بررسی اثر پیش‌تیمار نیکل بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و رشد در گیاه سرپنتینی *Cleome heratensis* و غیرسرپنتینی *Cleome foliolosa* تحت تنش خشکی حاصل از پلی‌اتیلن گلایکول

بهروز صالحی اسکندری [۱*] و سید مجید قادریان [۲]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران، [۲]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۷/۰۱)

چکیده

گیاهان روییده در خاک‌های سرپنتینی، علاوه بر تنش فلزات سنگین که شاخص‌ترین آنها نیکل است با تنش‌های فراوان دیگری چون تنش خشکی روبرو هستند. پژوهش حاضر، به‌منظور بررسی برهمکنش اثر پیش‌تیمار نیکل و تنش خشکی حاصل از پلی‌اتیلن‌گلایکول بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و انباشت نیکل در گیاهان سرپنتینی *Cleome heratensis* و غیرسرپنتینی *Cleome foliolosa* انجام شد. نیمی از گلدآنها ی حاوی گیاهچه‌های ۷۵ روزه در شرایط هیدروپونیک به‌مدت ۷ روز در محلول دارای ۲۰ میکرومولار نیکل قرار گرفتند. در نهایت به گلدآنها ی دارا یا فاقد نیکل با استفاده از غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلایکول، تنش خشکی (صفر، ۰/۳- و ۰/۹- مگاپاسگال) به‌مدت ۷ روز اعمال گردید. ارزیابی‌ها نشان داد نسبت ساقه به ریشه گیاه سرپنتینی برخلاف گیاه غیرسرپنتینی در شرایط تنش خشکی با حضور نیکل کاهش معنی‌داری داشت و محتوای نسبی آب گونه سرپنتینی نیز در بالاترین سطح تنش خشکی نسبت به تیمار مشابه فاقد نیکل در مقایسه با گروه شاهد بهبود یافت. گیاه سرپنتینی، برخلاف گیاه غیرسرپنتینی بیشتر نیکل را در ریشه انباشت کرده و با شروع تنش خشکی میزان تجمع آن، در ریشه افزایش و انتقال آن را به اندام‌های هوایی کاهش داد. میزان رنگیزه گیاه غیرسرپنتینی در حضور نیکل به‌جز بالاترین سطح تنش خشکی کاهش داشت. مقدار فنل کل گونه سرپنتینی برخلاف گونه غیرسرپنتینی در حضور نیکل نسبت به تیمارهای مشابه فاقد نیکل افزایش قابل‌توجهی داشت که با فعالیت آنزیم فنل‌آلانین‌آمونیالیاز در بالاترین سطح تنش در هر دو گونه مطابقت داشت. بنابراین به نظر می‌رسد نیکل در افزایش تحمل گیاهان سرپنتینی به خشکی نقش مؤثری داشته باشد که نشان‌دهنده وابستگی ژنوتیپی این گیاهان به نیکل برای سازگاری به مناطق سرپنتینی است.

واژه‌های کلیدی: *Cleome heratensis*، *Cleome foliolosa*، نیکل، تنش خشکی، فنل کل، فنل‌آلانین‌آمونیالیاز

مقدمه

رشد و توالی گیاهان بومی به‌ویژه در مراحل ابتدایی تکامل، به مواد اولیه در بستر خاک وابسته است (Rajakaruna and Boyd, 2008). خاک‌های سرپنتینی (Serpintine soils) با ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی منحصربه‌فردی چون، نسبت پایین کلسیم به منیزیم، کمبود عناصر غذایی (N, P, K)، سمیت یا فراوانی فلزات سنگین (Ni, Cr, Co)، تنش خشکی و فرسایش شناخته می‌شوند که عملکرد گیاهان را کاهش داده و

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Behsalehi@pnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

باعث ایجاد تنش و سمیت در گونه‌های غیرسازگار می‌شود که آن را سندرم سرپنتینی می‌نامند. درنتیجه، جوامع گیاهی روییده در خاک‌های سرپنتینی در مقایسه با خاک‌های مجاور، اغلب دارای ترکیب گونه‌ای متفاوت با درجه بالایی از بومی بودن می‌باشند (D'Amico *et al*., 2017; Kazakou *et al*., 2008). استقرار گیاهان در بستر سرپنتینی بسیار دشوار و کندتر از سایر خاک‌هاست زیرا نمو گیاهان به‌شدت تحت تأثیر آزاد شدن عناصر سمی (مانند نیکل و یا Mg بیش‌ازحد) و کمبود عناصر غذایی (Ca, P, K) قرار می‌گیرد (Bonifacio *et al*., 2013).

مناطق سرپنتینی انارک در مرکز ایران و در ناحیه بیابانی با میزان بارش کم (حدود ۱۱۰ میلی‌متر) و دمای بالای بهار و تابستان (بیش از ٤٥ درجه سانتی‌گراد) قرارگرفته که اغلب بارش‌های آن در زمستان و اوایل بهار رخ می‌دهد (Ghaderian and Baker, 2007). درنتیجه با توجه به کاهش بارش، بافت ماسه‌ای و سنگلاخی با رنگ سبز براق تا مایل به آبی (تقریباً سیاه) است که از سنگ بستر (سیلیکات نیکل و منیزیم) منشاء گرفته، منجر به افزایش دمای سطحی خاک شده و خشکی در این مناطق تشدید می‌گردد. از اثرات مخرب تنش خشکی، اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی است که به مهار رشد و در نهایت آسیب سلولی و مولکولی گیاه منجر می‌شود (Shi *et al*., 2015).

نیکل از عناصر کم‌مصرف (۵-۰/۰۱ میکروگرم در گرم وزن خشک) است که برای فعالیت آنزیم‌هایی نظیر اوره‌آز، آنزیم های آنتی‌اکسیدان (هیدروژناز و سوپراکسید دیسموتاز)، کربن مونواکسید دهیدروژناز و استیل کوانزیمآ سنتاز ضروری است. مشابه مابقی فلزات سنگین، افزایش غلظت آن در خاک علاوه بر اختلال در جذب آب باعث تولید آبسزیک اسید در برگ‌ها می‌شود که با بسته شدن روزنه‌ها و کاهش هدایتی آب برگ‌ها همراه می‌گردد و با علائم سمی چون، کاهش رشد، کلروزه شدن، نکروزگی و پژمردگی ظاهر می‌شود (Ameen *et al*., 2019; Gajewska *et al*., 2013; Gerendás *et al*., 1999). گیاهان بومی مناطق سرپنتینی به بالاترین سطح فلزات سنگینی مانند نیکل مقاوم هستند که آنها را فلزدوست (metallophyte) می‌نامند (van der Ent *et al*., 2013). این گیاهان بر اساس میزان انباشت فلز در اندام‌های هوایی و زیرزمینی به ترتیب به‌عنوان بیش‌انباشت‌گر (Hyperaccumulator) و محدودکننده (Excluders) معرفی شده‌اند. گیاهان محدودکننده از طریق ترشح اسیدهای آلی از ورود فلزات سنگین به ریشه جلوگیری نموده و یا بواسطه داشتن دیواره سلولی قطورتر، آنها را در محیط آپوپلاستی ریشه محبوس می‌کنند (Baker, 1981).

از آنجایی که ریشه اولین قسمتی از گیاه است که در معرض سمیت نیکل قرار می‌گیرد، علائم سمیت نیکل در ریشه بیشتر از اندام‌های هوایی پدیدار شده و نسبت ریشه به اندام های هوایی کاهش می‌یابد (Gajewska and Skłodowska, 2008) از طرفی دیگر غلظت بالای نیکل از جذب کاتیون‌های دیگر بخصوص آهن جلوگیری نموده بنابراین علائم کمبود آن با کاهش رنگیره‌های فتوسنتزی پدیدار می‌گردد (Ameen *et al*., 2019).

ترکیبات فنلی حداقل دارای یک حلقه آروماتیک (شش کربنه) هستند که عمدتاً از اسید سینامیک سنتز شده و از فنیل-آلانین به‌وسیله عمل آنزیم L- فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) شکل می‌گیرند (Michalak, 2006). آنتوسیانین‌ها گروهی از فلاوونوئیدها با خواص آنتی‌اکسیدانتی هستند که دارای توانایی جذب رادیکال‌های اکسیژن به میزان ٤ برابر بیشتر از اسید آسکوربیک و آنالوگ ویتامین E هستند (Gould *et al*., 2002; Rice-Evans *et al*., 1997) و قادرند به‌طور مستقیم گونه‌های اکسیژن واکنش‌گری (ROS) همچون پراکسید هیدروژن، اکسیژن رادیکالی، آنیون سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل را خنثی کنند (Yamasaki *et al*., 1996). در تحقیقاتی که روی سیب‌زمینی انجام شد، مشخص گردید بیان ژن تولیدکننده فنل در گیاه تحت تنش خشکی افزایش یافته و در نهایت موجب افزایش این ترکیب‌ها می‌شود (André *et al*., 2009). از طرفی میزان آنها در سمیت نیکل (Drzewiecka *et al*., 2017) و دیگر فلزات نیز افزایش می‌یابد (Emamverdian *et al*., 2015; Naikoo *et al*., 2019).

گیاه سرپنتینی *Cleome heratensis* از خانواده Capparidaceae، گونه‌های روییده در این مناطق بوده که به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

علت انباشت نیکل در ریشه به عنوان یک گیاه مقاوم و همچنین پالاینده نیکل معرفی شده است (Asemaneh *et al*., 2007). در گزارش‌های قبلی ما اثر مثبت نیکل بر تحمل به تنش خشکی گونه سرپنتینی *Cleome heratensis* از طریق اندازه‌گیری رشد، میزان ترکیبات سازگار و فعالیت آنتی اکسیدانتی در مقایسه با گونه غیرسرپنتینی اثبات گردید (Salehi -Eskandari *et al*., 2017). از آنجایی گزارش‌های معدودی از پیش تیمار نیکل و برهمکنش همزمان تنش خشکی و تیمار نیکل در گیاهان بر ترکیبات فنلی وجود دارد، لذا هدف از این پژوهش بررسی تغییرات برخی از شاخص‌های رشد، میزان نیکل (در ریشه و اندام‌های هوایی) و صفات فیزیولوژیکی به‌ویژه ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم کلیدی PAL در مسیر بیوسنتزی این ترکیبات در حضور نیکل و تحت تنش خشکی حاصل از پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ (PEG) در گیاهان سرپنتینی *Cleome heratensis* و غیرسرپنتینی *C foliolosa* می‌باشد. داده‌های این تحقیق می تواند درک بهتری از اثر نیکل بر مقاومت به تنش خشکی گیاهان سرپنتینی از طریق بررسی ترکیبات فنلی و الگوی تجمع نیکل در اندام‌ها ارائه نماید.

مواد و روش‌ها

دانه‌های *C.heratensis* و *C. foliolosa* به ترتیب روییده در مناطق سرپنتینی انارک و ناحیه غیرسرپنتینی صفه اصفهان در اواخر مهرماه سال ۱۳۹۶، حداقل از ۷۰ گیاه بوته روییده در این مناطق جمع‌آوری و سپس در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سطوح بذرها با محلول هیپوکلرید سدیم ۱۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شده و سپس چندین بار با آب معمولی شستشو داده شدند. پس‌ازآن بذرها به گلدآنها ی حاوی پرلیت در اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۲۰۰ میکرو مول فوتون بر مترمربع بر ثانیه منتقل و تا ایجاد اولین برگ در گیاهچه‌ها با آب مقطر آبیاری شدند. دو عدد از گیاهچه‌های یکدست به گلدآن‌های پلاستیکی با حجم ۴۵۰ سی‌سی (قطر ۸/۵ و ارتفاع ۱۱/۵ سانتی‌متر) منتقل و با محلول غذایی هوگلند یک‌چهارم اصلاح‌شده به مدت ۷۵ روز تغذیه و هوادهی شدند (Salehi -Eskandari *et al*., 2017). برای تعیین غلظت تیمار نیکل آزمایشات اولیه انجام شد و در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که غلظت ۲۰ میکرو مولار نیکل ($NiSO_4 \cdot 6H_2O$) هیچ نوع اثر سمیتی در گونه سرپنتینی ندارد بنابراین این غلظت جهت ادامه آزمایش‌ها انتخاب گردید. نیمی از گیاهان رشد یافته در محیط هوگلند با غلظت ۲۰ میکرو مولار نیکل به مدت ۷ روز تیمار شدند. سپس گیاهان دارا یا فاقد تیمار نیکل توسط غلظت‌های ۰، ۱۵/۷ و ۲۵/۴ درصد پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ (PEG) به مدت ۷ روز دیگر تحت تحت تنش خشکی قرار گرفتند که طبق معادله Money (۱۹۸۹) به ترتیب پتانسیل اسمزی معادل ۰، ۰/۳- و ۰/۹- مگاپاسکال ایجاد می‌کردند (Money, 1989). در طی این مدت، محلول‌های غذایی هر ۴ روز با محلول‌های غذایی تازه مشابه جایگزین شدند.

اندازه‌گیری نسبت اندام‌های هوایی به ریشه، محتوای نسبی آب برگ و غلظت نیکل: پس از برداشت، اندام‌های هوایی و ریشه‌ها از یک‌دیگر جدا و توزین شدند سپس به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و مجدداً برای وزن خشک توزین شدند. یکی از معیارهای مقاومت به خشکی کاهش نسبت ساقه به ریشه است که از تقسیم وزن خشک ساقه به ریشه محاسبه گردید. میزان محتوای نسبی آب برگ (Relative Water Content; RWC) از این رابطه محاسبه شد. RWC (%) = FW-DW/TW-DW **TW, FW, DW** به‌ترتیب از چپ به راست، نشانگر وزن خشک، تر و آماس شده (نمونه‌های برگی، ۷ ساعت در آب مقطر دیونیزه قرار گرفتند) از نمونه‌های برگی کامل است.

برای اندازه گیری میزان نیکل، یک دهم گرم از نمونه‌های گیاهی خشک و خرد شده جهت هضم اسیدی به لوله‌های شیشه‌ای حاوی ۳ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۵ درصد منتقل و به‌مدت ۲۴ ساعت در آن شرایط نگهداری شدند سپس به‌مدت ۳ ساعت در حمام آب گرم ۹۶ درجه حرارت در زیر هود قرار گرفتند. پس از سرد شدن به آنها ۱ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (۳۵

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

درصد) افزوده و مجددا ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شدند تا محلول بی‌رنگی ایجاد شود. حجم نهایی نمونه‌ها پس از عبور از صافی با آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسید (صالحی اسکندری و قادریان ۱۳۹۷). مقدار نیکل توسط دستگاه طیف سنج اتمی (AAS, Shimadzu model 6200) اندازه گیری شد (Shi *et al.*, 2015). میزان نیکل در هر تیمار از حاصل ضرب میزان نیکل در یک گرم ماده خشک (اندام‌های هوایی و ریشه) در میزان ماده خشک آنها محاسبه شد و میزان نیکل هر گیاه برحسب میکرو گرم در گرم بافت خشک ارائه شد.

سنجش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتری: سنجش مقدار کلروفیل a و b به روش Arnon (۱۹٤۹) انجام شد(Arnon, 1949). برای استخراج این رنگیزه‌ها، ۰/۱ گرم برگ (بدون دمبرگ) در استن ۸۰ درصد خوب سائیده شد. پس از سانتریفوژ و صاف کردن، جذب آنها در طول‌موج‌های، ٦٤٥ و ٦٦٣ نانومتر خوانده شد. نتایج طبق رابطه مربوطه محاسبه و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه و ارائه گردید.

اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین‌ها: عصاره متانول اسیدی حاصل از ۰/۱ گرم از نمونه‌ها با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص بعلاوه اسیدکلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) به مدت ٢٤ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه، در دور rpm ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ و جذب محلول رویی آنها در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر ثبت شد برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی $M^{-1}\ Cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ استفاده شد (Wanger, 1979).

اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی: محتوای ترکیبات فنلی کل با استفاده از روش Velioglu و همکاران (۱۹۹۸) انجام گردید (Velioglu *et al.*, 1998). ۰/۱ گرم از نمونه‌ها با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد دارای اسیدکلریدریک ۱ درصد سائیده و در تاریکی به مدت ٤٨ ساعت نگه‌داری شدند. مخلوط حاضر در ۳۰۰۰g سانتریفوژ شده و از محلول فوقانی و با معرف فولین سیوکالتو جهت تعیین ترکیبات فنلی کل استفاده شد. با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک غلظت ترکیبات فنلی کل ارزیابی و برحسب میکروگرم بر گرم وزن‌تر گزارش گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PAL: عصاره گیری و ارزیابی فعالیت آنزیم‌ها بر اساس روش Beaudoin-Egan و Thorpe (۱۹۸۵) انجام شد (Beaudoin-Egan and Thorpe, 1985). ۰/۱ گرم از بافت‌های تازه از هر تیمار با ۲ میلی‌لیتر بافر تریس – اسیدکلریدریک (۵۰ میلی مولار با اسیدیته ۸/۵ دارای ۱۵ میلی‌مولار بتا–مرکاپتواتانول) عصاره‌گیری شد و به مدت ۱۰ دقیقه در g ٤۰۰۰ با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مخلوط واکنش برای فعالیت آنزیمی شامل ٦ میکرو مول فنیل آلانین، ۵۰۰ میکرو مول بافر Tris-HCl ۰/۰۵ مولار با اسیدیته ۸/۱ و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر بود. مخلوط واکنش در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦۰ دقیقه قرار گرفت و بعد از این مدت با افزودن ۵۰ میکرو لیتر HCl ۵ نرمال واکنش متوقف شد. فعالیت آنزیم بر اساس میزان جذب اسید سینامیک تولیدشده در طول موج ۲۹۰ نانومتر ارزیابی شد. برای سنجش آنزیم‌ها میزان پروتئین عصاره‌ها با استفاده از کوماسی بلو با روش Bradford (۱۹۷٦) اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976) و فعالیت آنزیم برحسب نانو مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

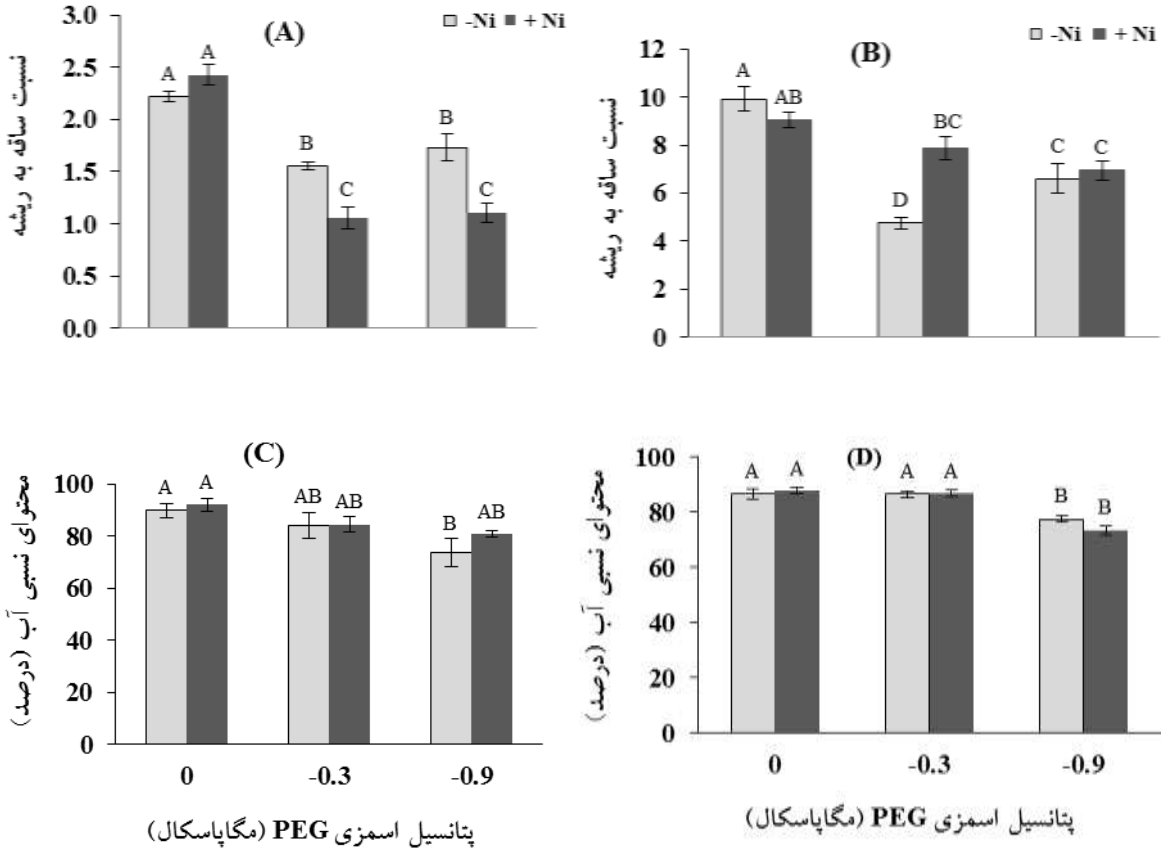
تحلیل آماری: کلیه آزمایش‌ها بر طبق طرح کاملاً تصادفی و با حداقل سه تکرار انجام شد و تجزیه و کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 20 و با آزمون Two-way ANOVA تحلیل شدند میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال کمتر از پنج درصد مقایسه شدند و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر نیکل بر نسبت اندام‌های هوایی به ریشه، محتوای نسبی آب برگ گیاهان تحت تنش خشکی: نتایج نشان داد نسبت وزن خشک ساقه به ریشه در سطوح مختلف تنش خشکی بدون حضور نیکل در هر دو گیاه سرپنتینی و غیر سرپنتینی (شکل ۱– A, B) به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد کاهش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]



شکل۱- اثر نیکل (۲۰mM) بر نسبت اندام‌های هوایی به ریشه و محتوای نسبی آب، گیاه سرپنتینی *C.heratensis* (A, C) و گیاه غیرسرپنتینی *C. foliolosa* (B, D,)، تحت تنش خشکی حاصل از PEG 6000 (میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیرمشابه، بیانگر معنی‌دار بین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن(P<۰/۰۵) است.

یافت. این موضوع بیانگر، افزایش رشد ریشه برای جذب بیشتر آب است همچنین کاهش سطح و تعداد برگ گیاهان، سازوکار مؤثری در جلوگیری از اتلاف آب است (Boldaji *et al.*, 2012). اما در حضور نیکل به‌همراه تنش خشکی کم (۰/۳- مگا پاسکال) و زیاد (۰/۳- مگا پاسکال) کاهش نسبت وزن خشک ساقه به ریشه در گیاه سرپنتینی *C .heratensis* (شکل ۱- A) نسبت به تیمارهای مشابه فاقد نیکل به ترتیب ۳۲ و ۳۶ درصد بود ($P< 0.05$). اما در گیاه غیرسرپنتینی این نسبت در حضور نیکل به ترتیب ٦٥ و ٤٩ درصد افزایش داشت (شکل ۱- B) که نشان‌دهنده اثر سمیت نیکل بر رشد ریشه گیاهان غیرسرپنتینی است. مطابق با نتایج پیشین ما این سمیت به علت عدم سازگاری گیاه غیرسرپنتینی برای تجمع نیکل در ریشه است (Salehi -Eskandari *et al.*, 2017). در حضور نیکل، وزن خشک‌ریشه این گیاه در تمام تیمارها برخلاف گیاه سرپنتینی کاهش یافت. کاهش رشد ریشه سبب اختلال در جذب آب و املاح شده که نتیجه آن کاهش رشد و تقسیم سلولی است (Gajewska and Skłodowska, 2008). از طرفی کاهش تجمع نیکل در اندام‌های هوایی گیاه سرپنتینی تحت تنش خشکی برخلاف گیاه غیرسرپنتینی، به دلیل کاهش انتقال نیکل از ریشه به اندام‌های هوایی است که میزان این کاهش در تنش خشکی کم و شدید به ترتیب ۵۲ و ۵۹ درصد گروه شاهد بود. درنتیجه در گیاه غیرسرپنتینی، کاهش رشد اندام‌های هوایی به دو دلیل سمیت نیکل (در اندام‌های هوایی) و کاهش رشد ریشه پدیدار می‌شود. این داده‌ها با نتایج سایر پژوهش‌ها مطابقت دارد (Gajewska *et al.*, 2013). طبق جدول آنالیز واریانس (جدول ۱) تمام برهمکنش‌های دو عامل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر خشکی، نیکل و گونه و برهمکنش اولیه و ثانویه آن‌ها بر صفات رویشی و میزان رنگیزه‌های کلروفیلی، آنتوسیانین، فنل کل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین‌آمونیالیاز (PAL)

	مجموع مربعات						
منابع تغییرات	نیکل	خشکی	گونه	نیکل* خشکی	نیکل* گونه	خشکی * گونه	نیکل* خشکی*گونه
نسبت وزن خشک اندام هوایی / ریشه	۰/٦۹	۳۱/۱***	۳۰۷/۹***	٤/۸**	۳/۰٤**	۸/۱***	۸/۲***
محتوی نسبی آب	۰/٦۹	۱۰۲۷/۹***	۸/۵	۳/۳	۳٦/۸	۵٦/۸	۵۳/۳
نیکل ساقه	---	٤۸/۹	٤٤۹٤/۳***	---	---	۹/۷	---
نیکل ریشه	---	٤۱۱/۹**	۱۰۳/٤***	---	---	٤۰٦/٦**	---
کلرفیل a	۰/۰۳۳	۰/۲٦	۳/۵***	۰/۰۱٦	۰/۳۹**	۰/۰۷	۰/۰۸
کلرفیل b	۰/۰۱۳	۰/۱۲*	۱/۵***	۰/۰۰۳	۰/۱*	۰/۰۲۸	۰/۰۳
آنتوسیانین	۰/۰۰٦	۰/۰۹٦***	۳/۷***	۰/۰۱۲	۰/۰۸۹***	۰/۰۱۷	۰/۰۳۸
فنل کل	۳۱۹۲/۹***	۱۰۲۲/۲**	٦۰۸/٤**	۲۵۷/۹	۱۱۵٤۳/٤***	۷۱۳/٦۳**	۲۸۱/٦۲
فعالیت آنزیم PAL	۰/۰۰۲	۰/۰۱۱***	۰/۰۸***	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۹***	۰/۰۰۷***

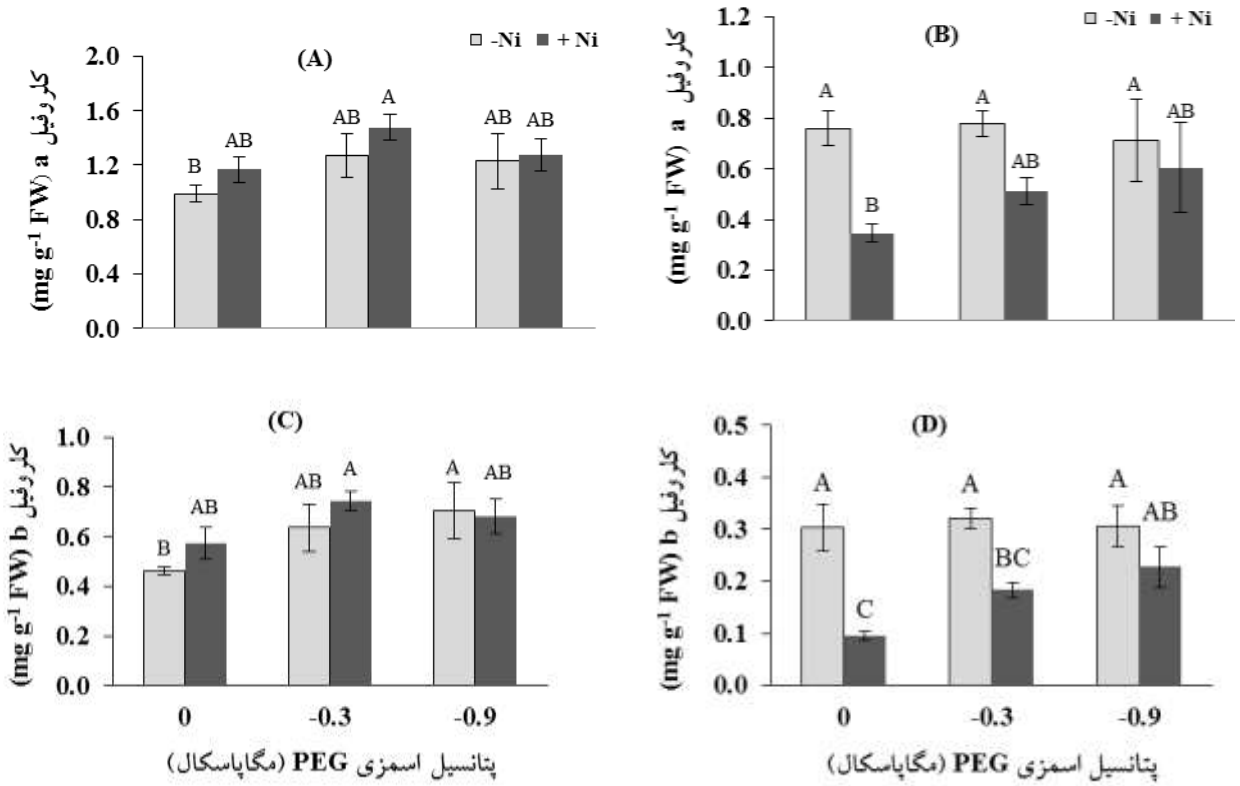
***معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد،** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و *** معنی‌دار در سطح احتمال کمتر از ۱ درصد**

و سه عاملی بر نسبت ساقه به ریشه اثر معنی‌دار داشت که بیان‌گر اثر متضاد نیکل بر نسبت ساقه به ریشه در این دو گونه است. محتوای نسبی آب هر دو گیاه در محیط کشت‌های فاقد نیکل در بالاترین سطح تنش خشکی (۰/۹- مگا پاسکال) نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار داشتند ($P< 0.05$). اما در حضور نیکل فقط در گیاه سرپنتینی *C. heratensis* این کاهش معنی‌دار نبود (شکل ۱- C, D) که نشان‌دهنده تأثیر مثبت نیکل برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی است. این نتایج با یافته های قبلی ما در گیاه سرپنتینی مطابقت داشته که در حضور نیکل، کاهش پتانسیل اسمزی و حفظ تورژسانس درنتیجه تجمع بیشتر اسموتیکوم‌های پرولین و گلایسین بتائین رخ می دهد (Salehi -Eskandari *et al*., 2017).

اثر نیکل بر محتوای کلروفیل a و b گیاهان تحت تنش خشکی: میزان کلروفیل a در تمام سطوح خشکی در محیط های غذایی فاقد نیکل، در هر دو گیاه سرپنتینی و غیرسرپنتینی تغییر معنی‌داری نداشت. مقدار آن در گیاه سرپنتینی (*C. heratensis*) با حضور نیکل در اولین سطح تنش خشکی (۰/۳- مگا پاسکال) افزایش معنی‌داری (٤۹ درصدی) نسبت به تیمار شاهد فاقد نیکل داشت (شکل ۲- A) اما وجود نیکل در محیط کشت‌های گیاه غیرسرپنتینی (*C. foliolosa*) موجب کاهش معنی‌دار کلروفیل a شد که این کاهش فقط در گروه شاهد معنی‌دار بود (شکل ۲- B). کلروفیل b در تیمارهای مختلف تنش خشکی فاقد نیکل *C. foliolosa* تغییر معنی‌داری نداشت اما در بالاترین سطح تنش خشکی (۰/۹- مگا پاسکال) میزان کلروفیل b گیاه سرپنتینی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت (شکل ۲- C). با حضور نیکل میزان کلروفیل b گیاه سرپنتینی در تیمارهای خشکی تغییر معنی‌دار نسبت به تیمارهای مشابه فاقد نیکل نداشت اما میزان کلروفیل b گیاه غیرسرپنتینی با حضور نیکل نسبت به تیمارهای مشابه فاقد نیکل در گروه شاهد، تنش خشکی کم و شدید به ترتیب کاهش ٦۸/۸، ٤۳ و ۲۵/۷ درصدی نشان داد که این کاهش فقط در تیمار شاهد و اولین سطح تنش خشکی (۰/۳- مگا پاسکال) معنی‌داری بود (شکل ۲- C, D). طبق جدول آنالیز واریانس (جدول ۱) اثر گونه به‌تنهایی و برهمکنش‌های دو عامل نیکل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]



شکل۲- اثر نیکل (۲۰mM) بر مقدار کلروفیل a و b گیاه سرپنتینی *C.heratensis* (A, C) و گیاه غیرسرپنتینی *C. foliolosa* (B, D,)، تحت تنش خشکی حاصل از PEG 6000 (میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیرمشابه، بیانگر معنی‌دار بین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن(P<۰/۰۵) است.

بر گونه بر میزان کلرفیل a و b معنی‌دار بود که مجدداً بیان‌گر اثر متضاد نیکل بر میزان کلرفیل a و b در این دو گونه است. کاهش میزان کلروفیل a و b از علائم تنش خشکی معرفی‌شده است که احتمالاً ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از فتواکسیداسیون و تجزیه کلروفیل است (Hajihashemi and Ehsanpour, 2013). اما در این پژوهش میزان کلروفیل a و b نه تنها کاهش نداشت بلکه در گیاهان سرپنتینی برخلاف گیاهان غیرسرپنتینی، با کاهش پتانسیل اسمزی افزایش نشان داد که این افزایش، در کلرفیل b و در بالاترین سطح تنش (۰/۹- مگا پاسکال) نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (P< 0.05) . افزایش میزان کلروفیل در تنش خشکی می‌تواند ناشی از کاهش حجم سلول‌ها باشد که با تجمع رنگدانه‌ها نمایان می‌شود (Chutia and Borah, 2012). استفاده از نیکل در محیط موجب کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل (a و b) گیاه غیرسرپنتینی نسبت به تیمارهای مشابه فاقد نیکل شد. برخلاف گونه سرپنتینی این کاهش در تیمار شاهد دارای نیکل نیز مشهود بود. کلروزه شدن از علائم مشترک سمیت فلزات سنگین همچون نیکل است (Pandey and Sharma, 2002). کاهش محتوای رنگیزه‌ها با اختلال در سنتز این رنگدانه‌ها (Gajewska *et al*., 2006) یا افزایش تجزیه آنها مرتبط است (Somashekaraiah *et al*., 1992). با توجه این‌که شروع کاهش رنگیزه‌ها در برگ‌های فوقانی (گیاهان غیرسرپنتینی) رخ می-دهد احتمالاً این کاهش ناشی از اختلال در بیوسنتز آنها ست. کلروفیل b در گیاهان غیرسرپنتینی *C. Foliolosa* در تیمارهای دارای نیکل حساسیت بیشتری نسبت کلروفیل a داشت. نتایج ما در مورد گیاهان غیرسرپنتینی با یافته Fargašová در سال ۱۹۹۸ و Gopal و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت دارد (Fargašová, 1998; Gopal *et al*., 2002). اما برخلاف یافته

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

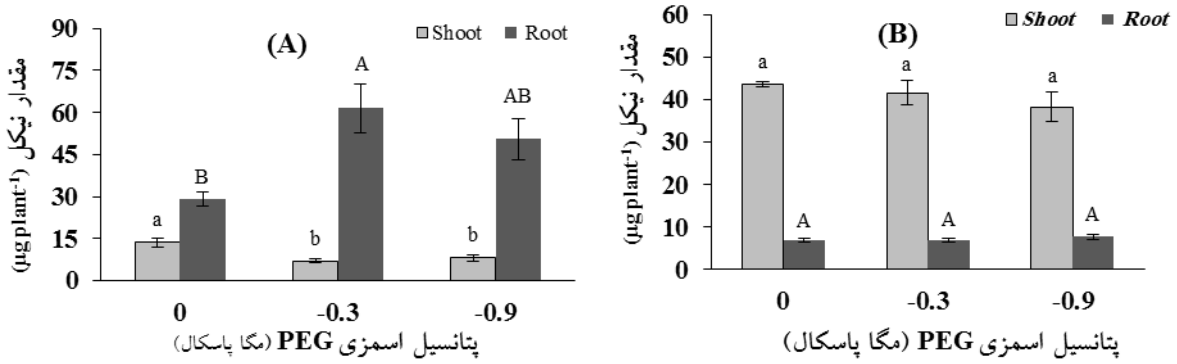
های Pandey و Sharma (۲۰۰۲) است که نشان دادند حساسیت کلروفیل a برگ‌های کلم تیمار شده به نیکل نسبت به کلروفیل b بیش‌تر است (Pandey and Sharma, 2002). احتمالاً پیش‌تیمار نیکل در گیاه سرپنتینی قبل از شروع تنش خشکی به‌عنوان عامل تنش‌زای خفیف عمل کرده و سیستم حفاظتی آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه را در راستای نقش حفاظتی فعال کرده تا میزان صدمات حاصل از خشکی کاهش دهد. اما در گیاه غیرسرپنتینی حضور نیکل سیستم حفاظتی، را کاهش داده و باعث نمایان شدن علائم سمیت آن می‌گردد همراه شدن آن با تنش خشکی باعث مضاعف شدن اثرات تنش خشکی خواهد شد که این نتایج در برهمکنش نیکل و گونه در کلروفیل a و b جدول آنالیز واریانس نیز مجدداً تأیید می‌گردد.

اثر تنش خشکی بر میزان تجمع نیکل: نتایج اثر تنش خشکی برجذب نیکل (شکل ۳) نشان داد که جذب نیکل با تنش خشکی در ریشه‌های گیاه سرپنتینی *C.heratensis*، افزایش یافت. این افزایش در تنش خشکی کم (۰/۳- مگاپاسکال) و شدید (۰/۹- مگاپاسکال) به ترتیب ۲/۱ و ۱/۷ برابر نسبت به گروه شاهد افزایش داشت که این افزایش فقط در اولین سطح تنش (۰/۳- مگاپاسکال)، معنی‌دار است و سطوح مختلف تنش خشکی ازلحاظ آماری در یک سطح قرار گرفتند (شکل ٤- A). میزان نیکل در اندام‌های هوایی گیاه سرپنتینی تحت تأثیر خشکی کم و شدید به ترتیب ٤۷/۹ و ٤۰/٦ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش داشت ($P< 0.05$) اما مجدداً سطوح مختلف تنش خشکی باهم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P> 0.05$). شکل ٤- B نشان داد، میزان نیکل در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه غیرسرپنتینی *C. foliolosa*، تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفت و اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش با گروه شاهد مشاهده نشد ($P> 0.05$). گیاه سرپنتینی *C.heratensis*، بیشترین تجمع فلز را در ریشه خود داشته بنابراین آن را در گروه گیاهان فلز دوست محدودکننده قرار داده‌اند (Salehi -Eskandari et al., 2017; Asemaneh et al., 2007). گیاه سرپنتینی *C.heratensis*، با افزایش تجمع نیکل در ریشه آن را کمتر به اندام‌های هوایی انتقال می‌دهد. این کاهش انتقال نیکل به اندام هوایی، با تنش خشکی تشدید می‌شود تا از ورود بیش‌ازحد فلز سنگین به اندام‌های هوایی خود جلوگیری کرده و از بروز اثرات سمی آن مانند، کاهش جذب کاتیون‌های ضروری و برهم زدن تعادل آبی گیاهان ممانعت به عمل آورد (Poschenrieder and Barceló, 2004). برخلاف گیاه سرپنتینی میزان تجمع نیکل در اندام‌های هوایی گیاه غیرسرپنتینی *C. foliolosa* بیشتر از ریشه است و میزان آن تحت تأثیر تنش خشکی قرار نمی‌گیرد به همین دلیل گیاهان غیرسرپنتینی با تنش مضاعف خشکی و فلز سنگین نیز روبرو خواهند شد. طبق جدول ۱، اثر متقابل گونه و خشکی بر مقدار نیکل در ریشه معنی‌دار شد ($P< 0.05$). بنابراین گیاه سرپنتینی در مواجه با خشکی نیکل بیشتری در ریشه انباشت کرده و آن را به اندام‌های هوایی کمتر انتقال می‌دهد که نشان‌دهنده سازگاری ژنوتیپی آنها به نیکل است که از آن برای بهبود مقاومت به خشکی استفاده می‌برند.

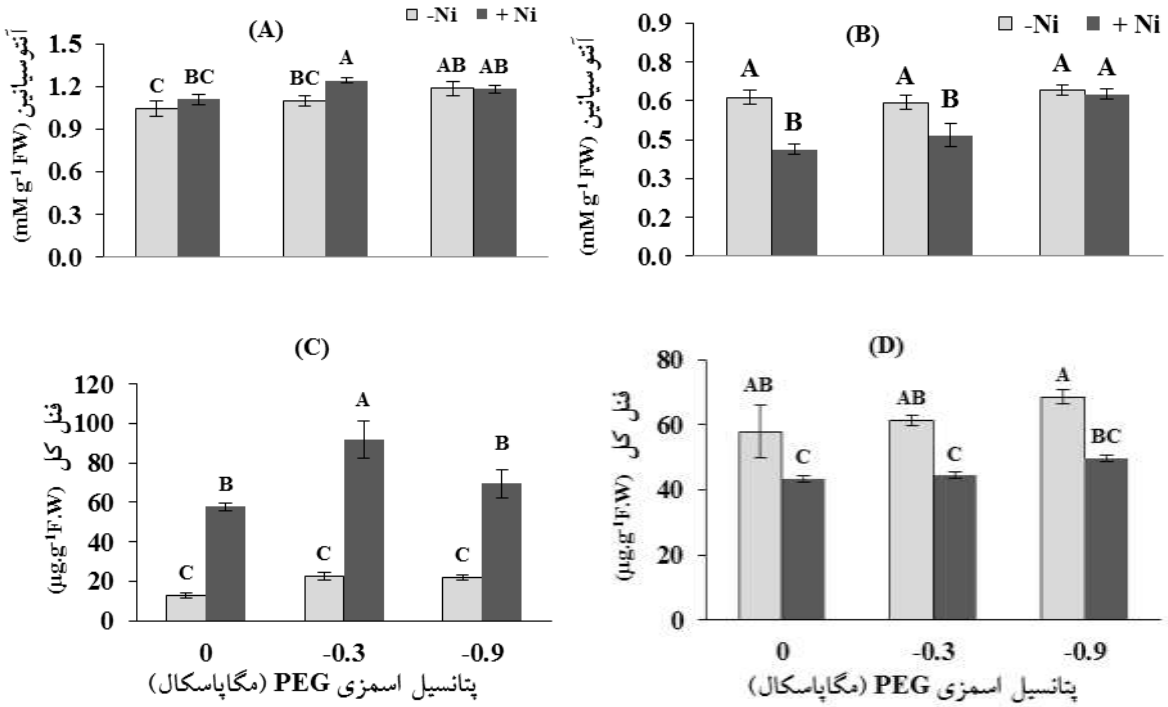
اثر نیکل بر میزان آنتوسانین و فنل کل گیاهان تحت تنش خشکی: همان‌طور که در شکل ٤-A نشان داده‌شده، میزان آنتوسیانین گیاه سرپنتینی با افزایش تنش خشکی در محیط دارا یا فاقد نیکل نسبت به گروه شاهد افزایش داشت ($P< 0.05$). در این گیاه اولین سطح تنش خشکی (۰/۳- مگا پاسکال) باوجود نیکل در مقایسه محیط‌های مشابه فاقد نیکل افزایش معنی‌داری از آنتوسیانین را نشان داد ($P< 0.05$). در گیاه غیرسرپنتینی (*C. foliolosa*) سطوح مختلف تنش خشکی باهم اختلاف معنی‌داری نداشتند و در حضور نیکل در محیط فقط در بالاترین سطح تنش (۰/۹- مگا پاسکال) کاهش معنی‌دار آنتوسیانین برگ‌ها مشاهده نشد (شکل ٤-B). میزان فنل کل هر دو گیاه، تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی قرار نگرفت اما وجود نیکل در محیط کشت گیاه سرپنتینی (*C. heratensis*) در مقایسه با تیمارهای مشابه فاقد نیکل به ترتیب در تیمارهای تنش خشکی صفر ، ۰/۳- و ۰/۹- مگا پاسکال موجب افزایش ٤/۲، ٤/۱ و ۳/۲ برابری شد و بیشترین میزان فنل در پایین‌ترین سطح تنش خشکی (۰/۳- مگا پاسکال) مشاهده شد (شکل ٤- C). برخلاف آن حضور نیکل در محیط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]



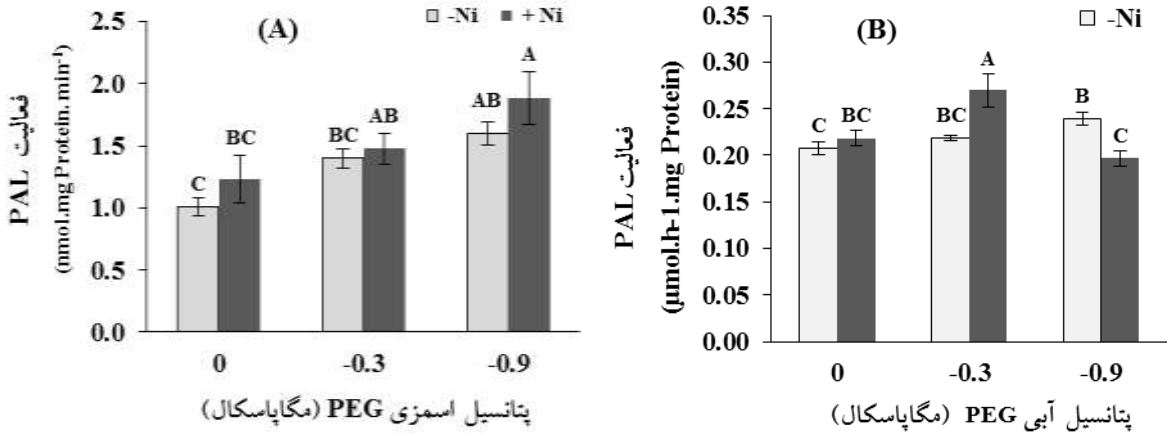
شکل۳- اثر نیکل (۲۰mM) بر مقدار نیکل اندام‌های هوایی و ریشه گیاه سرپنتینی *C.heratensis*، (A) و گیاه غیرسرپنتینی .Cشکل۳ -اثر نیکل (۲۰) mMبر مقدار نیکل اندامهای هوایی و ریشه گیاه سرپنتینی *C.heratensis* (A) و گیاه غیرسرپنتینی *C. foliolosa*، (B) تحت تنش خشکی حاصل از PEG 6000 (میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیرمشابه (حروف بزرگ ریشه و حروف کوچک اندام‌های هوایی)، بیانگر معنی‌دار بین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن(۰۵/ ۰> P) است.



شکل٤- اثر نیکل (۲۰mM) بر محتوای آنتوسیانین و فنل کل گیاه سرپنتینی *C.heratensis*، (A, C) و گیاه غیرسرپنتینی *C. foliolosa*، (B, D,) تحت تنش خشکی حاصل از PEG 6000 (میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیرمشابه، بیانگر معنی‌دار بین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن(*P* <۰/۰۵) است.

گیاه غیرسرپنتینی (*C. foliolosa*) موجب کاهش معنی‌دار فنل کل در تمام تیمارها نسبت به تیمارهای مشابه فاقد نیکل شد (شکل ٤- D). ترکیبات فنلی و آنتوسیانین از متابولیت‌های ثانویه هستند که به‌عنوان کلاته کننده فلزات محسوب شده (Yamasaki *et al*., 1996) و از مهم‌ترین آنتی اکسیدانت‌های گیاهی هستند. غلظت این ترکیبات در شرایط تنش می‌تواند

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]



شکل۵- اثر نیکل (۲۰mM) بر فعالیت آنزیم PAL و TAL گیاه سرپتینی *C.heratensis*، (A) و گیاه غیرسرپتینی *C. foliolosa*، (B) تحت تنش خشکی حاصل از PEG 6000 (میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیرمشابه، بیانگر معنی‌دار بین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن(۰۵/ ۰ >P) است.

تغییر یابد به‌طوری‌که افزایش آنها تحت تنش خشکی، نقش حمایتی آنها در خنثی کردن گروه‌های ROS را تأیید می‌نماید. این افزایش سبب ثبات غشاهای سلولی و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (Gholami *et al*., 2012; Salehi -Eskandari *et al*., 2017). Kisa و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که افزودن فلزات سنگین (مس، سرب و کادمیوم) موجب افزایش فنل کل در برگ گیاهچه‌های ذرت می‌شود (Kısa *et al*., 2016). با توجه به نتایج قبلی ما در مورد گیاه سرپنینی *F. garcinii*، (صالحی اسکندری و قادریان، ۱۳۹۷) و اثر معنی‌دار برهمکنش‌های دوعاملی نیکل و گونه بر میزان آنتوسیانین و فنل کل ($P< 0.01$)، حضور نیکل در خاک‌های سرپنینی عامل اصلی القاء تولید ترکیبات فنلی است.

اثر نیکل بر میزان فعالیت آنزیم PAL گیاهان تحت تنش خشکی: با توجه به شکل ۵، میزان فعالیت آنزیم PAL گیاه سرپتینی (*C. heratensis*) در محیط فاقد نیکل، در تنش خشکی شدید (۰/۹- مگا پاسکال) و همچنین در حضور نیکل و تیمارهای خشکی شدید و ملایم (۰/۳ و ۰/۹- مگا پاسکال) افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل ۵- A). میزان فعالیت آنزیم PAL گیاه غیرسرپتینی (*C. foliolosa*) در محیط فاقد نیکل در تمام تیمارهای تنش خشکی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($P< 0.05$) اما سطوح مختلف تنش خشکی باهم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P> 0.05$). بیشترین فعالیت این آنزیم در حضور نیکل در اولین سطح تنش (۰/۳- مگا پاسکال) مشاهده شد ولی با افزایش تنش خشکی (۰/۹- مگا پاسکال) توأم با نیکل مجدداً فعالیت آن کاهش یافت و با گروه شاهد در یک سطح قرار گرفت (شکل ۵- B). تمام عوامل و برهمکنش‌ها به‌جز عامل نیکل و برهمکنش دوتایی نیکل و خشکی بر فعالیت آنزیم PAL در سطح کمتر از یک درصد اثر معنی‌دار داشتند (جدول ۱). میزان فنل کل گیاهان سرپنتینی نیز در حضور نیکل در تمام تیمارهای خشکی برخلاف کاهش معنی‌دار آن در گیاهان غیرسرپنتینی افزایش قابل‌توجهی نشان داد که با فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیوم‌لیاز (PAL) در بالاترین سطح تنش خشکی هر دو گیاه مطابقت داشت. این موضوع، نشان‌دهنده سازگاری گیاهان سرپنتینی به فلزات سنگین است که به سازگاری آنها در شرایط تنش خشکی نیز کمک می‌نماید که با یافته‌های ما در پژوهشهای گذشته کاملاً مطابقت دارد (Salehi -Eskandari *et al*., 2017). با توجه به این‌که میزان افزایش فنل کل گیاهان سرپنتینی در حضور نیکل خیلی بیشتر از افزایش میزان آنتوسیانین است، می‌بایست ترکیبات دیگر در این خانواده، همانند فلاون، فلاونول، فلاونون و ایزوفلاون را نیز در نظر داشته باشیم که افزایش هرکدام از آنها می‌تواند اختلاف افزایش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

آنتوسیانین با فنل را جبران نماید. در مورد فعالیت آنزیم PAL در تیمار خشکی کم و شاهد توأم با نیکل، در گیاه سرپنتینی نیز می‌بایست بر بررسی بیشتر فعالیت این آنزیم در شروع تنش توجه داشت احتمالاً تجمع فنل در حضور نیکل از طریق بازخورد منفی، از فعالیت آن جلوگیری می‌نماید.

نتیجه گیری

باتوجه به نتایج می‌توان چنین استنباط کرد که گیاه سرپنتینی *C.heratensis* با تجمع نیکل در ریشه همواره از انتقال آن به اندام‌های هوایی جلوگیری کرده، همچنین مهمترین راهکار مقاومت این گیاه تحت شرایط تنش خشکی، کاهش بیشتر انتقال نیکل به اندام‌های هوایی است. پیش‌تیمار نیکل در این گیاه با افزایش نسبت ریشه به ساقه و تجمع بیشتر اسموتیکم ها، منجر به افزایش محتوای نسبی آب شده است از طرفی، توان آنتی اکسیدانتی آنها با افزایش فنل کل تقویت می‌گردد. اما در گیاه غیرسرپنتینی *C. Foliolosa*، بعلت تجمع بیشتر نیکل در اندام‌های هوایی علاوه بر تنش خشکی با تنش نیکل نیز مواجه است که تنش مضاعفی را به گیاه غیرسرپنتینی اعمال کرده که با کاهش رشد نمایان می‌گردد. بنابراین سازگاری گیاهان سرپنتینی به نیکل بیش از خشکی عامل سازگاری آنها به مناطق سرپنینی است.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور استان اصفهان به دلیل حمایت مالی از این تحقیق صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

این مقاله، تقدیم به روح بلند استاد گرانقدرم مرحوم دکتر قادریان که اوایل اسفند ماه سال ۹۸ آسمانی شد. ایشان از بنیانگذاران مباحث اکوفیزیولوژی در خاک‌های سرپنتینی (خاک‌های سرشار از فلزات سنگین بخصوص نیکل) ایران بودند که در دو دهه فعالیت آموزشی و تحقیقاتی خود در دانشگاه اصفهان توانستند با شناسایی گیاهان بیش انباشت‌گر و مقاوم در این مناطق، مقالات بسیاری در مجلات معتبر دنیا به چاپ برسانند. روحشان شاد و یادشان گرامی.

منابع

صالحی اسکندری، ب. و قادریان، م. (۱۳۹۷).بررسی نقش نیکل در کاهش اثرات تنش خشکی گیاه *Fortuynia garcinii* . مجله فرایند و کارگرد گیاهی ۷: ۱۵۰-۱۳۹.

Ameen, N., Amjad, M., Murtaza, B., Abbas, G., Shahid, M., Imran, M., Naeem, M.A. and Niazi, N.K. (2019) Biogeochemical behavior of nickel under different abiotic stresses: toxicity and detoxification mechanisms in plants. Environmental Science and Pollution Research 26: 10496-10514.

André, C.M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I., Aliaga, C.A.A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., Larondelle, Y. and Evers, D. (2009) Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. Phytochemistry 70: 1107-1116.

Arnon, D.I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.

Asemaneh, T., Ghaderian, S. and Baker, A. (2007) Responses to Mg/Ca balance in an Iranian serpentine endemic plant, *Cleome heratensis* (Capparaceae) and a related non-serpentine species, *C. foliolosa*. Plant and Soil 293: 49-59.

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

Beaudoin-Eagan, L. D. and Thorpe, T. A. (1985). Tyrosine and phenylalanine ammonia lyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. Plant physiology, 78: 438-441.

Bonifacio, E., Falsone, G. and Catoni, M. (2013) Influence of serpentine abundance on the vertical distribution of available elements in soils. Plant and soil 368: 493-506.

Boldaji, S.H., Khavari-Nejad, R., Sajedi, R.H., Fahimi, H. and Saadatmand, S. (2012) Water availability effects on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Acta Physiologiae Plantarum 34: 1177-1186.

Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

Chutia, J. and Borah, S. P. (2012) Water stress effects on leaf growth and chlorophyll content but not the grain yield in traditional rice (*Oryza sativa* Linn.) genotypes of Assam, India II. Protein and proline status in seedlings under PEG induced water stress. American Journal of Plant Sciences 3: 971.

D'Amico, M.E., Freppaz, M., Zanini, E. and Bonifacio, E. (2017) Primary vegetation succession and the serpentine syndrome: the proglacial area of the Verra Grande glacier, North-Western Italian Alps. Plant and Soil 415: 283-298.

Drzewiecka, K., Mleczek, M., Gąsecka, M., Magdziak, Z., Budka, A., Chadzinikolau, T., Kaczmarek, Z. and Goliński, P. (2017) Copper and nickel co-treatment alters metal uptake and stress parameters of *Salix purpurea* × *viminalis*. Journal of Plant Physiology 216: 125-134.

Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F. and Xie, Y. (2015) Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. The Scientific World Journal 2015.

Fargašová, A. (1998) Root growth inhibition, photosynthetic pigments production, and metal accumulation in *Sinapis alba* as the parameters for trace metals effect determination. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 61: 762-769.

Gajewska, E., Skłodowska, M., Słaba, M. and Mazur, J. (2006) Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. Biologia Plantarum 50: 653-659.

Gajewska, E. and Skłodowska, M. (2008) Differential biochemical responses of wheat shoots and roots to nickel stress: antioxidative reactions and proline accumulation. Plant Growth Regulation 54: 179-188.

Gajewska, E., Niewiadomska, E., Tokarz, K., Słaba, M. and Skłodowska, M. (2013) Nickel-induced changes in carbon metabolism in wheat shoots. Journal of Plant Physiology 170: 369-377.

Gerendás, J., Polacco, J.C., Freyermuth, S.K. and Sattelmacher, B. (1999) Significance of nickel for plant growth and metabolism. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 162: 241-256.

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

Gholami, M., Rahemi, M., Kholdebarin, B. and Rastegar, S. (2012) Biochemical responses in leaves of four fig cultivars subjected to water stress and recovery. Scientia Horticulturae 148: 109-117.

Gopal, R., Mishra, K., Zeeshan, M., Prasad, S. and Joshi, M. (2002) Laser-induced chlorophyll fluorescence spectra of mung plants growing under nickel stress. Current Science -Banglaloure 83: 880-884.

Gould, K., McKelvie, J. and Markham, K. (2002) Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H_2O_2 in red and green leaves after mechanical injury. Plant, Cell & Environment 25: 1261-1269.

Hajihashemi, S. and Ehsanpour, A.A. (2013) Influence of exogenously applied paclobutrazol on some physiological traits and growth of *Stevia rebaudiana* under in vitro drought stress. Biologia 68: 414-420.

Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P., Baker, A., Reeves, R. and Troumbis, A. (2008) Hypotheses, mechanisms and trade_offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. Biological Reviews 83: 495-508.

Kısa, D., Elmastaş, M., Öztürk, L. and Kayır, O. (2016) Responses of the phenolic compounds of Zea mays under heavy metal stress. Applied Biological Chemistry 59: 813-820.

Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies 15: 523.

Money, N.P. (1989) Osmotic pressure of aqueous polyethylene glycols relationship between molecular weight and vapor pressure deficit. Plant Physiology 91: 766-769.

Naikoo, M.I., Dar, M.I., Raghib, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., Khan, F.A. and Naushin, F. (2019) Plant Signaling Molecules. In: Role and Regulation of Plants Phenolics in Abiotic Stress Tolerance: An Overview Pp. 157-168. Elsevier Cambridge, UK.

Pandey, N. and Sharma, C.P. (2002) Effect of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. Plant Science 163: 753-758.

Poschenrieder, C. and Barceló, J. (2004).Water Relations in Heavy Metal Stressed Plants. In Heavy Metal Stress in Plants, 249-270 (Ed M. N. V. Prasad). Springer BerlinHeidelberg.

Rajakaruna, N. and Boyd, R. (2008) The edaphic factor. In: Encyclopedia of ecology (eds. Jorgensen, S.E. and Fath, B.) Pp. 1201–1207. Elsevier Oxford, UK.

Rice-Evans, C., Miller, N. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science 2: 152-159.

Salehi -Eskandari, B., Ghaderian, S.M. and Schat, H. (2017) The role of nickel (Ni) and drought in serpentine adaptation: contrasting effects of Ni on osmoprotectants and oxidative stress markers in the serpentine endemic, *Cleome heratensis*, and the related non-serpentinophyte, *Cleome foliolosa*. Plant and Soil 417: 183-195.

Shi, G., Xia, S., Ye, J., Huang, Y., Liu, C. and Zhang, Z. (2015) PEG-simulated drought stress decreases cadmium accumulation in castor bean by altering root morphology. Environmental and Experimental Botany 111: 127-134.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

Somashekaraiah, B., Padmaja, K. and Prasad, A. (1992) Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorphyll degradation. Physiologia Plantarum 85: 85-89.

van der Ent, A., Baker, A.J., Reeves, R.D., Pollard, A.J. and Schat, H. (2013) Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction. Plant and Soil 362: 319-334.

Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 4113-4117.

Wanger, G. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplasts. Plant Physiology 64: 88-93.

Yamasaki, H., Uefuji, H. and Sakihama, Y. (1996) Bleaching of the red anthocyanin induced by superoxide radical. Archives of Biochemistry and Biophysics 332: 183-186.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]

Study of nickel pretreatment on some physiologic traits and growth of the serpintine plant, *Cleome heratensis* and non-serpertine plant, *Cleome foliolosa* under PEG-induced drought stress

Behroz Salehi-Eskandari [1*], Sayed Majied Ghaderian [2]

[1]Department of Biology, Payame Noor University, 19395-4697 Tehran, Iran
[2]Department of Biology, University of Isfahan, Isfahan 81746-73441, Iran
(Received: 10/06/2019, Accepted: 23/09/2019)

Abstract

Plants grown in serpentine soils, in addition to heavy metals among which nickel (Ni) is the most well known are encountered with a lot of edaphically stresses such as drought stress. In this study, we investigated the effect of pretreatment Ni and PEG-simulated drought stress on some physiological parameters and Ni accumulation of the serpintine plant, *Cleome heratensis* and related non-serpertine plant, *Cleome foliolosa*. After 75 days, half number of vessels with grown plants in hydroponic condition, received 20 µM Ni for 7 days, and then plants ± Ni were exposed to drought stress which simulated by PEG in three levels (0, -0.3, or −0.9MPa) for 7 days. Results showed that in serpentine plant populations pretreated with Ni, shoot to root ratio significantly decreased and relative water content improved and these plants accumulated most of Ni in the root with drought stress, meanwhile, accumulation Ni in the root increased and translocation to shoot reduced, Serpentine plant in the highest level of water stress and total phenol amount was enhanced which agreement Phenyle alanin ammonia lyase (PAL) activity in the highest drought stress in *C. heratensis*, but deleterious effect on same parameters in *C. foliolosa.* Thus, it can be suggested that serpentine plants use nickel to increase drought resistance which represent the genotypic dependence of serpentine plants to nickel in order to improve drought stress resistance.

Keywords: *Cleome heartensis*, *Cleome foliolosa*, Nickel, Drought stress, Total phenol, Phenyle alanin ammonia lyase

Corresponding author, Email: Behsalehi@pnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.20.3]