Archive of SID

برهم‌کنش میکوریز وزیکولار آرباسکولار با فلز سنگین نیکل و تأثیر آن بر تنش اکسیداتیو در گیاه جو

چنگیز ذوالفقارلو و حسن زارع مایوان*

دریافت: ۱۳۹۴/۲/۹/ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۱۰/ چاپ: ۱۳۹۵/۱۲/۲۸

گروه علوم گیاهی، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
*مسئول مکاتبات: zaremaih@modares.ac.ir

چکیده. حضور فلزهای سنگین باعث کاهش رشد گیاهان و نقص عمل‌کرد آنها می‌شود. فلزهای سنگین همچنین، موجب القای تشکیل انواع فعال اکسیژن می‌شوند و ازاین راه به سلول‌های گیاهی آسیب می‌رساند. یکی از راهکارهای اساسی گیاه برای مقابله با آسیب‌های ناشی از فلزهای سنگین، راه‌اندازی سیستم پاداکساینده است که خود شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی است. از مهم‌ترین این نوع آنزیم‌ها، سوپراکسیددیسموتاز است که با تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن به بقای گیاه کمک می‌کند. در ادامه، آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز با تبدیل پراکسید هیدروژن به آب آن را خنثی می‌کند. راهکار دیگر گیاه برای مقابله با فلزهای سنگین، هم‌زیستی با قارچ میکوریزی وزیکولار آرباسکولار است. در پژوهش حاضر، بذرهای جو رقم ریحان در دو دستهٔ میکوریزی و غیرمیکوریزی در چهار غلظت صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم گرم سولفات نیکل آب‌دار بر گرم خاک در گلخانه کاشته شدند. پس از نمونه‌برداری از بخش‌های هوایی گیاهان مشخص شد در تیمارهای میکوریزی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی بیشتر است. همچنین مشخص شد در ریشهٔ گیاهان میکوریزی تجمع فلز نیکل در مقایسه با ریشهٔ گیاهان غیرمیکوریزی بیشتر است که این خود نشان‌دهندهٔ نقش قارچ میکوریز وزیکولار آرباسکولار در ممانعت از انتقال فلزهای سنگین و جلوگیری از آسیب به بخش‌های هوایی گیاه است.

واژه های کلیدی. پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، هم‌زیستی، قارچ، گیاه

Interaction of vesicular arbuscular mycorrhiza with nickel heavy metal and its effect on the oxidative stress in barley

Changiz Zolfagharlou & Hasan Zare-Maivan*

Received 29.04.2015/ Accepted 31.08.2016 /Published 18.03.2017

School of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
*Correspondent author: zaremaih@modares.ac.ir

Abstract. Heavy metals reduce the plant growth and adversely affect plant performance potential. Heavy metals also induce the formation of reactive oxygen species leading to cell damage. Plants deal with heavy metal stress by activating enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems such as Superoxide Dismutase which converts superoxide anion to hydrogen peroxide. Then Peroxidase and Catalase convert hydrogen peroxide to water. Another method employed by pl-ants to deal with heavy metals is mycorrhizal symbiosis. In this study, mycorrhizal and non-mycorrhizal barley seedlings (*Hordeum vulgar*), var. Rayhan, grown in a greenhouse were treated with four concentrations of nickel (0,100,200 and 400 µg/g). Results showed greater antioxidant activity in mycorrhizal plants compared with non-mycorrhizal plants. Also, it was determined that the accumulation of nickel in roots of mycorrhizal plants was greater compared with non-mycorrhizal plants.

Keywords. peroxidase, superoxide dismutase, symbiosis, fungi, plant

مقدمه

اولین‌بار شیمیدانی سوئدی در سال ۱۷۵۱ نیکل را از سنگ معدن آن جدا کرد. نیکل ازنظر فراوانی بیست‌ودومین عنصر فراوان در پوستهٔ زمین است که یا به‌صورت خالص یا به‌صورت ترکیب با آهن در سنگ‌های آذرین یافت می‌شود (Sunderman, 1991). نیکل همچنین، ازطریق فعالیت‌های انسانی از قبیل معدن‌کاری، آبکاری سوخت‌های فسیلی مانند زغال‌سنگ، فاضلاب شهری و صنعتی، کودهای کشاورزی و شیمیایی و دود وسائل نقلیه وارد محیط می‌شود (Salt, 2000; Alloway, 1995). غلظت نیکل در خاک‌های آلوده ممکن است تا ppm ۲۶۰۰۰ هم برسد و این مقدار در آب‌های سطحی تا mg/l ۰/۲ برسد یعنی چیزی حدود ۲۰ تا ۳۰ برابر مقداری که در محیط‌های سالم وجود دارد (Astros & Bjorklund, 1996; Zwolsman, 2007). اثر سمی نیکل در گیاهان با غلظت‌های خیلی بالا در چند سطح دیده می‌شود که شامل جلوگیری از تقسیمات میتوزی (Rao & Sresty, 2000)، کاهش رشد میزان آب نسبی و فتوسنتز گیاه، جلوگیری از فعالیت

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 16:33 IRDT on Tuesday May 16th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 16:33 IRDT on Tuesday May 16th 2017

آنزیمی، متابولیسم نیتروژن (Gajewska *et al.*, 2009)، مداخله در جذب فلزهای ضروری دیگر و تحریک تنش اکسیداتیو (Chen *et al.*, 2009) است. مطالعات نشان می‌دهد که فلزهای سنگین مانند نیکل، کادمیوم و روی ازطریق مسیرهای اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد باعث ظهور ناهنجاری‌های کروموزومی و کاهش رشد گیاه می شود (Michaelis *et al.*, 1986; Ochi *et al.*, 1983). نیکل و دیگر فلزهای سنگین از دو طریق گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند: با تغییر ویژگی‌های کینیتیکی و میزان فعالیت آنزیم‌ها متابولیسم گیاهان را تغییر می‌دهند، یا اینکه به تنش اکسیداتیو منجر می‌شوند. فلزهای سنگین باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان می‌شود که سمی‌بودن ROS در گیاهان سبب تکامل مکانیسم پیچیدهٔ سم‌زدای آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیرآنزیمی شده است. این سیستم بدون آنکه خود به رادیکال‌های آزاد تبدیل شود باعث ازبین‌رفتن ROS می‌شود (Pitzchke *et al.*, 2006). نیکل فقط در غلظت‌های بالا برای گیاهان سمی به‌شمار می‌رود و برای بررسی اثر این عنصر بر گونه-های فعال اکسیژن و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مطالعات زیادی انجام شده است. گونه‌های فعال اکسیژن ازقبیل آنیون سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و اکسیژن سینگلت ($^1O_2$)، معمولاً به‌طور دائم طی فرآیندهای متابولیکی در بافت‌های گیاهان ساخته می‌شود. قارچ‌های میکوریز آرباسکولار با تعداد زیادی از خانواده‌های گیاهی در بازدانگان و نهان‌دانگان و همچنین با بسیاری از گونه‌های سرخس پنجه‌گرگیان و خزه‌ها نیز هم‌زیستی دارند (Conway & Bagyaraj, 1984). قارچ‌های میکوریز آرباسکولار به کمک ریسه‌های خود آب و مواد غذایی ضروری گیاه را از خاک جذب می‌کند و در اختیار گیاه قرار می‌دهد و ازاین‌طریق باعث کمک به بهبود رشد گیاهان میزبان می‌شود و درعوض کربوهیدرات‌های مورد نیاز را از گیاه دریافت می‌کند (Abbot & Robson, 1997). قارچ‌های میکوریز آرباسکولار اندوفیت هستند و در قسمت‌های اپیدرم و کورتکس ریشه فعالیت می‌کنند. هدف این تحقیق پی‌بردن به تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌خصوص پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز و میزان مالون دی‌آلدهید به منزلهٔ شاخصی از پراکسیداسیون غشا در گیاهان جو تحت تنش فلز نیکل در حضور میکوریز وزیکولار آرباسکولار در مقایسه با گیاهان شاهد بود.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه جو (*Hordeum vulgar* L.) از بخش غلات شهرک نهال و بذر محمدشهر کرج تهیه شد. بذرها ابتدا با مایع دستشویی و آب مقطر شسته شد. سپس، به‌مدت ۸ دقیقه در آب ژاول قرار گرفت. بعد با آب مقطر شسته و۵۰ دقیقه در الکل ۷۰ درصد نگهداری شد. در هر کدام از ظرف‌های پتری یک کاغذ واتمن قرار داده شد و با چند قطره آب مقطر استریل و مرطوب شد. بذرها را در پتری‌ها قرار گرفتند و به اتاق کشت منتقل شدند تا جوانه بزنند. اینوکولوم موردنظر از کلینیک گیاه‌پزشکی ارگانیک شهرستان اسد آباد همدان تهیه شد که فقط حاوی گونهٔ میکوریزایی *Glomus mossae* به همراه ریشهٔ هیف و خاک بود. در این اینوکولوم تراکم اسپور *Glomus mossae* ۱۲۰ اسپور در هر گرم نمونه خاک بود.

انتقال بذرها به گلدان در گلخانه

در هر کدام از گلدان‌ها ۶۰۰ گرم خاک و ۵۰ گرم اینوکولوم میکوریزایی به کار برده شد و بذرها به‌کمک پنس استریل‌شده در لایهٔ میکوریزایی قرار داده شدند و گلدان‌ها به گلخانه منتقل شدند. در هر هفته دوبار به‌صورت یک‌درمیان با آب دوبار تقطیر شده و محلول هوگلند، که نیز حاوی ترکیبات سولفاته ازقبیل سولفات منیزیم و آهن بود، آبیاری شدند. در هفتهٔ هفتم محلول $NiSO_4$ در چهار غلظت صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ µg/g به گلدان‌های میکوریزی و غیرمیکوریزی اضافه شد. دو هفته بعد از اعمال فلز سنگین نیکل از بخش‌های هوایی گیاهان برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید غشاء و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز (POD) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و از ریشهٔ گیاهان برای اندازه‌گیری مقدار نیکل ریشه نمونه‌برداری شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

پس‌از آماده‌سازی عصاره‌های پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز این معرف زیر تهیه شد: بافر پتاسیم‌فسفات (pH ۶/۱) ۶۰ میلی‌مولار، گایاکول ۲۸ میلی‌مولار پراکسید-هیدروژن در ظرف شیشه‌ای ۲/۹ میلی‌لیتر از مواد فوق ریخته و ۰/۱ میلی‌لیتر عصارهٔ آنزیمی به آن اضافه شد و بلافاصله جذب محلول

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 16:33 IRDT on Tuesday May 16th 2017

در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. این جذب به منزلهٔ A_0 (جذب در لحظه صفر) در نظر گرفته شد و پس‌از گذشت ۱ دقیقه مجدداً جذب محلول خوانده شد (A_1). به‌عبارت دیگر، افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد. فعالیت آنزیمی برحسب تغییرات جذب در هر دقیقه به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

پس‌از تهیهٔ عصارهٔ آنزیمی به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مخلوط واکنش شامل این موارد تهیه شد: بافر HEPES-KOH (pH ۷/۸) ۵۰ میلی‌مولار، کربنات سدیم (pH۱۰/۲) ۵۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، L- متیونین ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار. مقدار ۲/۸ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش در تعدادی لولهٔ آزمایش (که دور بدنهٔ آنها برای جلوگیری از عبور نور فویل پیچیده شده بود) ریخته و به هریک ۰/۲ میلی‌لیتر نمونهٔ عصارهٔ پروتئینی اضافه شد. دو لولهٔ آزمایش نیز به‌عنوان شاهد حاوی ۲/۸ میلی‌لیتر مخلوط واکنش و ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. لوله‌های آزمایش حاوی عصارهٔ آنزیمی و یکی از لوله‌های شاهد به‌مدت ۱۵ دقیقه در فاصلهٔ ۳۰ سانتی‌متری منبع نور قرار گرفتند. شاهد دیگر در تاریکی قرار گرفت. دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر و توسط شاهدی که در تاریکی قرار گرفته بود صفر شد. پس‌از ۱۵ دقیقه لامپ‌ها خاموش شد و جذب نمونه‌ها در طول موج مذکور خوانده شد. تفاوت بین جذب هر عصاره در مدت زمان روشنایی ۱۵ دقیقه و جذب عصارهٔ بدون آنزیم (شاهد) در همان زمان روشنایی، در واقع، نشان‌دهندهٔ فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بازداشت واکنش خودبه‌خودی تشکیل فورمازان است. بنابراین، درصد کاهش جذب برای هر نمونه حساب شد. ازآنجاکه یک واحد آنزیم مذکور عبارت است از مقداری از آنزیم که موجب۵۰ درصد بازدارندگی احیای نوری NBT شود، در نتیجه فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز براساس واحد آنزیمی بر میلی‌گرم برای تمام نمونه‌ها محاسبه شد (Gionnopolitis & Reis, 1997).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها

برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) و دیگر آلدهیدهای حاصل ازاین واکنش براساس روش Heath و Packer (1968) اندازه‌گیری شد. ۰/۲گرم از نمونه برگ تازه، توسط ۵cc محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد استخراج و عصارهٔ به‌دست‌آمده به لوله‌های سانتریفوژ منتقل شد و در دمای محیط، دور ۱۰۰۰۰ به‌مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. به یک میلی‌لیتر از محلول حاصل از سانتریفیوژ چهار میلی‌لیتر محلول تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوبابیتوریک‌اسید (TBA) اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد حمام آب گرم حرارت داده شد. بعدازاین مدت، لوله‌های آزمایش به‌سرعت سرد شد. بعد از این مراحل، مخلوط حاصل بار دیگر به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط و دور ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ به‌وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر و طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. مادهٔ موردنظر در این طول موج کمپلکس قرمزرنگ (MDA-TBA) است. جذب بقیهٔ رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین شد و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر شد. برای محاسبهٔ غلظت MDA از ضریب خاموشی $155\ mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و درنهایت مقدار مالون‌دی‌آلدهید که محصول پراکسیداسیون لیپیدهاست براساس میکرومول وزن تر محاسبه شد.

سنجش میزان فلز نیکل در ریشه

میزان فلز نیکل به‌کمک دستگاه جذب اتمی مدل (A-Shimadzu670) ساخت ژاپن انجام گرفت. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و داده‌ها براساس آزمون دانکن با سه‌بار تکرار انجام شد. تحلیل‌های آماری به‌کمک نرم‌افزار SPSS با اطمینان ۹۵ درصد صورت گرفت. نمودارها با نرم‌افزار Excel 2007 رسم شد.

نتایج

فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ‌ها

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی افزایش نامنظمی پیدا کرده است و میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست. تغییرات فعالیت این آنزیم در گیاهان میکوریزی روندی افزایشی را نشان می‌دهد که این افزایش در تیمارهای ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 16:33 IRDT on Tuesday May 16th 2017

نیکل، در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. در گیاهان غیرمیکوریزی، در تیمارهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم نیکل، نسبت به شاهد افزایش غیر چشمگیر آنزیم مشاهده شد که در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در برگ‌ها

نتایج به‌دست‌آمدهٔ مربوط به تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، نشان می‌دهد فعالیت این آنزیم در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزی است و این افزایش ازلحاظ آماری در سطح ۵ درصد، در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم فلز نیکل معنی‌دار است. فعالیت این آنزیم در گیاهان میکوریزی با افزایش غلظت نیکل، روند صعودی نامنظمی را نشان می‌دهد (شکل ۲). در گیاهان میکوریزی در مقایسه با شاهد، در تیمارهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم نیکل افزایش فعالیت آنزیم دیده می‌شود و این افزایش در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. درگیاهان غیرمیکوریزی در مقایسه با شاهد، در تیمارهای ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم نیکل افزایش فعالیت آنزیم دیده می‌شود و این افزایش در سطح ۵ درصد معنی‌دار است.

مقدار مالون دی آلدهید MDA در برگ‌ها

نتایج حاصل از بررسی میزان مالون دی‌آلدهید در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی نشان داد که میزان آن در گیاهان غیر میکوریزی در مقایسه با گیاهان میکوریزی اگرچه بیشتر بود، ولی ازلحاظ آماری این تفاوت در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود (شکل ۳).

غلظت نیکل در ریشه

همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است غلظت نیکل در ریشه گیاهان، با افزایش غلظت نیکل در محیط، نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری در سطح ۵ درصد پیدا می‌کند و بیشترین غلظت نیکل در ریشه مربوط به تیمار ۴۰۰ میکروگرم این عنصر است. در تیمارهای مختلف نیکل، غلظت فلز نیکل در ریشه گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بیشتر است و این افزایش در تیمار ۱۰۰ میکروگرم نیکل، معنی دار است.

بحث

قارچ VAM تنها گونهٔ قارچی است که می‌تواند بین ریشه، خاک و موقعیت تنش‌زای فلزهای سنگین از قبیل نیکل ارتباط برقرار کند. در این تحقیق دریافتیم که تحت تنش فلز نیکل در محیط گلخانه‌ای قارچ وزیکولارآرباسکولار کمک زیادی به جذب فلز نیکل و فعال‌شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می کند. داده‌های این تحقیق مبین آن است که کلونیزاسیون ریشه تحت تنش نیکل انجام شده است. تجمع مالون دی‌آلدهید معمولاً بیان‌گر پراکسیداسیون لیپید غشاء است. در تحقیق حاضر تجمع مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان غیرمیکوریزی نشان می‌دهد که آسیب‌های پراکسیداتیو در سلول‌های برگ این گیاهان تحت تنش فلز نیکل نسبت به گیاهان میکوریزی بالاتر بوده است. به نظر می‌رسد کلونیزاسیون با قارچ وزیکولار آرباسکولار بر تجمع مالون‌دی آلدهید تأثیر منفی دارد. ازطرف دیگر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم کلیدی در تخریب رادیکال‌های سوپراکسید و تولید پراکسید هیدروژن است.

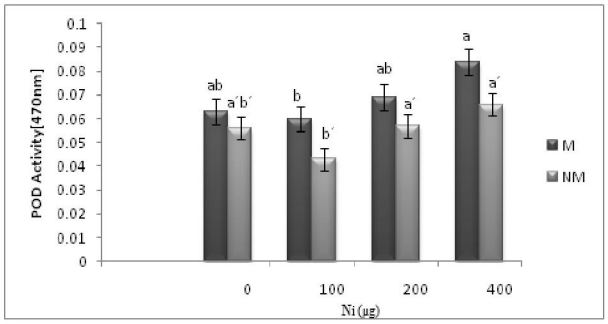
در تحقیق حاضر میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بیشتر بود. بنابراین می‌توان گفت قارچ وزیکولار آرباسکولار می‌تواند باعث بهبود سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانت در گیاهان تحت تنش فلزهای سنگین شود. فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت فلز نیکل در تیمارهای میکوریزی افزایش یافت. افزایش فعالیت این آنزیم در نخود فرنگی (Dalurzo *et al.*, 1997)، برنج (Hsu & Kao, 2004) و آفتابگردان (Laspina, 2005) نیز گزارش شده است. پراکسیدازهای گیاهی به‌طور وسیع در تمام گیاهان وجود دارند و یکی از نقش‌های آنها مشارکت در سیستم دفاعی سلول و سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن است. پراکسیدازها موجب حذف پراکسید هیدروژن تولید شده توسط عوامل تنش‌زا می شوند. این نقش پراکسیدازها در ایجاد پاسخ متابولیسمی گیاه به تنش‌های مختلف و حفظ سلول در مقابل غلظت‌های زیان‌آور پراکسید هیدروژن حائز اهمیت فراوان است (Hiraga, 2001).

در این تحقیق مشاهده شد فعالیت آنزیم پراکسیداز همواره در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بیشتر است به‌طوری‌که این افزایش در تیمار ۲۰۰ نیکل معنی‌دار است. همچنین مشاهده شد با افزایش غلظت فلز نیکل از غلظت ۱۰۰ نیکل به بعد،

www.SID.ir

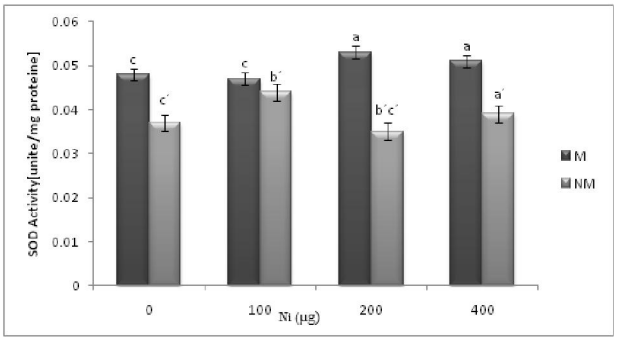
Archive of SID

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 16:33 IRDT on Tuesday May 16th 2017



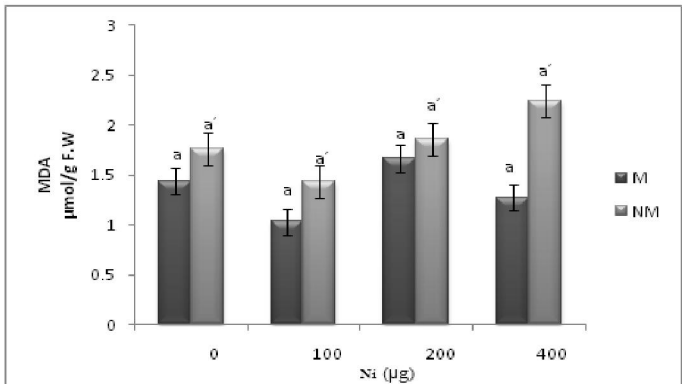
شکل ۱- تغییرات میانگین (±SE) فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) در برگ گیاهان جو میکوریزایی (M) و غیرمیکوریزایی (NM) در غلظت‌های مختلف $NiSO_4.6\ H_2O$. حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است و میله‌های عمودی انحراف معیار را نشان می‌دهد.

Fig. 1. The activity of POD in the leaves of mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) barley plants treated with different concentrations of $NiSO_4.6H_2O$. Bars with different letters are significantly different at $p \leq 0.05$.



شکل ۲- تغییرات میانگین (±SE) فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در برگ گیاهان جو میکوریزایی (M) و غیرمیکوریزایی(NM) در غلظت‌های مختلف $NiSO_4.6\ H_2O$. حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است و میله‌های عمودی انحراف معیار را نشان می‌دهد.

Fig. 2. The activity of SOD in the leaves of mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) barley plants treated with different concentrations of $NiSO_4.6H_2O$. Bars with different letters are significantly different at $p \leq 0.05$.



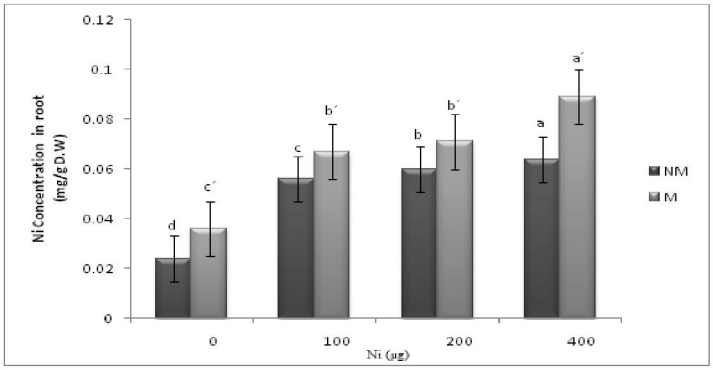
شکل ۳- تغییرات میانگین (±SE) مقدار مالون‌دی‌آلدهید در برگ گیاهان جو میکوریزایی (M) و غیرمیکوریزایی (NM) در غلظت‌های مختلف $NiSO_4.6\ H_2O$. حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است و میله‌های عمودی انحراف معیار را نشان می‌دهد.

Fig. 3. Amount of MDA in the leaves of mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) barley plants, treated with different concentrations of $NiSO_4.6H_2O$. Bars with different letters are significantly different at $p \leq 0.05$.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 16:33 IRDT on Tuesday May 16th 2017



شکل ٤- تغییرات میانگین(±SE) غلظت نیکل در ریشهٔ گیاهان جو میکوریزایی (M) و غیرمیکوریزایی (NM) در غلظت‌های مختلف $NiSO_4.6H_2O$. حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است و میله‌های عمودی انحراف معیار را نشان می‌دهد.

Fig. 4. Ni content in the roots of mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) barley plants treated with different concentrations of $NiSO_4.6H_2O$. Means with different letters are significantly different at $p \leq 0.05$.

فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش منظمی پیدا می‌کند. گزارش‌های مشابهی در زمینهٔ اثر فلزهای سنگین در افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در مورد گوجه‌فرنگی (Mazhoudi *et al.*, 1997; Quiroga & Guerrero, 2000)، جو (Erdei *et al.*, 2002; Gue *et al.*, 2007)، آفتابگردان (Laspina & Groppa 2005) و نخود فرنگی (Chaoui & Ferjani, 2005) ارائه شده است. در تحقیق حاضر غلظت نیکل ریشه‌های گیاه جو در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی افزایش پیدا کرد، البته در گیاهان میکوریزی غلظت این عنصر در ریشه‌ها نسبت به نوع غیرمیکوریزی بیشتر بود که این نتایج با تحقیقات (Simon & Eberhard, 2000) که در آن نیکل در غده‌های تربچه بیشتر از برگ‌ها انباشته می‌شود مطابقت دارد. Marchioli و همکاران (2004) نیز گزارش مشابهی در بارهٔ کلزا دادند. با توجه به این‌که در تحقیق حاضر از فرم سولفاتهٔ نیکل و ترکیبات سولفاتهٔ دیگر در محلول غذایی هوگلند استفاده شد، به‌جاست به آثار سولفات بر گیاه نیز پرداخته شود. با اینکه در تحقیق حاضر سنجشی در بارهٔ تأثیرات سولفات برگیاهان انجام نشده است، طبق تحقیقات انجام‌شده گیاهان، سولفات اضافه را به‌صورت SO_4 در واکوئل یا به‌صورت متابولیت‌های ثانویه در خود ذخیره می‌کنند(Randle *et al.*, 1999). تحقیقات انجام شده توسط Kowalska (2005) دربارهٔ گیاه گوجه‌فرنگی نشان داد که غلظت‌های مختلف سولفات در محلول غذایی با نشانه‌های مسمومیت خارجی همراه نبود. Kowalska و Sady (2003) گزارش دادند غلظت‌های مختلف سولفات تأثیری بر کمیت و کیفیت محصولات زراعی ندارد. وقتی مقدار سولفات در مجاورت ریشهٔ گیاهان زیاد شود، ریشه مقدار زیادی از آن را جذب می‌کند و سبب ساخته‌شدن گلوتاتیون در برگ‌ها می‌شود. مقداری از گلوتاتیون ساخته‌شده به ریشه رسیده و مانند سیگنال عمل می‌کند. در نتیجه، از جذب بیشتر سولفات جلوگیری می‌شود (Herschbach & Ronnenberg, 1994).

نتیجه‌گیری

با توجه به داده‌های حاصل از سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌وسیلهٔ میکوریز وزیکولار آرباسکولار در گیاه جو تحریک شد. درعین‌حال افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نتوانست به‌طور کامل از گیاه دربرابر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مراقبت کند و دلیل این ادعا پراکسیداسیون غشاء حتی در حضور این آنزیم‌هاست. در حضور میکوریز وزیکولار آرباسکولار فلز نیکل در ریشه تجمع بیشتری پیدا کرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و موسسه تحقیقات تهیه بذر و نهال تشکر می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 16:33 IRDT on Tuesday May 16th 2017

REFERENCES

Abbot, L.K. and Robson, A.D. 1977. Growth stimulation of subterranean clover with vesicular arb uscular mycorrhiza. – Aust. J. Agric. Res. 28: 639-649.

Alloway, B.J. 1995. In: Alloway B.J. (ed) Heavy metals in soils. – Blackie Academic and Professional, London, UK., pp 25-34.

Astros, M. and Bjorklund, A. 1996. Hydrogeochemistry of a stream draining sulfide bearing postglaci. – Water, Air, and Soil Pollut. 89:233-246.

Chaoui, A. and Ferjani, E. 2005. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and and auxin degradiation in leaves of Pea (*Pisium sativum* L.) seedlings. – Comptes Rendus Biologies 328: 23-31.

Chen, C., Huang, D. and Liu, J. 2009. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advantages and future prospects. – Clean 37:304-313.

Conway, L.P. and Bagyaraj, D. 1984. VA Mycorrhiza. – CRC Press. 234-313 pp.

Dalurzo, H.C., Sandalio, L.M., Gomez, M. and Del Rio, L.A. 1997. Cadmium infiltration of detached pea leaves: effect on its activated oxygen metabolism. – Phyton. Ann. Rei. Botanica 37: 59-64.

Erdei, S., Hegedus, A. and Hauptmann, G. 2002. Heavy metal induced physiological changes in the antioxidative response system. – Acta Biologica Szegediensis 46: 89-90.

Gajewska, E., Wielanek, M. and Sklodowska, M. 2009. Nickel induced depression of nitrogen assimilation in wheat root. – Acta Physiol. Plant 31:1291-1300.

Gionnopolitis, C.N. and Ries, S.K. 1997. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. – Plant Physiol. 59: 309-314.

Guo, T.R., Zhang, G.P. and Zhang, Y.H. 2007. Physiological changes in barely plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. Colloids and Surface B. – Biointerfaces 57: 182-188.

Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoproxidation in isolated chloroplasts.I-Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. – Arch. Biochem. Biophys. 125: 189-198.

Herschbach, C. and Ronnenberg, H. 1994. Influence of glutathione (GSH) on net uptake of sulphate and sulphate transport in tobacco plants. – J. Exp. Bot. 45: 1069-1076.

Hiraga, S., Sasaki, S., Ito, H., Ohashi, Y. and Matsui, H. 2001. A large family of class III plant peroxidases. – Plant and Cell Physio. 42: 462-468.

Hsu, Y.T. and Kao, C.H. 2004. Cd toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. – Plant Growth Regul. 42: 227-238.

Kowalska, I. 2005. Effects of sulphate level in the nutrient solution on plant growth and sulphur content in tomato plants. – Folia Horticulturae Ann. 17: 91-100.

Kowalska, I. and Sady, W. 2003. Effects of different sulphate levels at the root zone on the concentration of mineral compounds in the leaves of greenhouse tomato grown on NFT. – Acta Hort. 604: 499-504.

Laspina, N.V. and Groppa, M.D. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. –Plant Science 169: 323-330.

Marchiol, L., Assolari, S. and Sacco, P. 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica na pus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. – Enviro. Pollut. 32: 21-24.

Mazhoudi, A., Chaui, M.H., Ghorbal, E. and Ferjani, E. 1997. Response of antioxidant enzyme to excess copper in tomato (Lycopersicon esculentum). – Plant Sci. 127: 129-137.

Michaelis, A., Takehisa, R. and Aurich, O. 1986. Ammonium chloride and zinc sulfate pretreatments reduce the yield of chromatid aberrations induced by TEM and maleic hydrazide in Vicia faba. – Mutal. Res. 173: 187-191.

Ochi, T., Ishigura, T. and Osakawa, M. 1983. Participation of active oxygen species in the induction of MDA single strand scissions by cadmium chloride in cultured Chinese hamster cells. – Mutat. Res. 122: 169-175.

Pitzchke, A., Fornazi, C. and Hirt, H. 2006. Reative oxygen species signaling in plants. – Antioxid. Redox Signal 8:1757-1764.

Quiroga, M. and Guerrero, M.A. 2000. A tomato peroxidase involed in the synthesis of lignin and suberin. – Plant Physio. 122: 1119-1127.

Randle, W.M., Kopsell, D.E., Kopsell, D.A. and Snyder, R.L. 1999. Total sulfu and sulfate accumulation in onion is affected by sulfur fertility. – J. Plant Nutr. 22: 45-51.

Rao, K.V.M. and Sresty, T.V.S. 2000. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea Mill spauga in response to Zn and Ni stress. – Plant Sci.157: 113-128.

Salt, D.E., Kato, N., Kramer, U., Smith, R.D. and Raskin, I. 2000. The role of root exudates in nickel accumulation and tolerance in accumulator and non-accumulatore species of Thlaspi. – CRS Press LLC, London. pp 189-200.

Simon, T. and Eberhard, A. 2000. Effect of Ni and as on radish tuber cultivated on artificially pollut ed soils. – J. Soil Bio. 36: 73-80.

Sunderman, F.W. and Oskarsson, A. 1991. Metalsand their compounds in the environment. – In: Merian E, Weinheim VCH (eds).pp.1101-1126.

Zwolsman, J.J.G. and Van Bokhoven, A.J. 2007. Impact of summer droughts on water quality of the Rh Inr River-a preview of climate change. – Water Sci. Technol. 56: 45-55.

*****

Zolfagharlou, Ch. and Zare-Maivan, H. 2017. Interaction of vesicular arbuscular mycorrhiza with nickel heavy metal and its effect on the oxidative stress in barley. – Nova Biol. Rep. 3: 341-347.

ذالفقارلو، چ. و زارع‌مایوان، ح. ۱۳۹۵. برهم‌کنش میکوریز وزیکولار آرباسکولار با فلز سنگین نیکل و تأثیر آن بر تنش اکسیداتیو در گیاه جو.– یافته‌های نوین در علوم زیستی ۳: ۳۴۷-۳۴۱.

www.SID.ir