در گونه *P. khinjuk* کاهش یافت. در مورد گونه غیرسرپنتین *P. khinjuk*، تفاوت معنی‌داری میان فعالیت کاتالاز در بخش‌های هوایی گیاهانی که با ۰/۱۵ و یا ۱/۵ میلی‌مولار نیکل تیمار شده بودند، مشاهده نشد (شکل ۳a).

همان گونه که نتایج در شکل ۳ نشان می‌دهند، فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های هوایی گونه‌های مختلف تحت تیمار نیکل تقریباً دو برابر بخش‌های ریشه‌ای بود. افزایش غلظت نیکل در محیط کشت از ۰/۵–۰ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های ریشه‌ای گونه سرپنتین *P. atlantica* نداشت. چنانچه غلظت نیکل از ۱/۵–۰/۵ میلی‌مولار در محیط افزایش یافت، فعالیت کاتالاز نیز در بخش‌های ریشه‌ای گونه مزبور زیاد شد (شکل ۳b). در گونه *P. vera* مشاهده شد که فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه‌ها با افزایش غلظت نیکل از ۰ به ۰/۱ و یا از ۰/۱ به ۰/۱۵ میلی‌مولار در محیط، تغییر معنی‌داری نکرد (شکل ۳b). چنانچه غلظت نیکل در محیط کشت از ۰ به ۰/۱۵ رسید، فعالیت این آنزیم افزایش یافت. تفاوت معنی‌داری میان نتایج حاصل از تیمارهای ۰/۱۵ و ۰/۵ میلی‌مولار نیکل مشاهده نشد، اما فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های ریشه‌ای *P.vera* با افزایش غلظت نیکل در

Archive of SID

www.SID.ir



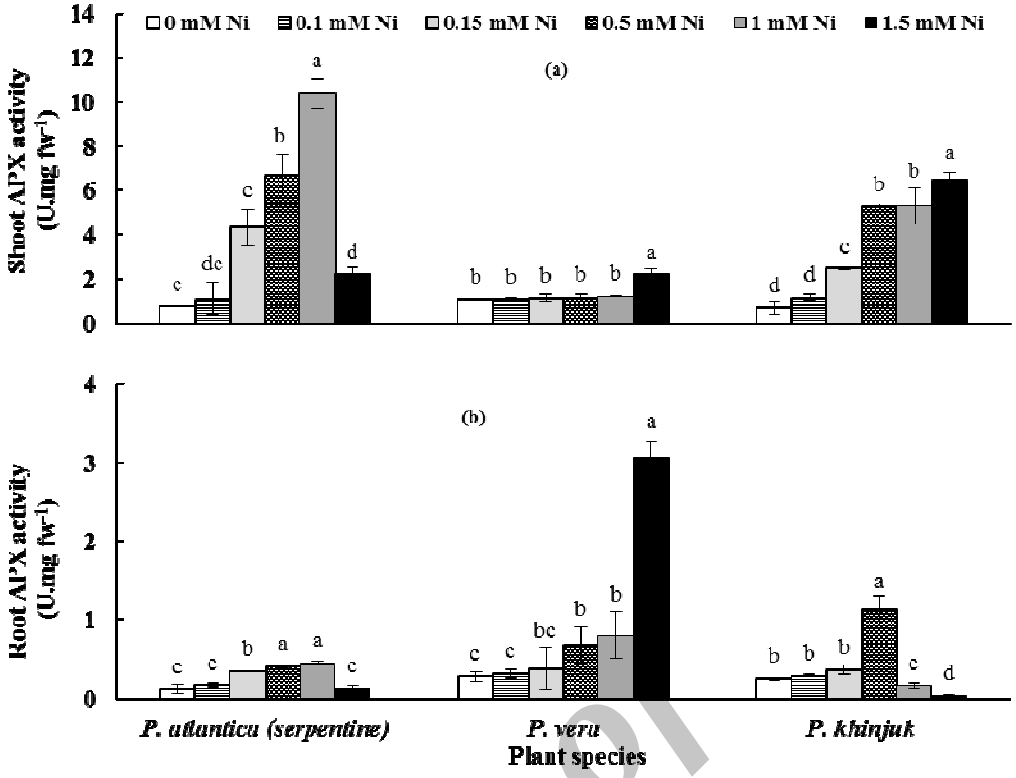
نمودار ۳- تغییر در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز *(CAT)* در بخش‌های هوایی *(a)* و ریشه‌ای *(b)* گونه‌های سرپنتین *P. atlantica* و غیرسرپنتین *P. khinjuk* و *P. vera* در پاسخ به افزایش غلظت نیکل (از ۰ تا ۱/۵ میلی‌مولار) در محیط کشت. مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمار بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، به صورت درون گونه‌ای، با استفاده از آزمون Duncan می‌باشند (P<0.05).

محیط کشت از ۰/۵ به ۱/۵ میلی‌مولار، بیشتر شد. همان گونه که نتایج در شکل ۳b نشان می‌دهند، تأثیر غلظت‌های زیاد نیکل (۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) در محیط بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های ریشه‌ای گونه *P. khinjuk* کمتر از دو گونه دیگر بود. در گیاهان گونه *P. khinjuk* مشاهده گردید که افزایش غلظت نیکل در محیط کشت از ۱-۰ میلی‌مولار موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه‌ها شد. چنانچه غلظت نیکل در محیط از ۱ به ۱/۵ رسید، فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه‌های این گونه حدود ۷ برابر کاهش یافت و حتی به مقادیری کمتر از نمونه شاهد رسید.

آنزیم آنتی‌اکسیدان دیگری که در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفت، آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود. فعالیت این آنزیم در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گونه‌های سرپنتین و غیرسرپنتین رشد کرده در محیط‌های دارای غلظت‌های مختلف نیکل، در شکل ۴ نشان داده شده است. همان گونه که نتایج نشان می‌دهند فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی گیاهان به مراتب بیشتر از بخش‌های ریشه‌ای بود. در گونه سرپنتین *P. atlantica* مشاهده شد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی در شرایط ۰/۱ میلی‌مولار نیکل تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت (شکل ۴a). افزایش غلظت نیکل از ۱-۰/۱ میلی‌مولار در محیط کشت با افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی این گونه همراه بود. مشاهده شد که فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدان در بخش‌های هوایی گونه *P. atlantica* در بالاترین غلظت (۱/۵ میلی‌مولار) نیکل در محیط کمتر

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۴- تغییر در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز *(APX)* در بخش‌های هوایی *(a)* و ریشه‌ای *(b)* گونه‌های سرپنتین *P. atlantica* و غیرسرپنتین *P. khinjuk* و *P. vera* در پاسخ به افزایش غلظت نیکل (از ۰ تا ۱/۵ میلی‌مولار) در محیط کشت. مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمار بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، به صورت درون گونه‌ای، با استفاده از آزمون Duncan می‌باشند ($P<0.05$).

از غلظت‌های ۱-۰/۱۵ میلی‌مولار آن بود. به گونه‌ای که تفاوت معنی‌داری میان فعالیت این آنزیم در غلظت ۱/۵ و ۰/۱ مشاهده نشد (شکل ۴a). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی گیاهان گونه *P. vera* با افزایش غلظت نیکل از ۱-۰ میلی‌مولار در محیط، تغییر معنی‌داری نکرد (شکل ۴a). حداکثر فعالیت این آنزیم در بخش‌های هوایی گونه مزبور در بیشترین غلظت، یعنی غلظت ۱/۵ میلی‌مولار، نیکل مشاهده شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی گونه غیرسرپنتین *P. khinjuk* در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار نیکل نسبت به نمونه شاهد، تغییر معنی‌داری نکرد (شکل ۴a). با افزایش غلظت نیکل در محیط از ۱/۵-۰/۱ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی گونه مزبور افزایش یافت. لازم به ذکر است که تفاوت معنی‌داری میان فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدان در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار نیکل مشاهده نشد.

همان گونه که نتایج در شکل ۴b نشان می‌دهند، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های ریشه‌ای گونه سرپنتین *P. atlantica* در نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری با غلظت ۰/۱ و ۱/۵ میلی‌مولار نیکل در محیط کشت نداشت. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های ریشه‌ای گونه مزبور با افزایش غلظت نیکل از ۰/۵-۰/۱ میلی‌مولار در محیط افزایش یافت، اما تفاوتی میان نتایج حاصل از تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار نیکل وجود نداشت (شکل ۴b). افزایش غلظت نیکل از ۰/۱۵-۰ میلی‌مولار در محیط کشت، تغییر معنی‌داری در فعالیت

Archive of SID

www.SID.ir

آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های ریشه‌ای گونه *P. vera*، ایجاد نکرد (شکل 4b). چنانچه این غلظت از ۰/۱ به ۰/۵ میلی‌مولار افزایش یافت، فعالیت آنزیم مزبور نیز زیاد شد، اما تفاوتی میان نتایج حاصل از تیمارهای ۰/۱ و ۰/۱۵ و همچنین ۰/۱۵ و ۰/۵ میلی‌مولار نیکل وجود نداشت. افزایش غلظت نیکل از ۱ به ۱/۵ میلی‌مولار موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه‌های گونه *P. vera* شد، اما تفاوتی میان غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار وجود نداشت. حداکثر فعالیت (حدود $1\ U.mg\ fw^{-1}$) آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های ریشه‌ای گونه *P. Khinjuk*، در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار نیکل مشاهده شد (شکل 4b). افزایش غلظت نیکل در محیط کشت از ۰/۱۵– ۰، تغییر معنی‌داری را در فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدان به دنبال نداشت. چنانچه غلظت نیکل در محیط از ۱/۵–۰/۵ میلی‌مولار کاهش یافت، فعالیت این آنزیم به طور معنی‌داری کم شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های ریشه‌ای گونه *P. khinjuk* در غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار نیکل کمتر از غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار آن بود (شکل 4b).

بحث:

غلظت زیاد نیکل در خاک‌های سرپنتین، یکی از تنش‌های اساسی برای رشد گیاهان در این مناطق به شمار می‌رود (Proctor, 1999, Kazakou *et al.*, 2010). با این وجود، جمعیت‌های گیاهی روییده در خاک‌های سرپنتین، سازگاری‌های متعددی برای رویارویی با این تنش محیطی کسب نموده‌اند (Ghasemi *et al.*, 2009; Kazakou *et al.*, 2010). گیاه *P. atlantica* از معدود گیاهان درختی است که قادر به رویش در خاک‌های سرپنتین و بنابراین تحمل غلظت‌های بالای نیکل در این مناطق می‌باشد (Ghaderian and Baker, 2007). پاسخ رشد گونه سرپنتین *P. atlantica* به افزایش غلظت نیکل محیط در تحقیق حاضر، نشان دهنده تحمل بیشتر گیاهان سرپنتین نسبت به گیاهان غیرسرپنتین (*P. vera* و *P. khinjuk*) می‌باشد. نظیر چنین نتایجی، مبنی بر مقاومت بالای گونه‌های سرپنتین در مقایسه با گونه‌های غیرسرپنتین، در گذشته نیز توسط برخی پژوهش‌گران گزارش شده است (e.g. Asemaneh *et al.*, 2006; Kazakou *et al.*, 2010; Juknys *et al.*, 2012).

نتایج مربوط به جذب اتمی نیکل در بافت‌های گیاهی نشان دادند که غلظت نیکل در بخش‌های ریشه‌ای تمامی گونه‌های مورد مطالعه حدود ۱۰ برابر بیشتر از بخش‌های هوایی بود. بنابراین مطابق با تعریفی که توسط Baker (۱۹۸۱) ارائه شد، گونه‌های *Pistacia* جزء گیاهان سد کننده هستند که انتقال فلزات سنگین را از ریشه به بخش‌های هوایی محدود می‌کنند. در این تحقیق مشخص گردید که گونه *P. vera* (پسته خوراکی)، یک سد کننده قوی نیکل می‌باشد، به طوری که غلظت نیکل در بخش‌های هوایی و حتی ریشه‌ای آن بسیار کمتر از دو گونه دیگر (*P. atlantica* و *P. khinjuk*) بود. این مطلب با توجه به اهمیت خوراکی و اقتصادی میوه این گونه زراعی بسیار حائز اهمیت است.

با توجه به این که غلظت نیکل در بافت‌های هوایی گونه سرپنین *P. atlantica*، به طور محسوسی کمتر از گونه‌های غیرسرپنتین *P. vera* و *P. khinjuk* نبود، تصور می‌شود که سازوکارهای سمیت زدایی در افزایش تحمل گونه سرپنتین، نسبت به غلظت‌های زیاد نیکل در محیط، دخالت داشته باشند. در مطالعات گذشته، تنش اکسیداتیو به عنوان مهم‌ترین اثر سمی فلزات سنگین معرفی شده است (Tamas *et al.*, 2008; Radwan *et al.*, 2010 Agrawal *et al.*, 2013). نیکل از جمله فلزاتی است که از طریق تداخل با واکنش‌های فتوسنتزی موجب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در سلول می‌شود (Sharma and Dietz, 2009). تنش اکسیداتیو در بافت‌های گیاهی توسط یک سامانه آنتی‌اکسیدان، کنترل می‌شود. این سامانه شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، از جمله کاتالاز و پراکسیداز، و همچنین ترکیبات غیرآنزیمی

Archive of SID

www.SID.ir

با وزن مولکولی کم، مانند آسکوربات، می‌باشد (Gajewska *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2011). در این تحقیق نیز مشخص گردید که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گونه‌های *Pistacia* رابطه نسبتاً مستقیمی با غلظت نیکل در محیط دارد. همچنین فعالیت این آنزیم‌ها در بافت‌های هوایی به مراتب بیش از بافت‌های ریشه‌ای بود، که احتمالاً به منظور حفاظت سازوکارهای فتوسنتزی در برابر استرس اکسیداتیو می‌باشد (Sharma and Dietz, 2009). فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش‌های هوایی گونه سرپنتین *P. atlantica* تفاوت زیادی با گونه‌های غیرسرپنتین (*P. vera* و *P. khinjuk*) نداشت. بنابراین آنزیم کاتالاز، ضمن این که در سمیت زدایی نیکل در تمامی گونه‌های *Pistacia* نقش داشت، مسئول تحمل بیشتر گونه سرپنتین، نسبت به گونه‌های غیر سرپنتین، در برابر غلظت‌های زیاد نیکل نمی‌باشد. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های هوایی گونه سرپنتین *P. atlantica* در پاسخ به افزایش غلظت نیکل در محیط کشت، به ترتیب حدود ۶ و ۱/۵ برابر بیشتر از گونه‌های غیرسرپنتین *P. vera* و *P. khinjuk* بود. بنابراین آنزیم آسکوربات پراکسیداز از جمله آنزیم‌هایی است که می‌تواند در سمیت زدایی نیکل و افزایش تحمل گونه سرپنتین، در مقایسه با گونه‌های غیرسرپنتین، نقش داشته باشد.

فلزات سنگین، ضمن افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، با مهار فعالیت سامانه آنتی‌اکسیدان موجب تشدید استرس اکسیداتیو در سلول می‌شوند. در واقع فلزات سنگین ممکن است با اتصال به گروه سولفیدریل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از عملکرد آنها ممانعت کنند (Valko *et al*., 2005; Sharma and Dietz, 2009). در این تحقیق نیز مشاهده شد که در گونه‌های *P.atlantica* و یا *P. khinjuk*، غلظت‌های بالای نیکل (≤۱ میلی‌مولار) ممکن است از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و یا آسکوربات پراکسیداز به شدت ممانعت کنند.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان به‌واسطه حمایت مالی از این پروژه و نیز آقای دکتر رسول قاسمی به‌دلیل کمک‌های ارزنده در انجام آنالیزهای جذب اتمی تشکر و قدردانی می‌شود."

منابع:

فتاحی، ه. (۱۳۸۴) بررسی میزان عناصر نیکل، کروم و کبالت در گیاهان سرپنتین نواحی آباده طشک، استان فارس. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

Aebi, H. (1983) Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Agrawal, B., Czymmek, K. J., Sparks, D. L. and Bais, H. P. (2013) Transient influx of nickel in root mitochondria modulates organic acid and reactive oxygen species production in nickel hyperaccumulator *Alyssum murale*. Journal of Biological Chemistry 288: 7351-7362.

Asemaneh, T., Ghaderian, S. M., Crawford, S. A., Marshal, A. T. and Baker, A. J. M. (2006) Cellular and subcellular compartmentation of Ni in the Eurasian serpentine plants *Alyssum bracteatum*, *Alyssum murale* (Brassicaceae) and *Cleome heratensis* (Capparaceae). Planta 225: 193-202.

Baker, A. J. M. (1981) Accumulators and excluders strategies in the response to heavy metals. Journal of Plant Nutrition 3: 643-654.

Bauge, S. M., Lavkulich, L. M. and Schreier, H. E. (2013) Phosphorous and trace metals in serpentine-affected soils of the Sumas Basin, British Columbia. Canadian Journal of Soil Science 93: 359-367.

Carranza-Alvarez, C., Alonso-Castro, A. J., Alfaro-De La Torre, M. C. and Garcia-De La Cruz, R. F. (2008) Accumulation and distribution of heavy metals in *Scirpus americanus* and *Typha latifolia* from an artificial lagoon in San Luis Potosí, México. Water, Air, and Soil Pollution 188: 297-309.

Clements, S. (2001) Molecular mechanism of plant metal tolerance and homeostasis. Planta 212: 475-486.

Fang, W. C. and Kao, C. H. (2000) Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to

Archive of SID

www.SID.ir

Parker, D. R. and Norvell, W. A. (1999) Advances in solution culture methods for plant mineral nutrition research. Advances Agronomy 65: 151-213.

Proctor, J. (1999) Toxins, nutrient shortages and droughts: the serpentine challenge. Trends in Ecology and Evolution 14: 334-335.

Radwan, M. A., El-Gendy, K. S. and Gad, A. F. (2010) Biomarkers of oxidative stress in the land snail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution. Chemosphere 79: 40-46.

Schat, H., Vooijs, R. and Kuiper, E. (1996) Identical major gene loci for heavy metal tolerances that have independently evolved in different local populations and subspecies of *Silene vulgaris*. Evolution 50: 1888-1895.

Seregin, I. V. and Kozhevnikova, A. D. (2006) Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. Fiziologiya Rastenii 53: 285-308.

Seregin, I. V., Kozhevnikova, A. D., Kazyumina, E. M., and Ivanov, V. B. (2003) Nickel toxicity and distribution in maize roots. Russian Journal of Plant Physiology 50: 793–800.

Sharma, S. S. and Dietz, K. J. (2009) The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. Trends in Plant Science 14: 43-50.

Srivastava, S., Tripathi, R. D. and Dwivedi, U. N. (2004) Synthesis of phytochelatins and modulation of antioxidants in response to cadmium stress in Cuscuta reflexa—an angiospermic parasite. Plant Physiology 161: 665-674.

Tamas, L., Dudıkova, J., Durcekova, K., Huttova, J., Mistrık, I. and Zelinova, V. (2008) The impact of heavy metals on the activity of some enzymes along the barley root. Environmental and Experimental Botany 62: 86-91.

Tewari, R. K., Kumar, P., Sharma, P. N. and Bisht, S. S. (2002) Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt. Plant Science 162: 381-388.

Valdez, C. E. and Alexandrova, A. N. (2012) Why urease is a di-nickel enzyme whereas the CcrA β-lactamase is a di-zinc enzyme. The Journal of Physical Chemistry B 116: 10649-10656.

Valko, M., Morris, H. and Cronin, M. T. (2005) Metals, toxicity and oxidative stress. Current Medical Chemistry 12: 1161-1208.

Zhao, Y., Peralta-Videa, J. R., Lopez-Moreno, M. L., Ren, M., Saupe, G. and Gardea-Torresdey, J. L. (2011) Kinetin increases chromium absorption, modulates iths distribution, and changes the activity of catalase and ascorbate peroxidase in Mexican Palo Verde. Environmental Science and Technology 45: 1082-1087.

excess iron, copper and zinc. Plant Science 158: 71-76.

Farnoosh, R., Tavakoli, J. and Haddad Khodaparast, M. H. (2008) Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of *Pistacia atlantica* in Iran. Journal of the American Oil Chemists Society 85: 723-729.

Gajewska, E. and Skodowska, M. (2007) Relations between tocopherol, chlorophyll and lipid peroxides contents in shoots of Ni-treated wheat. Journal of Plant Physiology 164: 364-366.

Gajewska, E., Skodowska, M., Saba, M. and Mazur, J. (2006) Effect of nickel on antioxidative enzyme activities and chlorophyll contents in wheat shoots. Biology of Plant 50: 653-659.

Ghaderian, S. M. and Baker, A. J. M. (2007) Geobotanical and biogeochemical reconnaissance of the ultramafics of Central Iran. Journal of Geobotanical Exploration 92: 34-42.

Ghasemi, R., Ghaderian, S. M. and Krämer, U. (2009) Interference of nickel with copper and iron homeostasis contributes to metal toxicity symptoms in the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum inflatum.* New Pytologist 184: 566-580.

Hall, J. L. (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. Journal of Experimental Botany 53: 1-11.

Juknys, R., Vitkauskaite, G., Racaite, M. and Vencloviene, J. (2012) The impacts of heavy metals on oxidative stress and growth of spring barley. Central European Journal of Biology 7: 299-306.

Kazakou, E., Adamidis, G. C., Baker, A. J., Reeves, R. D., Godino, M. and Dimitrakopoulos, P. G. (2010) Species adaptation in serpentine soils Lesbos Island (Greece): metal hyperaccumulation and tolerance. Plant and Soil 332: 369-385.

Maksymiec, W. (1997) Effect of copper on cellular processes in higher plants. Photosynthetica 34: 321–342.

Mishra, P. and Dubey, R. S. (2013) Excess nickel modulates activities of carbohydrate metabolizing enzymes and induces accumulation of sugars by upregulating acid invertase and sucrose synthase in rice seedlings. Biometals 26: 97-111.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 876-880.

Pakdaman, N., Ghaderian, S. M., Ghasemi, R. and Asemaneh, T. (2013) Effects of calcium/magnesium quotients and nickel in the growth medium on growth and nickel accumulation in *Pistacia atlantica*. Journal of Plant Nutrition 36: 1708-1718.

Archive of SID

www.SID.ir