

## برهم کنش میکوریز و زیکولار 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، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

\*مسئول مکاتبات: zaremaih@modares.ac.ir

**چکیده.** حضور فلزهای سنگین باعث کاهش رشد گیاهان و نقص عمل کرد آنها می‌شود. فلزهای سنگین همچنین، موجب القای تشکیل انواع اکسیژن می‌شوند و از این 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 غیر آنزیمی است. از مهم‌ترین این نوع آنزیم‌ها، سوپراکسید دیسموتاز 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 و زیکولار آرباسکولار است. در پژوهش حاضر، بذره‌های جو رقم ریحان در دو دسته میکوریزی و غیر میکوریزی 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 غیر میکوریزی بیشتر است. همچنین مشخص شد در ریشه گیاهان میکوریزی تجمع فلز نیکل در مقایسه با ریشه گیاهان غیر میکوریزی بیشتر است که این خود نشان‌دهنده نقش قارچ میکوریز و زیکولار آرباسکولار در ممانعت از انتقال فلزهای سنگین و جلوگیری از آسیب به بخش‌های هوایی گیاه است.

**واژه‌های 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 Zolfaghari & 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 vulgare*), 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

محیط می‌شود (Salt, 2000; Alloway, 1995). غلظت نیکل در خاک‌های آلوده ممکن است تا ۲۶۰۰۰ ppm هم برسد و این مقدار در آب‌های سطحی تا ۰/۲ mg/l 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

اولین بار شیمیدانی سوئدی در سال ۱۷۵۱ نیکل را از سنگ معدن آن جدا کرد. نیکل از نظر فراوانی بیست و دومین عنصر فراوان در پوسته زمین است که یا به صورت خالص یا به صورت ترکیب با آهن در سنگ‌های آذرین یافت می‌شود (Sunderman, 1991). نیکل همچنین، از طریق فعالیت‌های انسانی از قبیل معدن‌کاری، آبکاری سوخت‌های فسیلی مانند زغال‌سنگ، فاضلاب شهری و صنعتی، کودهای کشاورزی و شیمیایی و دود وسایل نقلیه وارد

گیاهان جو تحت تنش فلز نیکل در حضور میکوریز و زیگولار آرباسکولار در مقایسه با گیاهان شاهد بود.

### مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) از بخش غلات شهرک نهال و بذر محمدشهر کرج تهیه شد. بذرها ابتدا با مایع دستشویی و آب مقطر شسته شد. سپس، به مدت ۸ دقیقه در آب ژاول قرار گرفت. بعد با آب مقطر شسته و ۵۰ دقیقه در الکل ۷۰ درصد نگهداری شد. در هر کدام از طرف‌های 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 گونه میکوریزایی *Glomus mossae* به همراه ریشه 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 به کمک پنس استریل شده در لایه میکوریزایی قرار داده شدند و گلدان‌ها به گلخانه منتقل شدند. در هر هفته دوبار به صورت یک‌درمیان با آب دوبار تقطیر شده و محلول هوگلند، که نیز حاوی ترکیبات سولفات از قبیل سولفات منیزیم و آهن بود، آبیاری شدند. در هفته هفتم محلول  $\text{NiSO}_4$  در چهار غلظت صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰  $\mu\text{g/g}$  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 ریشه گیاهان برای اندازه‌گیری مقدار نیکل ریشه نمونه برداری شد.

### فعالیت آنزیم پراکسیداز

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

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 از طریق مسیرهای اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد باعث ظهور ناهنجاری‌های کروموزومی و کاهش رشد گیاه می‌شود (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 کینتیکی 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 سمی بودن ROS در گیاهان سبب تکامل مکانیسم پیچیده سم‌زدای آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی شده است. این سیستم بدون آنکه خود به رادیکال‌های آزاد تبدیل شود باعث از بین رفتن ROS می‌شود (Pitzchke et al., 2006). نیکل فقط در غلظت‌های بالا برای گیاهان سمی به‌شمار می‌رود و برای بررسی اثر این عنصر بر گونه‌های فعال اکسیژن و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مطالعات زیادی انجام شده است. گونه‌های فعال اکسیژن از قبیل آنیون سوپراکسید ( $\text{O}_2^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) و اکسیژن سینگلت ( $^1\text{O}_2$ )، 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 پنجه‌گرگان و خزها نیز هم‌زیستی دارند (Conway & Bagyaraj, 1984). قارچ‌های میکوریز آرباسکولار به کمک ریشه‌های خود آب و مواد غذایی ضروری گیاه را از خاک جذب می‌کند و در اختیار گیاه قرار می‌دهد و از این طریق باعث کمک به بهبود رشد گیاهان میزبان می‌شود و در عوض 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 دی‌آلدئید به منزله شاخصی از پراکسیداسیون غشا در

بر اساس روش Heath و Packer (1968) اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم از نمونه برگ تازه، توسط ۵cc محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد استخراج و عصاره به دست آمده به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل شد و در دمای محیط، دور ۱۰۰۰۰ به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. به یک میلی‌لیتر از محلول حاصل از سانتریفیوژ چهار میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوبابتوریک اسید (TBA) اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم حرارت داده شد. بعد از این مدت، لوله‌های آزمایش به سرعت سرد شد. بعد از این مراحل، مخلوط حاصل بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط و دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. جذب محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر و طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر در این طول موج کمپلکس قرمز رنگ (MDA-TBA) است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین شد و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی  $1\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$  ۱۵۵ استفاده شد و در نهایت مقدار مالون‌دی‌آلدهید که محصول پراکسیداسیون لیپیدهاست بر اساس میکرومول وزن تر محاسبه شد.

#### سنجش میزان فلز نیکل در ریشه

میزان فلز نیکل به کمک دستگاه جذب اتمی مدل (A- Shimadzu670) ساخت ژاپن انجام گرفت. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و داده‌ها بر اساس آزمون دانکن با سه بار تکرار انجام شد. تحلیل‌های آماری به کمک نرم افزار SPSS با اطمینان ۹۵ درصد صورت گرفت. نمودارها با نرم افزار 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 غیر میکوریزی 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

در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. این جذب به منزله  $A_{0}$  (جذب در لحظه صفر) در نظر گرفته شد و پس از گذشت ۱ دقیقه مجدداً جذب محلول خوانده شد ( $A_1$ ). به عبارت دیگر، افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد. فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات جذب در هر دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

##### فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

پس از تهیه عصاره آنزیمی به منظور سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مخلوط واکنش شامل این موارد تهیه شد: بافر HEPES-KOH (pH ۷/۸) ۵۰ میلی‌مولار، کربنات سدیم (pH ۱۰/۲) ۵۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، L-متیونین ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلوترازولیوم ۷۵ میلی‌مولار، ریوفلاوین ۱ میکرومولار. مقدار ۲/۸ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش در تعدادی لوله آزمایش (که دور بدنه آنها برای جلوگیری از عبور نور فویل پیچیده شده بود) ریخته و به هریک ۰/۲ میلی‌لیتر نمونه عصاره پروتئینی اضافه شد. دو لوله آزمایش نیز به عنوان شاهد حاوی ۲/۸ میلی‌لیتر مخلوط واکنش و ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. لوله‌های آزمایش حاوی عصاره آنزیمی و یکی از لوله‌های شاهد به مدت ۱۵ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی‌متری منبع نور قرار گرفتند. شاهد دیگر در تاریکی قرار گرفت. دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر و توسط شاهی که در تاریکی قرار گرفته بود صفر شد. پس از 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 عصاره بدون آنزیم (شاهد) در همان زمان روشنایی، در واقع، نشان‌دهنده فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بازداشت واکنش خودبه‌خودی تشکیل فورمازان است. بنابراین، درصد کاهش جذب برای هر نمونه حساب شد. از آنجاکه یک واحد آنزیم مذکور عبارت است از مقداری از آنزیم که موجب ۵۰ درصد بازدارندگی احیای نوری NBT شود، در نتیجه فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس واحد آنزیمی بر میلی‌گرم برای تمام نمونه‌ها محاسبه شد (Gionopolitis & Reis, 1997).

##### سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها

برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) و دیگر آلدئیدهای حاصل از این واکنش

قارچ VAM تنها گونه قارچی است که می تواند بین ریشه، خاک و موقعیت تنش زای فلزهای سنگین از قبیل نیکل ارتباط برقرار کند. در این تحقیق دریافتیم که تحت تنش فلز نیکل در محیط گلخانه ای قارچ وزیکولار آرباسکولار کمک زیادی به جذب فلز نیکل و فعال شدن آنزیم های آنتی اکسیدان می کند. داده های این تحقیق مبین آن است که کلونیزاسیون ریشه تحت تنش نیکل انجام شده است. تجمع مالون دی آلدئید معمولاً بیان گر پراکسیداسیون لیپید غشاء است. در تحقیق حاضر تجمع مالون دی آلدئید در گیاهان غیر میکوریزی نشان می دهد که آسیب های پراکسیداتیو در سلول های برگ این گیاهان تحت تنش فلز نیکل نسبت به گیاهان میکوریزی بالاتر بوده است. به نظر می رسد کلونیزاسیون با قارچ وزیکولار آرباسکولار بر تجمع مالون دی آلدئید تأثیر منفی دارد. از طرف دیگر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم کلیدی در تخریب رادیکال های سوپراکسید و تولید پراکسید هیدروژن است.

در تحقیق حاضر میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیر میکوریزی بیشتر بود. بنابراین می توان گفت قارچ وزیکولار آرباسکولار می تواند باعث بهبود سیستم آنزیمی آنتی اکسیدانت 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 به طور وسیع در تمام گیاهان وجود دارند و یکی از نقش های آنها مشارکت در سیستم دفاعی سلول و سم زدایی گونه های فعال اکسیژن است. پراکسیدازها موجب حذف پراکسید هیدروژن تولید شده توسط عوامل تنش زا می شوند. این نقش پراکسیدازها در ایجاد پاسخ متابولیکی گیاه به تنش های مختلف و حفظ سلول در مقابل غلظت های زیان آور پراکسید هیدروژن حائز اهمیت فراوان است (Hiraga, 2001).

در این تحقیق مشاهده شد فعالیت آنزیم پراکسیداز همواره در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیر میکوریزی بیشتر است به طوری که این افزایش در تیمار ۲۰۰ نیکل معنی دار است. همچنین مشاهده شد با افزایش غلظت فلز نیکل از غلظت ۱۰۰ نیکل به بعد،

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

#### فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در برگ ها

نتایج به دست آمده مربوط به تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، نشان می دهد فعالیت این آنزیم در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیر میکوریزی است و این افزایش از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد، در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم فلز نیکل معنی دار است. فعالیت این آنزیم در گیاهان میکوریزی با افزایش غلظت نیکل، روند صعودی نامنظمی را نشان می دهد (شکل ۲). در گیاهان میکوریزی در مقایسه با شاهد، در تیمارهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم نیکل افزایش فعالیت آنزیم دیده می شود و این افزایش در سطح ۵ درصد معنی دار است. در گیاهان غیر میکوریزی در مقایسه با شاهد، در تیمارهای ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم نیکل افزایش فعالیت آنزیم دیده می شود و این افزایش در سطح ۵ درصد معنی دار است.

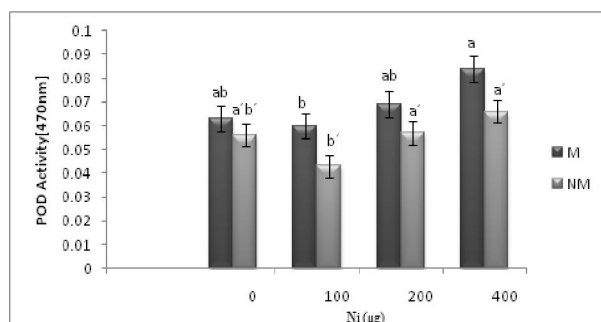
#### مقدار مالون دی آلدئید MDA در برگ ها

نتایج حاصل از بررسی میزان مالون دی آلدئید در گیاهان میکوریزی و غیر میکوریزی نشان داد که میزان آن در گیاهان غیر میکوریزی در مقایسه با گیاهان میکوریزی اگرچه بیشتر بود، ولی از لحاظ آماری این تفاوت در سطح ۵ درصد معنی دار نبود (شکل ۳).

#### غلظت نیکل در ریشه

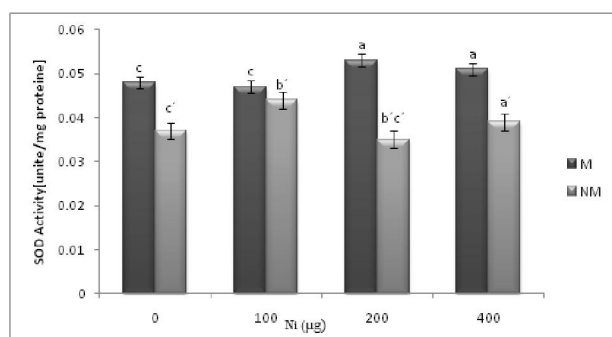
همان طور که در شکل ۴ نشان داده شده است غلظت نیکل در ریشه گیاهان، با افزایش غلظت نیکل در محیط، نسبت به شاهد افزایش معنی داری در سطح ۵ درصد پیدا می کند و بیشترین غلظت نیکل در ریشه مربوط به تیمار ۴۰۰ میکروگرم این عنصر است. در تیمارهای مختلف نیکل، غلظت فلز نیکل در ریشه گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیر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

#### بحث



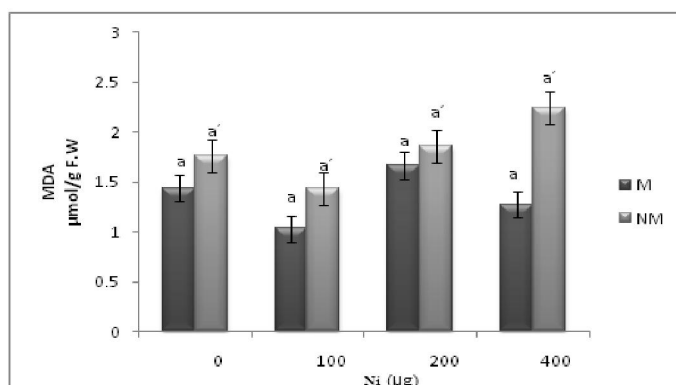
شکل ۱- تغییرات میانگین ( $\pm$ SE) فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) در برگ گیاهان جو میکوریزایی (M) و غیرمیکوریزایی (NM) در غلظت‌های مختلف  $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ . حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است و میله‌های عمودی انحراف معیار را نشان می‌دهد.

**Fig. 1.** The activity of POD in the leaves of mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) barley plants treated with different concentrations of  $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ . Bars with different letters are significantly different at  $p \leq 0.05$ .



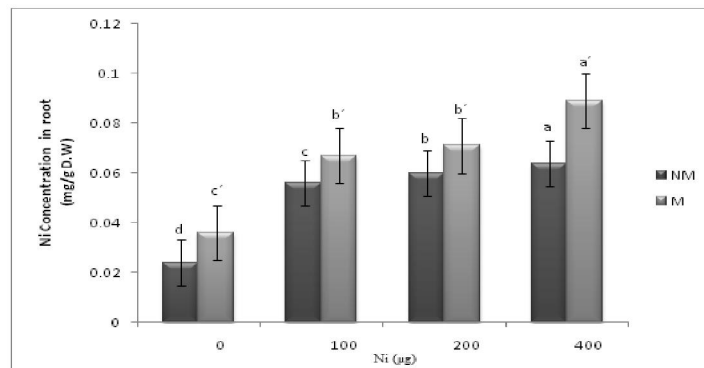
شکل ۲- تغییرات میانگین ( $\pm$ SE) فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در برگ گیاهان جو میکوریزایی (M) و غیرمیکوریزایی (NM) در غلظت‌های مختلف  $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ . حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است و میله‌های عمودی انحراف معیار را نشان می‌دهد.

**Fig. 2.** The activity of SOD in the leaves of mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) barley plants treated with different concentrations of  $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ . Bars with different letters are significantly different at  $p \leq 0.05$ .



شکل ۳- تغییرات میانگین ( $\pm$ SE) مقدار مالون‌دی‌آلدئید در برگ گیاهان جو میکوریزایی (M) و غیرمیکوریزایی (NM) در غلظت‌های مختلف  $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ . حروف متفاوت نشان‌دهنده 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  $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ . Bars with different letters are significantly different at  $p \leq 0.05$ .



**شکل ۴-** تغییرات میانگین (±SE) غلظت نیکل در ریشه گیاهان جو میکوریزایی (M) و غیرمیکوریزایی (NM) در غلظت‌های مختلف  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . حروف متفاوت نشان‌دهنده 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  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Means with different letters are significantly different at  $p \leq 0.05$ .

گزارش دادند غلظت‌های مختلف سولفات تأثیری بر کمیت و کیفیت محصولات زراعی ندارد. وقتی مقدار سولفات در مجاورت ریشه گیاهان زیاد شود، ریشه مقدار زیادی از آن را جذب می‌کند و سبب ساخته شدن گلوکوتایون در برگ‌ها می‌شود. مقداری از گلوکوتایون ساخته شده 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 میکوریزایی و غیرمیکوریزایی می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به وسیله میکوریز و زیکولار آرباسکولار در گیاه جو تحریک شد. در عین حال افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نتوانست به‌طور کامل از گیاه در برابر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مراقبت کند و دلیل این ادعا پراکسیداسیون غشاء حتی در حضور این آنزیم‌هاست. در حضور میکوریز و زیکولار آرباسکولار فلز نیکل در ریشه تجمع بیشتری پیدا کرد.

#### سپاسگزاری

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

فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش منظمی پیدا می‌کند. گزارش‌های مشابهی در زمینه اثر فلزهای سنگین در افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در مورد گوجه‌فرنگی (Mazhoudi *et al.*, 1997; Quiroga & Guerrero, 2000; 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 میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش پیدا کرد، البته در گیاهان میکوریزایی غلظت این عنصر در ریشه‌ها نسبت به نوع غیرمیکوریزایی بیشتر بود که این نتایج با تحقیقات (Simon & Eberhard, 2000) که در آن نیکل در غده‌های تریچه بیشتر از برگ‌ها انباشته می‌شود مطابقت دارد. Marchioli و همکاران (2004) نیز گزارش مشابهی در باره کلزا دادند. با توجه به این‌که در تحقیق حاضر از فرم سولفات نیکل و ترکیبات سولفات دیگر در محلول غذایی هوگلند استفاده شد، به‌جاست به آثار سولفات بر گیاه نیز پرداخته شود. با اینکه در تحقیق حاضر سنجشی در باره تأثیرات سولفات بر گیاهان انجام نشده است، طبق تحقیقات انجام شده گیاهان، سولفات اضافه را به‌صورت  $\text{SO}_4$  در واکوئل یا به‌صورت متابولیت‌های ثانویه در خود ذخیره می‌کنند (Randle *et al.*, 1999). تحقیقات انجام شده توسط Kowalska (2005) درباره گیاه گوجه‌فرنگی نشان داد که غلظت‌های مختلف سولفات در محلول غذایی با نشانه‌های مسمومیت خارجی همراه نبود. Sady و Kowalska (2003)



## REFERENCES

- Abbot, L.K. and Robson, A.D.** 1977. Growth stimulation of subterranean clover with vesicular arbuscular 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 auxin degradation 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. Photoperoxidation 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 napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. – Environ. Pollut. 32: 21-24.
- Mazhoudi, A., Chau, 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*. – Mutat. Res. 173: 187-191.
- Ochi, T., Ishiguro, 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. Reactive oxygen species signaling in plants. – Antioxid. Redox Signal. 8:1757-1764.
- Quiroga, M. and Guerrero, M.A.** 2000. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. – Plant Physiol. 122: 1119-1127.
- Randle, W.M., Kopsell, D.E., Kopsell, D.A. and Snyder, R.L.** 1999. Total sulfur 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 spaug 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-accumulator 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 polluted soils. – J. Soil Bio. 36: 73-80.
- Sunderman, F.W. and Oskarsson, A.** 1991. Metals and 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 و زیگولار آریاسکولار با فلز سنگین نیکل و تأثیر آن بر تنش اکسیداتیو در گیاه جو. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۳: ۳۴۱-۳۴۷.