بررسی پاسخ دو رقم جدید گوجه‌فرنگی به کاربرد برون‌زای لیگاندهای هیستیدین و مالات جهت کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت همزمان مس و نیکل در محیط‌کشت هیدروپونیک

حسین مظفری*[۱]، حسن سالاری[۱]، حکیمه علومی[۱]، محمد مقتدر[۲] و محمد محسن سلاجقه[۱]

[۱] گروه اکولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، [۲] گروه تنوع زیستی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰٤/۲۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۷/۲۲)

چکیده

سمیت فلزات سنگینی مانند مس و نیکل، موجب القا تنش اکسیداتیو در ارقام گوجه‌فرنگی می‌شود که به‌دلیل تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های غشا پلاسمایی ناشی از مقادیر سمی مس و نیکل است. هنگامی که اثرات منفی تنش اکسیداتیو بیش از توانایی سیستم مقاومت آنتی‌اکسیدانی باشد، گیاه دچار کاهش رشد و عملکرد می‌شود. در این پژوهش سعی شد تا تأثیر همزمان دو لیگاند هیستیدین و مالات بر بهبود رشد و کاهش تنش اکسیداتیو در دو رقم جدید گوجه‌فرنگی شامل کال‌جی و ارلی‌اوربانا تحت تنش همزمان مس و نیکل در شرایط استاندارد هیدروپونیک بررسی شود. نُه تیمار آزمایش پس از بهینه‌سازی حاوی غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار مس و نیکل، ۳۰۰ و ٦۰۰ میکرومولار هیستیدین و ۱ و ۲ میلی‌مولار مالات در پایه‌ای از محلول هوگلند بودند. تیمارهای مذکور بر گیاهان کشت‌شده در سطح لوله فالکون ۵۰ سی‌سی حاوی محلول هوگلند بدون بستر کشت در سه تکرار اعمال شدند. پس از تیمار، پارامترهایی مانند رشد مورفولوژیک، میزان پروتئین کل، تغییر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، تجمع آب اکسیژنه، مالون دی‌آلدئید و غیره در هر دو رقم گیاه سنجش شدند. نتایج نشان داد که کاربرد همزمان ۲ میلی‌مولار و ٦۰۰ میکرومولار از لیگاندهای هیستیدین و مالات تأثیر معنی‌داری بر بهبود تنش‌اکسیداتیو بر ارقام گوجه‌فرنگی تحت تنش ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس داشت. به‌طوری که با افزودن لیگاندها در شرایط تنش، شاخص‌های اکسیدانی به میزان شاهد بهبود یافته که نشان از همبستگی بیشتر غشا پلاسمایی و کاهش جذب و انتقال کاتیون‌های آزاد نیکل و مس دارد. علاوه بر این، رقم کال‌جی پاسخ نسبی بهتری از لحاظ شاخص‌های رشد و اکسیدانی به لیگاندها، تحت شرایط تنش داد. به نظر می‌رسد لیگاندها با تأثیر فلزات سنگین آزاد بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، مولکولی، فعالیت آنزیم‌ها و جایگزینی با عناصر تغذیه‌ای مقابله می‌کنند که پیشنهاد می‌شود این تأثیر لیگاندها در سطح مولکولی نیز مطالعه گردد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، کاتالاز، مالوندی آلدئید، مس، نیکل

مقدمه

عناصر سنگین مس و نیکل به‌عنوان عناصر تغذیه‌ای کم‌مصرف، جهت حفظ متابولیسم و رشد بهینه گیاهان عالی مؤثرند (Parlac, 2016؛ امینی و همکاران، ۱۳۹۱؛ قادریان و مهتدی،

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: mozafari.hossein@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

۱۳۸۶). مس در فرایندهای تنفس، فتوسنتز، انتقال قندها، متابولیسم پروتئین‌ها، متابولیسم ازت، ثبات دیواره سلولی، کوفاکتور آنزیم‌ها و پاسخ هورمونی گیاهان نقش مهمی دارد (Gao *et al.*, 2008; Mostofa *et al.*, 2015). نیکل نیز در ساخت آنزیم اوره‌آز، فرودوکسین و برخی پروتئین‌ها در گیاهان اهمیت دارد (Parlac, 2016; Sreekanth *et al.*, 2013). با این وجود، غلظت‌های فوق آستانه‌ای این دو عنصر، سبب بروز سمیت و تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Allen, 2002; Gao *et al.*, 2008). عوامل و منابع زیست محیطی مهمی مانند فعالیت کارخانجات ذوب فلزات، فعالیت معادن استخراج فلزات، فاضلاب‌های شهری، سوزاندن زباله‌ها و استفاده از کودهای کشاورزی، موجب انتشار فلزات سنگین نیکل و مس به محیط زیست می‌شوند و تجمع این عناصر را در خاک افزایش می‌دهند (Sreekanth *et al.*, 2013; Mostofa *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2008).

یکی از علائم سمیت مس در گیاهان، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که موجب تغییر ساختار غشای سلولی و بازدارندگی رشد گیاه می‌شود. سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل تنش اکسیداتیو، مجهز به یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزادند که به دو صورت آنزیمی و غیرآنزیمی عمل می‌نماید. سمیت مس، موجب بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های مربوط به فتوسنتز، ساخت رنگیزه‌های گیاهی و ثبات غشا مداخله می‌کند. سمیت مس، معمولاً رشد ریشه را بیشتر از اندام‌های هوایی متأثر می‌سازد؛ زیرا مقدار زیادی از آن در دیواره سلولی یا در فضای بین غشا و دیواره سلولی ریشه تجمع می‌یابد و ایجاد سمیت می‌کند. مکانیسم‌های تحمل سمیت مس در گیاهان عالی، شامل اجتناب از جذب مس، غیرمتحرک‌کردن یون‌ها در دیواره سلولی و نگهداری آن در نقاطی از سلول به صورت ترکیبات پیچیده محلول است. تنش مس بر عملکرد و دستگاه فتوسنتزی به‌ویژه غشاهای تیلاکوئیدی و فتوسیستم ۲ ثابت شده است. غلظت ۱۰ میکرومولار مس موجب سمیت در گیاهان مانند برنج می‌گردد (Mostofa *et al.*, 2015; Kupper *et al.*, 2009).

مطالعات زیادی به‌منظور یافتن گونه‌های گیاهی با ویژگی تحمل، تجمع مس و یا بررسی ساز و کارهای فیزیولوژیک تحمل به سمیت این عنصر انجام شده است (Mahmood and Islam, 2006). احتمال می‌رود در بین ارقام مختلف گیاهی، نمونه‌ای جالب توجهی از پاسخ گیاهان به سمیت مس به‌ویژه از جنبه کابرد تنظیم‌کننده‌های رشد یا لیگاندها یافت شود. از این‌رو، بررسی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و میزان تحمل ناشی از افزایش این فلز سنگین حائز اهمیت است (Xu *et al.*, 2006; Srivastava *et al.*, 2006; Tewari *et al.*, 2006).

در محیط هیدروپونیک حاوی نیکل نیز میزان تجمع این عنصر سنگین در گیاهان قابل‌توجه بوده که در محیط‌های اکولوژیکی این تجمع گزارش نشده است (Ahmad *et al.*, 2007; Asher, 1991; Sreekanth *et al.*, 2013). آستانه سمی نیکل در محیط هیدروپونیک از ۰/۵ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است. در حالی که در آلوده‌ترین مناطق (کارخانه‌های ذوب نیکل- مس) ۰/۱ تا ۲/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک است. این موضوع نشان‌دهنده ت/دثیر مواد ذکرشده در خاک در کاهش نیکل آزاد است (Baker *et al.*, 2000; Bhalerao *et al.*, 2015; Kovacik *et al.*, 2008).

کمپلکس کاتیون‌های آزاد نیکل با لیگاندهای ضعیف مانند گروه کربوکسیل اسیدهای آلی مانند مالیک اسید و اسیدهای آمینه مانند هیستیدین بر جذب نیکل آزاد توسط گیاهان تأثیر می‌گذارد و سمیت نیکل را کاهش می‌دهد. کمپلکس‌شدن این کاتیون‌ها با لیگاندهای قوی مانند اتیلن دی‌امین ترا استیک اسید (EDTA) هم باعث کاهش پایدارتر جذب نیکل آزاد توسط گیاه شده و سمیت نیکل آزاد را بیشتر کاهش می‌دهد و ظرفیت مقابله با تنش فلزات سنگین را در گیاهان افزایش می‌دهد (Xu *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2007). تأثیر سمیت نیکل در غلظت مشابه نسبت به بسیاری از آلاینده‌های دیگر مانند مس کمتر است (Mostofa *et al.*, 2015). در گیاهان تحت تنش غرقابی سمیت نیکل معمولاً چند صد برابر کمتر از مس است. البته سمیت نیکل و مس به‌دلیل مشترک‌بودن برخی مسیرهای کانال‌های کاتیونی و ناقل‌های پروتئینی غشایی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

معمولاً همزمان رخ می‌دهد (Alam *et al*., 2007; Athar and Ahmad, 2002).

به‌طور کلی مقادیر اضافی و سمی نیکل بر پدیده‌هایی همچون جوانه‌زنی گیاه (Andersen *et al*., 2002a)، رشد گیاه‌چه، رشد ریشه، رشد ساقه، گسترش برگی، وزن خشک گیاه، فتوسنتز، تنفس، جذب مواد غذایی، متابولیسم، تغذیه گیاهی، تجمع متابولیت‌های گیاهی (Meriga *et al*., 2004; Chen *et al*., 2004)، کیفیت و عملکرد غشا، تغییر کیفیت لیپیدهای غشایی، عملکرد پروتئین‌های غشایی در جذب و انتقال یون‌ها، انتقال قندها و روابط آبی گیاه (Volbeda and Fontecilla-Camps, 2005; Wang *et al*., 2010) تأثیرگذار است.

بنابراین نیکل و مس از طریق دو مسیر کلی بر گیاهان تأثیر منفی می‌گذارند که ابتدا تنش این عنصر بر متابولیسم و کارکرد گیاه تأثیر گذاشته و در مرحله بعد موجب القا تنش اکسیداتیو ثانویه در گیاه می‌شود (Bowler and Fluhr, 2000; Lukin *et al*., 2003). میزان مقاومت گیاهان به تنش نیکل، بستگی به نوع گیاه، غلظت نیکل، شرایط جذب نیکل و وجود کلسیم دارد (Ghasemi *et al*., 2009). به‌عنوان مثال غلظت ۲۶ میکروگرم بر گرم بافت خشک موجب کاهش فتوسنتز در گیاه ذرت می‌شود در حالی که در گیاه چاودار، میزان ۵۰ میکروگرم بر گرم بافت خشک نیکل موجب کاهش تدریجی کلروفیل و آغاز فرایند کلروزگی در بافت‌های فتوسنتزکننده می‌شود. نکروزگی بافت‌ها و پژمردگی نیز در هنگام تنش نیکل بخوبی قابل مشاهده است (Osteras and Greger, 2006; Zoller *et al*., 2003). در تحقیقات مختلف دیگر نیز تأثیر تنش‌زای مس نیز در گیاهانی مانند شاهی، ریحان و غیره به‌طور قابل‌توجه از لحاظ فیزیولوژیک مشاهده شده است (Georgiadou *et al*., 2018; Gao *et al*., 2008; Mostofa *et al*., 2015).

اتصال فلزات سنگین به لیگاندهایی مانند هیستیدین و مالات از واکنش‌های نامناسب فلز سمی با سایر لیگاندهای سلولی مهم مانند پروتئین‌ها، کلروفیل و غیره در همان بخش سلولی ممانعت به‌عمل آورد (Kupper, 2009).

در گیاهان، لیگاندهایی مانند سیترات، سوکسینات، گلوتامات، اگزالات، هیستیدین و مالات موجب اتصال نسبتاً پایداری با یون‌های نیکل می‌شوند و کمپلکس‌هایی را ایجاد می‌کنند. این نوع اتصال در شیرابه برخی درختان بخوبی دیده می‌شود (Cobbett and Goldsbrough, 2002; Kupper, 2009). هیستیدین نیز نقش مهمی در مقاومت گیاهان به تنش نیکل از طریق شلاته‌کردن، سم‌زدایی نیکل و همچنین انتقال نیکل باندشده از ریشه به آوندهای چوبی دارد. تشکیل کمپلکس نیکل- هیستیدین در جریان مقاومت گونه‌های مختلف مخمرها به تنش‌های نیکل، مس و کبالت نیز مشاهده شده است (Pearce and Sherman, 1999). به هر حال تأثیر دقیق نیکل از جنبه‌های بیوشیمیایی و مولکولی، بر تغییر مسیر بیوسنتز هیستیدین چندان شناخته شده نیست، اما ارتباط مستقیم بین نیکل و بیان ژن فعالیت اولین آنزیم مسیر بیوسنتز هیستیدین به اثبات رسیده است.

آلودگی گیاهان زراعی مانند گوجه‌فرنگی نیز یکی از مشکلات مهم جامعه امروزی است که سلامت انسان را تهدید می‌کند و موجب بروز بیمارهای مختلف جسمی و عصبی می‌گردد (Ahonen-Jonnarth *et al*., 2004; Diaz *et al*., 2001). بنابراین کاهش آلودگی فلزات سمی مانند مس و نیکل در رشد و عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی اهمیت دارد. گیاه گوجه‌فرنگی دارای ارقام جدید مختلف بوده و هر روز ارقام جدید آن در صنعت کشاورزی وارد می‌شوند که لزوم به بررسی واکنش‌پذیری آن به آلودگی فلزات سنگین و بهبود مقاومت به تنش‌های مربوطه احساس می‌گردد. بنابراین، سمیت توأم یا جداگانه مس و نیکل در گیاهان زراعی مانند گوجه‌فرنگی موجب کاهش محصول می‌گردد که مطالعه تأثیرات اثر همزمان و متقابل این فلز سمی با شلاته‌کننده‌ها حائز اهمیت است (Barcelo and Poschenrieder, 2004; Jones, 2002).

با توجه به گسترش اسیدی‌شدن خاک‌های کشاورزی، گسترش مناطق صنعتی و درنتیجه آزادشدن تدریجی نیکل و مس در خاک و تجمع و تنش آن در گوجه‌فرنگی (Mostofa *et*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

al., 2015; Ghasemi *et al*., 2009)، در این تحقیق سعی شد از دو رقم مهم گوجه‌فرنگی مانند کال‌جی و ارلی‌اوربانا جهت بررسی مکانیسم‌های مقاومت به تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت نیکل و مس استفاده گردد. بنابراین میزان تأثیر همزمان و متقابل دو لیگاند اسیدآمینه هیستیدین و مالات بر کاهش اثرات سمی و اکسیداتیو مس و نیکل در دو رقم زراعی گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط هیدروپونیک بررسی شد. جهت این مطالعه، کاهش اثرات این دو تنش همزمان بر دو مرحله جوانه‌زنی و مرحله رویشی گیاه از لحاظ شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی، آنزیمی و غیرآنزیمی در محیط‌کشت هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

انتخاب گیاه: در این پژوهش، دو رقم جدید از گیاه گوجه‌فرنگی شامل کال‌جی‌ان ۳ (Cal j N3) و رقم ارلی اوربانا (early urbana) انتخاب گردیدند که اهمیت خاصی در مناطق گرم و خشک ایران به‌ویژه مناطق کشاورزی جنوب شرق ایران دارند و دارای سطح زیرکشت زیادی در سایر مناطق ایران نیز هستند. بذرهای گیاه مورد نظر از شرکت فلات ایران-تهران تهیه شدند.

تعیین ترکیب تیمارها: ترکیب نهایی تیمارها پس از مطالعات اولیه، تحقیقات قبلی ما و سایر تحقیقات متداول تعیین گردید. طبق آزمایش فاکتوریل، تعداد کدهای تیماری اولیه آزمایش ۸۱ عدد شامل سه سطح غلظتی از هر یک از مواد هیستیدین، مالات، سولفات نیکل و سولفات مس به صورت جداگانه و یا توأم بود که جهت بهینه‌سازی با سه تکرار بر گیاهان اعمال شد. اما پس از مرحله بهینه‌سازی و انتخاب تیمارهای متناسب با شرایط واقعی‌تر محیط، سایر تحقیقات و حذف تنش‌های شدید ساس شاخص‌های مهم رشد و تنش، در پژوهش نهایی نُه تیمار حاوی۱۵۰ یا ۳۰۰ میکرومولار هیستیدین + ۱ یا ۲ میلی‌مولار مالات انتخاب گردید. پس کاربرد این غلظت‌ها پس از بهینه‌سازی آزمایشگاهی و مطالعه پژوهش‌های مرتبط صورت گرفت (Pearce and Sherman, 1999; Kupper, 2009; Cobbett and Goldsbrough, 2002). کدهای نهایی تیماری این پژوهش در جدول ۱ ارائه شده است که در قالب طرح کاملاً تصادفی بر بذرها و گیاهان اعمال شدند. بنابراین گیاهان شامل دو رقم گوجه‌فرنگی تحت نُه تیمار نهایی حاوی مقادیر متفاوت لیگاند هیستیدین، مالات و فلزات سنگین نیکل و مس با سه عدد تکرار قرار گرفتند (جدول ۱). با توجه به سایر تحقیقات، محلول‌های تیمار دارای اسیدیته pH= ۵/۷-۵/۹ بودند که این اسیدیته و ثبات محلول غذایی، از آزادبودن یون‌ها در محیط حاوی لیگاندهای هیستیدین و مالات جلوگیری به‌عمل می‌آورد و مبنای فرضیه این پژوهش نیز بر همین اساس است. به عبارت دیگر کمپکلس تشکیل‌شده کاتیون لیگاند در این شرایط دارای پایداری کافی بوده و میزان کاتیون‌های آزاد محلول به حداقل می‌رسد (محمد حسینی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Pearce and Sherman, 1999; Kupper, 2009; Cobbett and Goldsbrough, 2002).

بررسی جوانه‌زنی بذر تحت تیمارها: بذرهای ارقام گوجه‌فرنگی با هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد ضدعفونی و سپس سه مرتبه با آب‌مقطر دوبار تقطیر شسته شدند. در هر پتریدیش ۱۰۰ عدد بذر در ردیف‌های ۱۰ تایی کاشته شد. پتری‌ها در ژرمیناتور، مدل 1KH RH ساخت شرکت پارس، با دمای ۰/۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۶۵ درصد نگهداری شدند. برای هر تیمار سه پتری (سه تکرار) در نظر گرفته شد و محلول‌های تیمار به حجم ۳ الی ٤ میلی‌لیتر در قالب طرح کاملاً تصادفی به هر یک از پتری‌ها اضافه گردید. پس از یک هفته، تعداد بذرهای جوانه‌زده هر پتری‌دیش شمارش گردید و درصد جوانه‌زنی مشخص محاسبه شد (Gonnelli *et al*., 2001).

کشت هیدروپونیک ارقام گیاه و کاربرد تیمارها: بذرهای ارقام پس از ضدعفونی‌نمودن به‌مدت سه ساعت در آب‌مقطر خیسانده شدند. سپس بذرها به پتری دیش‌های مرطوب‌شده با محلول‌های تیمار (pH= ۵/۷-۵/۹) منتقل گردید. بذرها به‌مدت چهار روز در تاریکی با دمای ۰/۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد در ژرمیناتور نگهداری شدند. ازگیاهک‌های به‌وجود آمده با اندازه یکسان جهت کشت در محلول غذایی استفاده گردید. کاشت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

جدول ۱- تیمارهای مورد استفاده پس از بهینه‌سازی نهایی در آزمایش که با سه تکرار بر دو مرحله جوانه‌زنی و رشد دو رقم گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط استاندارد هیدروپونیک در گلخانه مورد استفاده قرار گرفت.

کد تیمار	محلول سولفات نیکل + سولفات مس (میکرومولار)	محلول لیگاند (میکرومولار هیستیدین + میلی‌مولار مالات)
۱ (شاهد)	۰ + ۰	۰ + ۰
۲	۱۵۰ + ۱۵۰	۰ + ۰
۳	۳۰۰ + ۳۰۰	۰ +۰
٤	۰ + ۰	۱ + ۳۰۰
٥	۱۵۰ + ۱۵۰	۱ + ۳۰۰
٦	۳۰۰ + ۳۰۰	۱ + ۳۰۰
۷	۰ + ۰	۲ + ٦۰۰
۸	۱۵۰ + ۱۵۰	۲ +٦۰۰
۹	۳۰۰ + ۳۰۰	۲ + ٦۰۰

گیاهک‌ها در لوله‌های آزمایش پلاستیکی دارای درب (با شبکه توری در مرکز درب جهت رشد گیاهک بر روی سطح آن) صورت گرفت. حجم لوله‌های آزمایش ۵۰ میلی‌لیتر بوده که در سطح هر کدام دو گیاهک قرار داده شد. لوله‌ها با محلول غذایی هوگلند با رقت ۰/۱ حاوی کد تیمار مربوطه پر شدند (Asher, 1991).

جهت ایجاد محیط مناسب برای تأثیر بهتر تیمارها بر گیاه، اسیدیته محلول غذایی بین ۵/۹-۵/۷ حفظ شد. محلول غذایی هر دو روز یکبار تعویض گردید. گیاهان در شرایط ١٦ ساعت نور با دمای ۰/۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۰/۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد با شدت نور ۱۲۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه قرار گرفتند. پس از ۱۰ روز، تیمارها به محلول غذایی لوله‌ها اضافه شدند. مدت زمان تیمار گیاهان ۱۰ روز بود. از گیاهان حاصل جهت سنجش پارامترها استفاده گردید (Asher, 1991; Xu, 2009).

طول اندام‌های ریشه و اندام هوایی: با استفاده از خط‌کش با دقت ۰/۱ سانتی‌متر و پس از برش منطقه یقه گیاه و جداسازی آنها از یکدیگر، طول اندام‌های ریشه و ساقه در هر گیاه تیمارشده اندازه‌گیری گردید.

وزن تر ریشه و اندام هوایی: جهت تعیین میزان تأثیر تیمارها بر رشد گیاهان، ریشه گیاهان پس از تیمار و خارج‌نمودن ریشه از داخل محلول غذایی، بلافاصله ریشه‌ها با محلول ۰/۵ میلی‌مولار کلسیم کلرید شسته شد. وزن تر ریشه و اندام هوایی نیز در هر گیاه گوجه‌فرنگی تیمارشده، با ترازوی Sartorius (مدل BPSIID) با دقت ۰/۰۰۱ گرم سنجش شد و بر حسب گرم بر هر گیاه ارائه گردید. از این نمونه‌ها جهت فریزکردن و استفاده در بیشتر پارامترهای بعدی استفاده گردید.

سطح برگ: جهت محاسبه سطح برگ سوم هر گیاه از روش وزن کاغذ معادل سطح هر برگ رسم‌شده استفاده گردید. سطح دقیق برگ بر حسب سانتی‌متر مربع با استفاده از معادله مربوطه محاسبه گردید.

رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ: سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ گیاهان ارقام گوجه‌فرنگی تحت تیمارها، شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها بوده که به روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت. ۰/۲ گرم از برگ سوم با ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد بخوبی سائیده شده تا بافت برگ بخوبی با استون مخلوط گردد. پس از صاف‌کردن و سانتریفیوژ مخلوط حاصل، جذب محلول به‌دست آمده بلافاصله با دستگاه اسپکتروفتومتر Carry50 (ساخت کشور استرالیا) در طول‌موج‌های ٦٤٦/٨، ٦٦٣/٢٠ و ٤٧٠ نانومتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

به‌دست آمد و غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر با استفاده از معادله‌های مربوطه به‌دست آمد.

سنجش پروتئین کل محلول و استخراج پروتئین‌ها: برای سنجش مقدار پروتئین کل محلول، ابتدا پروتئین‌ها از اندام هوایی گیاه در دمای بین صفر تا ٤ درجه سانتی‌گراد در آب یخ استخراج شدند. بافر استخراج شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH =۷/۲ که دارای اتیلن دی‌آمین ترا استیک اسید (EDTA) ۱ میلی‌مولار، فنیل متان سولفونیل فلورید (PMSF) ۱ میلی‌مولار و پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP) ۱ درصد بود. از عصاره به‌دست آمده جهت سنجش پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید. جهت سنجش مقدار پروتئین کل از روش (۱۹۷٦) Bradford استفاده شد.

سنجش پرولین: جهت سنجش میزان پرولین بافت گیاهی از روش (۱۹۷۵) Bates استفاده شد. ۰/۰۲ گرم از بافت فریزشده در محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید سائیده و عصاره حاصل به‌مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط گردید و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سردشدن لوله‌ها، ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید. جذب لایه‌ی رنگی فوقانی در ۵۱۸ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد و مقدار پرولین با منحنی استاندارد پرولین تعیین گردید.

سنجش آمینواسیدهای آزاد (FAA): میزان آمینواسیدهای آزاد به‌روش رنگ سنجی و با معرف نین‌هیدرین اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات سرد ۵۰ میلی‌مولار(pH=٦/۸) سائیده شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. از محلول رویی برای سنجش میزان آمینواسیدهای آزاد استفاده شد. یک میلی‌لیتر از معرف نین‌هیدرین ۰/۳۵ درصد به ۵ میلی‌لیتر عصاره سانتریفوژ در لوله آزمایش افزوده شد. جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار آمینواسیدهای آزاد از منحنی استاندارد گلیسین استفاده شد (Hwang, 1975).

سنجش هیدروژن پراکسید (H_2O_2) در برگ: سنجش میزان تجمع هیدروژن پراکسید در برگ با استفاده از روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) به‌صورت رنگ‌سنجی انجام پذیرفت. ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت‌های اندام هوایی در حمام یخ با تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد سائیده شدند. عصاره حاصل با استفاده از یک سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=۷) و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید و جذب محلول‌ها در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار هیدروژن پراکسید در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی ۰/۲۸ $M^{-1}cm^{-1}$ محاسبه شد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید.

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای برگ: جهت مطالعه میزان پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع غشایی در برگ تحت اثر تیمارها، غلظت مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها به دو روش ذیل اندازه‌گیری گردید:

تعیین غلظت مالون دآلدئید برگ: اندازه‌گیری مالون دآلدئید (MDA) به روش Packer و Heath (۱۹٦۸) انجام شد. شدت جذب محلول حاصل با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل Varian Cary50 (ساخت استرالیا) در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده موردنظر برای جذب در این طول‌موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی و مزاحم در ٦۰۰ نانومتر تعیین گردید و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش سایر آلدئیدهای برگ: سنجش میزان سایر آلدئیدها با روش Meirs و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. جذب سایر رنگیزه‌های غیراختصاصی و مزاحم در ٦۰۰ نانومتر خوانده شد و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت این آلدئیدها از ضریب خاموشی معادل ۰/٤۵۷×۱۰^{۵} $mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد. نتایج بر حسب نانومول

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (EC 1.11.1.6) برگ: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه سرعت تجزیه و کاهش جذب H_2O_2 (کاهش مقدار H_2O_2) در ۲۴۰ نانومتر و با روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) انجام شد. فعالیت آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی حاصل از روش قبل در یک دقیقه محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مولار H_2O_2 را در یک دقیقه تجزیه می‌کند.

فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز (GPX) (EC 1.11.1.7) برگ: سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکل و اندازه‌گیری میزان جذب تتراگایاکل تشکیل‌شده از گایاکل در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در ۴۷۰ نانومتر با روش Plewa (۱۹۹۳) انجام گرفت.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) (EC1.11.1.1) برگ: سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پرکسیداز با استفاده از تغییرات جذب در دقیقه میزان آسکوربات برجای مانده پس از دو دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد و از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) استفاده گردید. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز، مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مولار آسکوربات را در یک دقیقه اکسید می‌کند.

سنجش قندهای احیاکننده: برای سنجش میزان قندهای احیاکننده از روش Somogy (۱۹۵۲) استفاده شد. شدت جذب محلول‌ها در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز غلظت قندهای احیاکننده محاسبه گردید. نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ارائه گردید.

تجزیه آماری و مقایسه داده‌ها: داده‌های مربوط به سه تکرار در هر تیمار جهت پارامترهای مختلف، با نرم‌افزار SPSS 18.0 مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. روش آماری مورد استفاده نیز به‌صورت آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) بود. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با دقت ۹۵ درصد انجام گردید. جداول میانگین پارامترهای سنجش‌شده به‌صورت Mean±SE در بخش نتایج ارائه شده‌اند.

نتایج و بحث

در این پژوهش، تنش حاصل از هر دو سطح سمی نیکل و مس موجب کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی در هر دو رقم گوجه‌فرنگی در سطح معنی‌دار پنج درصد شده است. به‌طوری که تحت سمیت توأم ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس، درصد جوانه‌زنی بذر تا میزان ۵۰ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت و کاربرد همزمان دو لیگاند هیستیدین و مالات کاهش اخیر را بخوبی بهبود داد. کاربرد غلظت ۶۰۰ میکرومول هیستیدین و ۲ میلی‌مولار مالات بخوبی تأثیر مقاومت‌زای خود را در شرایط تنش ۳۰۰ میکرومولار مس و نیکل به‌ویژه در رقم ارلی اوربانا نشان داد (جدول ۲).

همچنین تیمار ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس موجب کاهش معنی‌دار رشد طولی ساقه در هر دو رقم گوجه‌فرنگی تحت تیمار نسبت به شاهد گردید. در حالی که میزان ۱۵۰ میکرومولار تنش حاصل از این دو کاتیون تأثیر کاهشی در رقم ارلی اوربانا نداشتند. اما کاربرد ۶۰۰ میکرومول هیستیدین با ۲ میلی‌مولار مالات به‌طور همزمان با ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس، موجب بهبود این شاخص در ارلی اوربانا گردید (جداول شماره ۲ و ۳). بنابراین کاهش رشد طولی اندام هوایی رقم کال‌جی تحت تنش ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس، با کاربرد همزمان هیستیدین و اسید آلی مالات بهبود نیافت و همچنین اثر همزمان این دو لیگاند در این شرایط جهت جبران رشد اندام هوایی در رقم معنی‌دار نبود. غلظت ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس در رقم ارلی موجب کاهش رشد اندام هوایی نسبت به شاهد گردید در حالی که دو لیگاند مذکور موجب بهبود این پارامتر گردیدند. در مورد رشد طولی ریشه و وزن تر اندام هوایی و ریشه نیز شرایط مشابه بود و کاربرد لیگاندها در سطح بیشتر در تنش شدیدتر نیکل و مس تأثیر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

جدول ۲- تأثیر تیمارها بر تغییر درصد جوانه‌زنی، رشد طولی ریشه، رشد طولی اندام هوایی و وزن تر اندام هوایی در دو رقم گوجه‌فرنگی در سطح معنی‌دار ۵ درصد

ترکیب محلول تیمار		وزن تر اندام هوایی (گرم)		وزن تر ریشه (گرم)		طول ریشه (میلی‌متر)	
Ni^{2+} (µM) + Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	۲/۹٦±۰/۰۳^{ab}	۲/۲٦±۰/۱^{a}	۱/٤٦±۰/۰۳^{b}	۱/۳٦±۰/۰۱^{a}	۱۷۲±۸/۸^{a}	۱۷۸/۵±۲/۸^{a}
۱۵۰ + ۱۵۰	۰ + ۰	۰/٤۰±۰/۰۲^{de}	۰/۸۹±۰/۰۱^{c}	۰/۳۰±۰/۰۱^{d}	۰/۳۷±۰/۰۳^{f}	۱٤۹±۷/۲^{c}	۱۲۰±۳/۱^{f}
۳۰۰ + ۳۰۰	۰ + ۰	۰/۲۳±۰/۰۱^{f}	۰/۵۳±۰/۰۱^{de}	۰/۲۱±۰/۰۱^{ef}	۰/۷۵±۰/۰۲^{c}	۱۳۲±۵/۸^{d}	۱۳۵/۳۵±۲/۳^{d}
۰ + ۰	۳۰۰ + ۱	۲/۷۷±۰/۰۱^{ab}	۱/٦۹±۰/۰۲^{b}	۱/٦۵±۰/۰۲^{ab}	۰/۹۲±۰/۰۱^{b}	۱۵٦±٤/۱^{b}	۱٤۰/۸±٤/۳^{c}
۱۵۰ + ۱۵۰	۳۰۰ + ۱	۰/٤۹±۰/۰۱^{d}	۰/۵۰±۰/۰۱^{ef}	۰/۱۵±۰/۰۱^{ef}	۰/۱۹±۰/۰۲^{g}	۱۲۳±٤/۳^{ef}	۱۳٤/٦۷±۱/۳^{d}
۳۰۰ + ۳۰۰	۳۰۰ + ۱	۰/۲۷±۰/۰۱^{f}	۰/۱٦±۰/۰۱^{g}	۰/۳۲±۰/۰۱^{d}	۰/۱۵±۰/۰۳^{g}	۱٤۹±٦/۱^{c}	۱۳۰/۰۱±٤/٦^{e}
۰ + ۰	٦۰۰ + ۲	۱/۰٤±۰/۰۱^{c}	۱/۲۲±۰/۰۱^{ab}	۱۱۹±۲/۹^{ef}	۱۲۰/۱±۳/٦^{f}	۷٦/۲±۲/۸^{e}	٦٤/٦۷±۲/۵^{ab}
۱۵۰ + ۱۵۰	٦۰۰ + ۲	۲/۳۸±۰/۰۲^{de}	۲/٦۳±۰/۰۱^{ab}	۱۷۷±۱/۷^{f}	۱۵۰/۵±۵/۸^{b}	۹٤/۸±۱/۷^{c}	۷۹/٤±۳/۵^{de}
۳۰۰ + ۳۰۰	٦۰۰ + ۲	۲/۰۹±۰/۰۱^{c}	۲/۱۷±۰/۰۲^{b}	۱۷۵±۵/۱^{a}	۱۷۹/٤±۲/۷^{a}	۵٤/۳±۲/۱^{f}	۱۰۱±٤/۸^{ab}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

ادامه جدول ۲-

ترکیب محلول تیمار		طول اندام هوایی (میلی‌متر)		جوانه‌زنی بذر (٪)	
Ni^{2+} (µM) + Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	۱۱۸/۷±۵/۲^{ab}	۷۵/۲۵±۳/۵^{de}	۸۹±۳/۱٤^{ab}	۹۵±۲/۰۵^{ab}
۱۵۰ + ۱۵۰	۰ + ۰	۹۱/۵±۳/۵^{de}	۹۱/٦۷±۲/۱^{c}	۵۵±۲/۱۱^{e}	۵۷±۲/۱۱^{e}
۳۰۰ + ۳۰۰	۰ + ۰	٦٦/۳±۱/۸^{ef}	۸۵/۳۳±۲/٦^{ab}	٤۰±۱/۰۵^{f}	٤٤±۱/۱۱^{f}
۰ + ۰	۳۰۰ + ۱	۱۱۷/۵±۲/٦^{ab}	۱۲٤/۵±۱/۸^{a}	۸۸±۰/۰۵^{ab}	۷۵±۳/۱٤^{cd}
۱۵۰ + ۱۵۰	۳۰۰ + ۱	۱۰۰/۸±۵/٤^{ab}	۹۵/٦۷±۳/٦^{bc}	٦۵±۱/۱۱^{d}	۸۹±۲/۱۱^{b}
۳۰۰ + ۳۰۰	۳۰۰ + ۱	۱۲۱/۳±۱/۵^{ab}	۷۵/۲۵±٤/۱^{ab}	٦٤±۲/۵۵^{d}	٦۹±۲/۳۵^{d}
۰ + ۰	٦۰۰ + ۲	۷٦/۲±۲/۸^{e}	٦٤/٦۷±۲/۵^{ab}	۸۷±۱/۰۵^{ab}	۸۲±۲/۱۱^{c}
۱۵۰ + ۱۵۰	٦۰۰ + ۲	۹٤/۸±۱/۷^{c}	۷۹/٤±۳/۵^{de}	۸۰±۳/٤۸^{c}	۸۷±۳/۵۲^{bc}
۳۰۰ + ۳۰۰	٦۰۰ + ۲	۵٤/۳±۲/۱^{f}	۱۰۱±٤/۸^{ab}	۷۹±۳/۱٤^{c}	۸۵±۲/۰۵^{bc}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

گذارتر بودند (جداول شماره ۲ و ۳).

مقادیر سمی نیکل موجب کاهش حجم، چروکیدگی و در نهایت مرگ سلول‌ها از طریق جایگزینی با یون‌های مهمی مانند کلسیم می‌شود. این موضوع به‌دلیل تداخل ناقل‌ها و کانال‌های یونی با نیکل و اثرات آنتاگونیستی آن است (Sharma and Bhardwaj, 2008; Thauer, 2001; Mittler, 2002).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

جدول ۳- تأثیر تیمارها بر تغییر محتوای کلروفیل‌های a، b، کل و کارتنوئیدها در برگ دو رقم گوجه‌فرنگی در سطح معنی‌دار ۵ درصد

ترکیب محلول تیمار		کلروفیل a (میکروگرم/گرم وزن تر)		کارتنوئیدها (میکروگرم/گرم وزن تر)	
Ni^{2+} (µM) + Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	۳۵/۳۶±۱/۸^{ab}	۳۱/۶±۱/۴^{c}	۱۰/۱۵±۰/۰۳^{a}	۹/۱۷±۰/۰۴^{ab}
۱۵۰ + ۱۵۰	۰ + ۰	۲۳/۵۶±۱/۵^{e}	۱۷/۰۱±۱/۴^{h}	۷/۱۴±۰/۰۴^{ef}	۴/۵۷±۰/۰۲^{d}
۳۰۰ + ۳۰۰	۰ + ۰	۲۶/۲۶±۰/۶^{cd}	۲۸/۰۶±۱/۱^{de}	۸/۵۶±۰/۰۳^{cd}	۸/۵۴±۰/۰۴^{bc}
۰ + ۰	۳۰۰ + ۱	۳۴/۱۶±۱/۱^{ab}	۳۴/۰۸±۱/۹^{ab}	۹/۱۸±۰/۰۶^{ab}	۱۰/۰۸±۰/۰۲^{a}
۱۵۰ + ۱۵۰	۳۰۰ + ۱	۲۰/۰۶±۰/۵^{ab}	۱۳/۵۱±۰/۶^{i}	۵/۵۰±۰/۰۳^{h}	۳/۵۳±۰/۰۴^{d}
۳۰۰ + ۳۰۰	۳۰۰ + ۱	۱۹/۲۹±۰/۳^{f}	۳۴/۸۴±۰/۹^{ab}	۷/۱۷±۰/۰۴^{ef}	۸/۱۶±۰/۰۳^{b}
۰ + ۰	۶۰۰ + ۲	۲۸/۲۵±۱/۳^{cd}	۳۱/۹۸±۰/۹^{d}	۷/۷۰±۰/۰۲^{ef}	۹/۹۴±۰/۰۳^{a}
۱۵۰ + ۱۵۰	۶۰۰ + ۲	۲۳/۲۶±۰/۴^{e}	۱۹/۰۶±۰/۴^{g}	۶/۷۸±۰/۰۳^{g}	۵/۳۳±۰/۰۴^{d}
۳۰۰ + ۳۰۰	۶۰۰ + ۲	۲۹/۴±۰/۸^{f}	۲۱/۰۴±۱/۲^{f}	۷/۸۰±۰/۰۴^{ef}	۳/۴۷±۰/۰۲^{e}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

ادامه جدول ۳-

ترکیب محلول تیمار		کلروفیل کل (میکروگرم/گرم وزن تر)		کلروفیل b (میکروگرم/گرم وزن تر)	
Ni^{2+} (µM) + Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	۲۵/۲۱±۱/۳^{a}	۲۲/۴۸±۱/۶^{ab}	۴/۴۸±۰/۲۷^{a}	۳/۶۲±۰/۱۳^{c}
۱۵۰ + ۱۵۰	۰ + ۰	۱۶/۴۲±۰/۸^{cd}	۱۲/۴۳±۰/۸^{e}	۱/۷۸±۰/۰۸^{g}	۲/۵۱±۰/۱۴^{f}
۳۰۰ + ۳۰۰	۰ + ۰	۱۷/۷۰±۰/۹^{cd}	۱۹/۵۲±۱/۱^{cd}	۴/۷۵±۰/۲۱^{a}	۴/۱۵±۰/۲۱^{ab}
۰ + ۰	۳۰۰ + ۱	۲۴/۹۸±۱/۱^{a}	۲۴/۰±۱/۷^{ab}	۴/۳۵±۰/۲۲^{b}	۳/۶۹±۰/۱۶^{c}
۱۵۰ + ۱۵۰	۳۰۰ + ۱	۱۴/۵۶±۰/۳^{e}	۹/۹۷±۰/۶^{f}	۳/۴۸±۰/۱۱^{b}	۲/۲۶±۰/۱۳^{f}
۳۰۰ + ۳۰۰	۳۰۰ + ۱	۱۲/۱۱±۰/۶^{e}	۲۶/۶۸±۱/۹^{ab}	۲/۸۵±۰/۱۲^{de}	۴/۵۸±۰/۱۷^{ab}
۰ + ۰	۶۰۰ + ۲	۲۰/۵۵±۱/۳^{b}	۲۲/۰۴±۱/۳^{ab}	۳/۸۰±۰/۱۸^{c}	۳/۱۷±۰/۱۵^{de}
۱۵۰ + ۱۵۰	۶۰۰ + ۲	۱۶/۴۷±۰/۵^{cd}	۱۳/۷۳±۰/۵^{e}	۳/۷۲±۰/۱۱^{c}	۲/۶۵±۰/۱۴^{f}
۳۰۰ + ۳۰۰	۶۰۰ + ۲	۲۲/۲۳±۰/۳^{bc}	۱۷/۵۲±۰/۴^{cd}	۲/۳۳±۰/۱۵^{f}	۵/۲۸±۰/۲۸^{a}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

در مورد مس نیز شرایط مشابه بوده و تجمع زیاد مس در سلول از طریق ناقل‌های یونی پروتئینی مربوطه، موجب اختلال تغذیه‌ای و تأثیر سمی آن بر غشا نیز می‌گردد و در نتیجه تنش اکسیداتیو رخ داده و چربی‌های غشا نیز پراکسیده می‌شوند (Xu *et al.*, 2006; Srivastava *et al.*, 2006; Tewari *et al.*, 2006). این تأثیرات نامطلوب مس و نیکل بر بیشتر پارامترهای این تحقیق تأثیر گذاشته که در ادامه نیز بیان شده است. در حالی که کاربرد دو لیگاند مورد تحقیق، موجب بهبود

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

پارامترهای رشد و کاهش تنش اکسیداتیو شدند (جداول شماره ۲ و ۳).

به‌طور کلی میزان تأثیر تنش نیکل بستگی به شرایط مختلف محیطی، مرحله رشد گیاه و تنوع ژنتیکی گیاه (گونه و رقم گیاهی) دارد (Sharma and Bhardwaj, 2008; Thauer, 2001; Mittler, 2002). جذب و تجمع مقادیر بیش از نیاز نیکل توسط گیاهان، موجب تقابل نیکل با بسیاری از ترکیبات مهم سلولی شده و درنتیجه اختلال در متابولیسم طبیعی، رشد مورفولوژیک گیاه، آسیب‌های سلولی، مرگ بافت‌های گیاهی و حتی کل گیاه رخ می‌دهد. بر طبق مطالعات مختلف حداقل سه پدیده در گیاه نقش اساسی در جهت بروز آثار سمیت فلزات سنگینی مانند نیکل و مس در گیاهان دارند. این سه پدیده عبارتند از: الف) جایگزینی نیکل در ترکیبات آلی مهم گیاه به جای عناصر تغذیه‌ای دیگر ب) بازدارندگی گروه‌های فعال و عملکردی مولکول‌های مهم گیاهی توسط نیکل ج) تغییر ساختار و فعالیت حیاتی پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، غشاها و ناقل‌های غشایی به‌دلیل حضور و تجمع نیکل هستند. این موضوع در داده‌های به‌دست آمده این تحقیق نیز بخوبی مشاهده شد (جداول شماره ۱تا ٦).

مس نیز تأثیر سمی خود را بر ساختار کلروفیل، کلروپلاست و شاخص‌های فیزیولوژیک گیاهان نشان داده است (Panou-Filotheou *et al.*, 2001). این تغییرات ناشی از سمیت مس و نیکل موجب کاهش رشد و جوانه‌زنی در گیاهان می‌شود (Sigel *et al.*, 2007; Baker *et al.*, 2000; Nieminen, 2004). باندشدن کاتیون‌های فلزات سنگینی مانند نیکل و مس با مولکول لیگاندهای مختلف مانند مالات و هیستیدین، بر جذب نیکل آزاد توسط گیاهان تأثیر گذاشته و سمیت نیکل را در گیاهان به‌طور نسبی کاهش می‌دهد و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Xu *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2007).

نتایج این تحقیق نیز نشان داد که تنش نیکل و مس در غلظت ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار موجب کاهش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) رنگیزه‌های برگی مانند کلروفیل a در هر دو رقم گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد گردید. اما این موضوع در رقم کال‌جی مشهودتر بود و تیمار ۱۵۰ میکرومولار تنش توأم نیکل و مس، موجب کاهش معنی‌دار ٤٥ درصدی کلروفیل a و کل در رقم کال‌جی گردید (جدول ۳). کاربرد ترکیب لیگاندی حاوی ٦۰۰ میکرومول هیستیدین با ۲ میلی‌مولار مالات، موجب بهبود معنی‌دار ۳۱ درصدی کلروفیل a در رقم کال‌جی گوجه‌فرنگی تحت تنش ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس شد. اما در رقم ارلی‌اوربانا تأثیر چندان لیگاندها در بهبود رنگیزه‌ها به ویژه کلروفیل a مشاهده نگردید و می‌توان بیان کرد که در رقم ارلی‌اوربانا فرایند حفظ رنگیزه‌های برگی نسبت به تنش نیکل و مس مقاومت نشان داده‌اند (جدول ۳).

در تیمار توأم ۱۵۰ میکرومولار سولفات نیکل و مس کاهش قابل‌توجهی در میزان کارتنوئیدها در هر دو رقم به‌ویژه کال‌جی (٦۰٪ کاهش) تحت ۱۵۰ میکرومولار تنش نسبت به شاهد مشاهده شد. کاربرد ترکیب توأم لیگاندها به میزان ٦۰۰ میکرومولار هیستیدین و ۲ میلی‌مولار مالات موجب افزایش کارتنوئیدهای برگی شد (جدول ٤). بنابراین تأثیر تنش‌زای نیکل و مس بر کارتنوئیدها در رقم ارلی اوربانا چندان چشمگیر نبود اما تأثیر لیگاندها تحت تنش موجب تجمع بیشتر کارتنوئیدها در رقم کال‌جی گردید (جدول ٤).

آنزیم‌ها و پروتئین‌های گیاهی دارای گروه‌های فعالی هستند که به آسانی با نیکل اتصال یافته و درنتیجه فعالیت حیاتی آنها از دست می‌رود. یون دو ظرفیتی نیکل دارای خاصیت واکنش‌پذیری نسبتاً بالایی با گروه‌های مختلف پروتئین‌ها است. بنابراین تحت تنش نیکل افزایش تولید رادیکال‌های مختلف پرانرژی و القا تنش اکسیداتیو (Thauer, 2001; Sirko *et al.*, 2004)، بروز کلروزگی، نکروزگی، بازدارندگی رشد ریشه و ساقه و همچنین کاهش در سطح برگ گیاهان تحت تنش مشاهده شده است (Yan *et al.*, 2008). با توجه به تأثیر نیکل اضافی بر ساختار کلروپلاستی، این تأثیرها در مورد مس نیز مشاهده است که به‌صورت توأم با نیکل بر گیاه تأثیر منفی می‌گذارد و تجمع رنگیزه‌ها را کاهش می‌دهد. کاربرد لیگاندها توانست این تغییرات را بهبود دهد که در تحقیق حاضر نیز این موضوع مشاهده گردید (Panou-Filotheou *et al.*, 2001;

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

جدول ٤- تأثیر تیمارهای آزمایش بر تغییر میانگین سطح برگ، محتوای پرولین و FAA در دو رقم گوجه‌فرنگی در سطح معنی‌دار ۵ درصد

ترکیب محلول تیمار		محتوای FAA (میلی‌گرم/گرم وزن تر)		محتوای پرولین (میلی‌گرم/گرم وزن تر)		سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	
Ni^{2+} (µM) + Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	۱۱/۱۳±۰/٤٤^{ef}	۱٤/۳۲±۰/۷۵^{c}	۱/۸٤±۰/۰٤^{c}	۲/۲۷±۰/۱۳^{bc}	۱۰/۰۹±۰/۵۵^{ab}	۸/۲۲±۰/٤۱^{bc}
۱۵۰ + ۱۵۰	۰ + ۰	۱۸/٦۰±۰/۹۰^{d}	۱٤/۲±۰/٦۵^{c}	٦/۳۰±۰/۰۳^{e}	۵/٤۰±۰/۰۱^{f}	۸/۱۲±۰/٤۳^{cd}	۵/۵٦±۰/٤٤^{f}
۳۰۰ + ۳۰۰	۰ + ۰	۱۷/۳۱±۰/۷۷^{d}	۱۷/۰۷±۰/٦٦^{b}	۸/۸۰±۰/۰۵^{c}	٦/۹۸±۰/۰٦^{d}	۳/۳٦±۰/۱۲^{h}	٤/۸۲±۰/٤۲^{f}
۰ + ۰	۳۰۰ + ۱	۸/۹۸±۰/٤۱^{g}	۸/۷۸±۰/٤۱^{e}	۰/٦۹±۰/۰۱^{g}	٤/۷۸±۰/۲۳^{a}	٦/۰۳±۰/۳۵^{ef}	۸/۵۷±۰/۳۹^{bc}
۱۵۰ + ۱۵۰	۳۰۰ + ۱	۲۸/۰٦±۱/۰۱^{c}	۱٦/۱۵±۰/۸۲^{b}	۲/۲۰±۰/۱٤^{b}	۱/۲٦±۰/۰۸^{e}	٦/۲۳±۰/۳٦^{ef}	۹/٦۰±۰/٤۷^{ab}
۳۰۰ + ۳۰۰	۳۰۰ + ۱	۳۷/۹٦±۱/۹۳^{a}	۲۵/۹۸±۱/۰۹^{a}	٤/۵۳±۰/۲۳^{a}	۲/۹۱±۰/۱۱^{bc}	۸/۱۲±۰/٤۱^{cd}	٦/٦۷±۰/٤۱^{e}
۰ + ۰	٦۰۰ + ۲	۱۰/۸±۰/۵۲^{ef}	۸/۲۷±۰/۳۳^{e}	۱/٦٦±۰/۰۸^{d}	۱/۹۱±۰/۰۵^{d}	۱۰/۷±۰/۵۳^{ab}	۷/٦۳±۰/۳٦^{d}
۱۵۰ + ۱۵۰	٦۰۰ + ۲	۳۰/۷۹±۱/۱۷^{b}	۱۳/٦۷±۰/۵٦^{cd}	۲/۱٦±۰/۱۲^{b}	۲/۲۰±۰/۱٤^{bc}	۸/۲۷±۰/٤۱^{cd}	۷/۸۸±۰/۳۳^{d}
۳۰۰ + ۳۰۰	٦۰۰ + ۲	۱۱/۱۳±۰/٦^{ef}	۱۹/۸۷±۰/۸۹^{bc}	۱/۱۹±۰/۰۱^{f}	۲/٦٦±۰/۰٦^{bc}	۵/۷۷±۰/۲۹^{g}	۱۵/۸۸±۰/۲۸^{a}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

Mostofa *et al.*, 2015) (جدول ٤).

کاربرد دو لیگاند هیستیدین و مالات موجب شد تا در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار تنش توأم نیکل و مس، میزان سطح برگ به بیش از شاهد در رقم ارلی اوربانا برسد. به‌طوری که تحت شرایط سمی همزمان ۳۰۰ میکرومولار مس و نیکل که از لیگاندهای ٦۰۰ میکرومولار هیستیدین و ۲ میلی‌مولار مالات استفاده گردید، میزان سطح برگ به دو برابر شاهد در رقم ارلی اوربانا افزایش یافت (جدول ٤). در همین شرایط، در رقم کال‌جی تحت تأثیر لیگاندها تغییر سطح برگ قابل‌توجه نبود و فقط در شرایط بدون تنش، تأثیر لیگاندها حاوی ٦۰۰ میکرومولار هیستیدین و ۲ میلی‌مولار مالات موجب افزایش سطح برگ در رقم کال‌جی گردید (جدول ٤). بنابراین پاسخ‌دهی دو رقم به تیمارها در این تحقیق با هم یکسان نبود و تفاوت‌های چشمگیری مشاهده شد (جدول ٤).

به‌طور کلی، بررسی نتایج حاصل از سنجش پارامترهای رشد و مورفولوژیک شامل سطح برگ، رشد طولی، وزن تر و وزن خشک ریشه و ساقه در این تحقیق نشان داد که به‌طور کلی تنش توأم نیکل و مس در هر دو سطح ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار موجب کاهش معنی‌داری شاخص‌های رشدی مانند رشد طولی ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد گردید. این موضوع بخوبی در رقم کال‌جی به‌استثنا پارامتر سطح برگ مشهود بود (جدول ٤). نتایج حاصل از رشد طولی ریشه و ساقه نشان داد که اثر همزمان مالات و هیستیدین به‌ویژه در سطح تنش توأم ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس، موجب بهبود و افزایش رشد طولی اندام‌های آسیب‌دیده از تنش می‌گردد (جداول ۲ و ۳).

رشد طولی ریشه بیش از اندام هوایی تحت تأثیر تنش نیکل و مس قرار می‌گیرد (Armengaud *et al.*, 2004; Mostofa *et al.*, 2015). در گیاهانی که نیکل و مس را در ریشه خود تجمع می‌دهند، رشد ریشه نسبت به اندام هوایی بیشتر بازداشته می‌شود و بنابراین شاخص رشد ریشه جهت ارزیابی سمیت بسیاری از فلز سنگین مانند نیکل و مس حائز اهمیت است (Sharma and Bhardwaj, 2008; Mostofa *et al.*, 2015). گزارش شده است. تیمار نهال‌های گندم با۲۰۰ میکرومولار نیکل موجب کاهش رشد ریشه شده است و تیمار نهال‌های گندم با نیکل اضافی، موجب تجمع سریع نیکل در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

بافت ریشه شده است (Ahonen-Jonnarth *et al*., 2004). البته در پژوهشی دیگر کاربرد ۱۰ میکرومولار نیکل، موجب تغییر معنی‌داری در رشد طولی نهال‌ها نشد (Sofo *et al*., 2004). اما تیمار ۱۰۰ میکرومولار نیکل موجب کاهش معنی‌دار رشد طولی ریشه گیاه شب‌بو در مقایسه با شاهد شده است (Volbeda and Fontecilla-Camps, 2005). نتایج تحقیق حاضر با این تحقیقات تطابق دارد و تیمارهای مس و نیکل موجب کاهش رشد طولی ریشه گردیدند (جدول ۲).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که فلزات سنگین به‌ویژه نیکل در سطوح سلولی، اندام‌ها و کل گیاه بر رشد تأثیرگذار هستند (Adriano, 2001; Lukin *et al*., 2003). در برخی از تحقیقات دیگر اثر تنش نیکل بر رشد ساقه گیاهان مختلف ارزیابی شده است و می‌توان براساس چنین تحقیقاتی رابطه بین تنش نیکل و رشد ساقه را جستجو نمود. در تحقیقی، تأثیر ۱۰۰ میکرومولار سولفات نیکل II بر اندام هوایی گندم بررسی شده است و این مقدار اضافی نیکل موجب کاهش سطح برگ و ضخامت بافت مزوفیل برگی، اندازه دستجات آوندی ساقه و عرض سلول‌های اپیدرمی ساقه شده است. همچنین در تحقیق جداگانه دیگر بر نهال‌های گندم، تنش ۲۰۰ میکرومولار نیکل موجب کاهش رشد طولی ساقه گردید (Roitto *et al*., 2005). در نهال‌های سویا تحت تیمارهای بیش از ۵۰ میکرومولار هم کاهش در وزن خشک و تر اندام هوایی مشاهده شده است (Seregin and Kozhevnikova, 2006). تحقیق دیگر نشان داده است که غلظت ۱۰۰ میکرومولار نیکل موجب کاهش رشد اندام هوایی گندم و ظهور علائم کلروزگی و نکروزگی در اندام هوایی گیاهان تحت تنش نیکل شده است (Sigel *et al*., 2007). در تحقیقات مختلف، رشد ساقه به‌عنوان یک شاخص عمومی رشد گیاه محسوب می‌شود که توسط نیکل و بسیاری از فلزات سنگین دیگر بازداشته می‌شود. بازدارندگی رشد ساقه و برگ توسط نیکل به‌علت بی‌نظمی متابولیکی حاصل از تجمع نیکل آزاد در درون گیاه و توقف سریع تقسیم سلولی است (Sigel *et al*., 2007) یافته‌های این پژوهش نیز با این موضوع تطابق دارد (جدول ۲).

تنش نیکل و مس تجمع پرولین و اسیدآمینه آزاد را در اندام هوایی با الگویی مشابه افزایش داده است. در رقم کال‌جی میزان ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس بدون کاربرد لیگاند به‌ترتیب موجب افزایش شش و هشت برابری محتوای پرولین اندام هوایی نسبت به شاهد گردید. همچنین میزان افزایش تجمع پرولین در اندام هوایی رقم ارلی اوربانا نیز تحت همین شرایط به حدود سه و چهار برابر شاهد رسید. این موضوع در مورد تجمع FAA نیز صادق بود، اما میزان افزایش به این شدت نبود. کاربرد لیگاندهای ۶۰۰ میکرومولار هیستیدین + ۲ میلی‌مولار مالات موجب کاهش میزان پرولین و حتی میزان اسید آمینه‌ها تقریباً برابر با مقدار شاهد بود (جدول ٤).

لیگاندها نقش فیزیولوژیکی وتغذیه‌ای مهمی در متابولیسم و مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاهان دارد. این مواد آلی در فرایندهایی مانند حفظ تمامیت ساختمانی و عملکرد غشاهای سلولی، تثبیت ساختمان دیواره سلول و تنظیم انتقال یون و کنترل رفتار تبادل یونی ضروری در شرایط تنش است. شواهد زیادی وجود دارد مبنی بر اینکه لیگاندها نقش اساسی در فعالیت غشاهای بیولوژیکی دارد. ذخیره لیگاندها در دیواره سلولی موجب حفظ غشا شده و از بهم ریختگی ساختمان سه بعدی غشا جلوگیری می‌کند (Andersen *et al*., 2002b). عواملی مانند وجود لیگاندها در خاک و اسیدیته مناسب می‌توانند بر جذب فلزات سنگین توسط گیاهان عالی تأثیر داشته باشند (Armengaud *et al*., 2004; Baker *et al*., 2000).

لیگاندهای مختلف موجب فعال‌شدن آنزیم‌های گیاهی مرتبط با مسیرهای متابولیکی بیوسنتز و تجزیه اسیدآمینه‌های آزاد مانند پرولین می‌گردد (Alam *et al*., 2007). لیگاندها اساساً آنزیم‌های متصل‌شده به غشا را نیز فعال می‌کنند. به‌طوری که این فعالیت، توسط ساختمان غشا تنظیم می‌شود. همچنین لیگاندها از فعالیت بعضی آنزیم‌های سیتوپلاسمی و متابولیکی جلوگیری می‌کنند. کالمودونین (یک پروتئین باندشونده به لیگاندها) برای تنظیم بسیاری از آنزیم‌های در انسان و حیوان بسیار مهم است (Xu *et al*., 2009; Wu *et al*., 2007). شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد این پروتئین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

نقش اساسی در تنظیم لیگاندها داخل سلولی و آنزیم‌ها در گیاهان دارد. همچنین این نکته پذیرفته شده است که کالمودونین در انتقال لیگاندها به واکوئل‌ها نقش اساسی دارد (Andersen *et al*., 2002a; Pearce and Sherman, 1999). سمیت‌زدایی فلز سنگین توسط لیگاندها و کاهش اثرات نیکل و مس موجب کاهش پرولین و اسیدآمینه‌های آزادشده و گیاه را از شرایط تنش خارج می‌کند که در این تحقیق نیز مشاهده شد (جدول ٤).

تأثیر مقادیر اضافی نیکل و مس بر افزایش تجمع پروتئین در هر دو رقم مشهود بود اما در رقم کال‌جی درصد افزایش ۲/۵ برابر نسبت به شاهد ثبت شد. در این رقم تأثیر ۳۰۰ میکرومولار هیستیدین و ۱ میلی‌مولار مالات در جهت افزایش تجمع پروتئین در رقم کال‌جی چشمگیر بود. همچنین تحت تنش ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس، کاربرد همزمان هیستیدین و مالات موجب افزایش پروتئین نسبت به شرایط تنش نیکل و مس گردید و میزان پروتئین کل حتی از نمونه‌های شاهد بیشتر بود (جدول ۵). البته تحت تنش ۱۵۰ میکرومولار مس و نیکل، کاربرد ۳۰۰+۱ هیستیدین و مالات موجب کاهش پروتئین گردید. در رقم ارلی اوربانا نیز از لحاظ تأثیرگذاری تیمارها وضعیت تقریباً متفاوت از رقم قبلی است. سطوح سمی نیکل و مس باعث تجمع پروتئین گردید و کاربرد لیگاندها موجب کاهش آن شد (جدول ۵).

جهت بررسی القا تنش اکسیداتیو تحت مقادیر سمی مس و نیکل و تعدیل آن توسط لیگاندها، نتایج مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون غشا در بین تیمارها از لحاظ آماری مقایسه گردید. نتایج نشان داد که تنش نیکل و مس در هر دو سطح ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار موجب ایجاد تنش اکسیداتیو و درنتیجه افزایش معنی‌دار آب‌اکسیژنه، MDA و سایر آلدئیدها در هر دو رقم گوجه‌فرنگی مورد مطالعه گردید (جداول ۵ و ٦). این نتایج نشان می‌دهد که سطح سمی نیکل و مس اِعمال‌شده بر گیاهان گوجه‌فرنگی، موجب القا تنش اکسیداتیو شده است. کاربرد همزمان هیستیدین و مالات به‌ویژه در رقم ارلی اوربانا، موجب کاهش آب‌اکسیژنه و MDA، سایر آلدئیدها در شرایط ۳۰۰ میکرومولار تنش نیکل و مس شدند و اثرات مقاومت‌زایی خود را در مورد این شاخص اکسیداتیوی نشان دادند (جداول ۵ و ٦).

ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول از طریق یون- لیگاندها می‌تواند تعدیل شود (Murphy, 1999). درنتیجه مقاومت سلول به این تنش بیشتر می‌شود. در حقیقت زمانی که سلول تحت تنش اکسیداتیو قرار می‌گیرد، اولین پاسخ سلول به این تنش تغییر غلظت لیگاندها سیتوسولی و لیگاندها سایر اندامک‌های سلولی است (Zhang *et al*., 2008). در این پژوهش نیز تأثیر تیمارهای تنش‌زا بر میزان فعالیت کاتالاز افزایشی بود و این موضوع به‌خصوص در مورد تأثیر نیکل و مس بر اندام هوایی صحیح است و نشان‌دهنده القا تنش اکسیداتیو در دو رقم گوجه‌فرنگی توسط نیکل و مس است (جدول ٦). در دو رقم کال‌جی و ارلی اوربانا غلظت ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس به‌ترتیب موجب افزایش پنج و دو برابری فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد در اندام هوایی گردیدند، در حالیکه تیمار نیکل و مس حاوی لیگاندها در این ارقام تأثیر معنی‌داری بر کاهش فعالیت کاتالاز داشت (جدول ٦). بنابراین تأثیر همزمان هیستیدین و اسید آلی مالات بر کاهش تنش اکسیداتیو در هر دو رقم در شرایط سمیت نیکل و مس بخوبی مشاهده و ثابت گردید (جداول ۵ و ٦).

با توجه به این نتایج، به‌طور کلی گیاهان دارای مکانیسم‌های متفاوتی برای مقاومت به تنش اکسیداتیو هستند و کاربرد لیگاندها می‌تواند برخی از این مکانیسم‌ها را به‌ویژه در تغییر محتوای ترکیبات سیکل گلوتاتیون- آسکوربات تقویت کند و اثرات تنش اکسیداتیو را بهبود بخشد (Yusuf *et al*., 2011; Quinn *et al*., 2003).

در هنگام القا تنش اکسیداتیو، فعالیت کانال‌های یونی تغییر زیادی از خود نشان می‌دهند (Kidd *et al*., 2001) و موجب افزایش کاتیون‌های سیتوسولی می‌شوند. به‌طوری که کانال‌های موجود در غشا سیتوسولی و شبکه آندوپلاسمی تحت این تنش فعال شده و باعث افزایش میزان کاتیون‌های سیتوپلاسم می‌شوند. این کانال‌ها به‌عنوان کانال مربوط به اینوزیتول تری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

جدول ۵- تأثیر تیمارهای آزمایش بر تغییر میانگین MDA، سایر آلدئیدها، تجمع آب اکسیژنه و قندهای احیاکننده در دو رقم گوجه‌فرنگی در سطح معنی‌دار ۵ درصد

ترکیب محلول تیمار		میزان قندهای احیاکننده (میلی‌گرم/گرم وزن تر)		تجمع آب اکسیژنه (میکرومول/گرم وزن تر)	
Ni^{2+} (µM) + Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	٤٨/٣±١^{g}	٥١/٢±٢^{f}	٩/٥±١/٢^{h}	١٠/٤±٠/٥٨^{h}
١٥٠ + ١٥٠	۰ + ۰	٤٥/٢±٣^{g}	١٥٤/٥±٤^{c}	١١/٢±٠/٩١^{h}	١٠/٨±٠/٦٦^{h}
٣٠٠ + ٣٠٠	۰ + ۰	٢٤٦/١±١١^{a}	٢٥٢/٢±١٠^{a}	١٨/١١±١/١٥^{gh}	١٨/١٥±٠/٨٧^{gh}
۰ + ۰	٣٠٠ + ١	٦٨/٥±٣^{de}	٦٠/١±٢^{e}	٣١/٨٣±٢/٨١^{f}	٢٢/٩٤±١/٢^{gh}
١٥٠ + ١٥٠	٣٠٠ + ١	١٦٢/٨±٧^{b}	١٥١/١±٤^{bc}	١٢٢/٣٥±٤/٧٥^{ab}	١١٣/٩±١/٠١^{a}
٣٠٠ + ٣٠٠	٣٠٠ + ١	١٤٧/٩±٨^{c}	١٥٤/٩±٣^{bc}	٩٠/٣١±٢/٦٨^{bc}	٩٢/٨٤±٥/٨^{b}
۰ + ۰	٦٠٠ + ٢	٥٥/٨±١^{f}	٤٩/٣±٣^{f}	٦٥/٥٧±٢/٧^{de}	٦٠/٦٣±٣/٤^{de}
١٥٠ + ١٥٠	٦٠٠ + ٢	٦٠/٨±٣^{e}	٤٩/٣±٢^{f}	٩/٩٤±١/٦٧^{gh}	١٠/٣±٤/٣^{hi}
٣٠٠ + ٣٠٠	٦٠٠ + ٢	١٠٩/٢±٥^{d}	١٠١/٥±٥^{d}	٨/٥±١/١^{h}	١٠/٨±٠/١٨^{h}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

ادامه جدول ۵-

ترکیب محلول تیمار		میزان سایر آلدئیدها (نانومول/گرم وزن تر)		میزان MDA (نانومول/گرم وزن تر)	
Ni^{2+} (µM)+ Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	١/٠٥±٠/٠٥^{fg}	٠/١٥±٠/٠٢^{j}	٠/٢٠±٠/٠٠^{j}	٠/٠١٥±٠/٠^{fg}
١٥٠ + ١٥٠	۰ + ۰	١/١٢±٠/٠٤^{hi}	١/٠٨±٠/٠١^{hi}	٠/١٣±٠/٠١^{hi}	٠/١١±٠/٠^{hi}
٣٠٠ + ٣٠٠	۰ + ۰	١/٨٥±٠/٠٠^{gh}	١/٨٢±٠/٠١^{gh}	٠/١٩±٠/٠٠^{gh}	٠/١٨±٠/٠^{gh}
۰ + ۰	٣٠٠ + ١	٢/١٨±٠/٠١^{gh}	٢/٢٩±٠/١٠^{gh}	٠/٣٢±٠/٠١^{f}	٠/٢٣±٠/٠^{gh}
١٥٠ + ١٥٠	٣٠٠ + ١	١٠/٢±٠/٥٩^{ab}	١٠/٤±٠/٥٢^{a}	١/٠٢±٠/٠٠^{ab}	١/١٤±٠/٠١^{a}
٣٠٠ + ٣٠٠	٣٠٠ + ١	٧/٠٣±٠/٣١^{bc}	٧/٢٨±٠/٣٤^{b}	٠/٨٠±٠/٠٠^{bc}	٠/٧٣±٠/٠^{b}
۰ + ۰	٦٠٠ + ٢	٦/٥٦±٠/٢٤^{de}	٦/٠٦±٠/٣٦^{de}	٠/٦٦±٠/٠٠^{de}	٠/٦١±٠/٠١^{de}
١٥٠ + ١٥٠	٦٠٠ + ٢	٢/٩٩±٠/١٤^{gh}	١/٠٣±٠/٠٥^{hi}	٠/٢٠±٠/٠٠^{hi}	٠/١٠±٠/٠^{gh}
٣٠٠ + ٣٠٠	٦٠٠ + ٢	١/٠٣±٠/٠٤^{fg}	٠/١٧±٠/٠١^{j}	٠/٢٥±٠/٠١^{j}	٠/٠١٦±٠/٠^{fg}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

فسفات معروف هستند. افزایش کاتیون‌های سیتوپلاسمی توسط ناقل و پمپ‌های دیگری کنترل می‌شوند و با خارج‌کردن کاتیون‌های از سیتوسول، سطح کاتیون‌های سلول را در حد اپتیمم نگه می‌دارند (Liao *et al*., 2000; Reimann *et al*., 1998).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

جدول ٦- تأثیر تیمارهای آزمایش بر تغییر میانگین پروتئین کل، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در دو رقم گوجه‌فرنگی در سطح معنی‌دار ۵ درصد

ترکیب محلول تیمار		فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (U/میلی‌گرم پروتئین)		فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (U/میلی‌گرم پروتئین)	
Ni^{2+} (µM) + Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال‌جی	رقم اوربانا	رقم کال‌جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	۰/٦٥±۰/۰۱^{g}	۰/۱۵±۰/۲۱^{g}	۲/۰۵±۰/۱^{g}	۱/۵٤±۰/۱۱^{g}
۱۵۰ + ۱۵۰	۰ + ۰	۱/۱۲±۰/۰۵^{f}	۱/۵۸±۰/۲۱^{e}	۰/۱۲±۰/۰۵^{h}	۲/۵۰±۰/۲۲^{f}
۳۰۰ + ۳۰۰	۰ + ۰	۱/۸۱±۰/۰٦^{e}	۱/۸۱±۰/۲۱^{e}	۱۸/۱۱±۰/۹۲^{e}	۱۸/۱±۰/۹۲^{d}
۰ + ۰	۳۰۰ + ۱	۲/۱۸±۰/۰۳^{d}	۲/۲۹±۰/۲۱^{d}	۲۱/۸۳±۱/۲۲^{d}	۲۲/۹±۱/۰۱^{c}
۱۵۰ + ۱۵۰	۳۰۰ + ۱	۳/۲۲±۰/۱٤^{c}	٤/۳۹±۰/۲۱^{c}	۳۲/۲۵±۱/۰٤^{c}	۵۳/۹±۰/۲۵^{b}
۳۰۰ + ۳۰۰	۳۰۰ + ۱	۷/۳۱±۰/۳۹^{a}	٦/۲۸±۰/۲۱^{ab}	۵۰/۳۱±۲/۳۳^{b}	۵۲/۸±۰/۲۳^{b}
۰ + ۰	٦۰۰ + ۲	٦/۵۵±۰/۳۲^{b}	٦/۰٦±۰/۲۱^{ab}	٦۵/۵۷±۳/٤۳^{a}	٦۰/٦±۳/۲۸^{a}
۱۵۰ + ۱۵۰	٦۰۰ + ۲	۱/۱۹±۰/۰۸^{f}	۱/۰۳±۰/۲۱^{f}	۱۵/۹٤±۰/٤٤^{f}	۱۰/۳۲±۰/۵۷^{e}
۳۰۰ + ۳۰۰	٦۰۰ + ۲	۰/٦٦±۰/۰۲^{g}	۰/۱٦±۰/۲۱^{g}	۲/۰۵±۰/۱۷^{g}	۱/۵٤±۰/۰۸^{g}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

ادامه جدول ٦-

ترکیب محلول تیمار		فعالیت آنزیم کاتالاز (U/میلی‌گرم پروتئین)		پروتئین کل (میلی‌گرم/ گرم وزن تر)	
Ni^{2+} (µM)+ Cu^{2+} (µM)	His (µM) + Malat (mM)	رقم کال جی	رقم اوربانا	رقم کال جی	رقم اوربانا
۰ + ۰	۰ + ۰	۲/۳±۰/۱٤^{f}	٤/٤۸±۰/۲۵^{c}	۵/۵٤±۰/۲۸^{e}	٤/۱۵±۰/۲۲^{e}
۱۵۰ + ۱۵۰	۰ + ۰	٦/۲±۰/۳۵^{c}	۸/۷۸±۰/٤۲^{ab}	۱۰/٤±۰/۵۱^{bc}	۷/۱٤±۰/۳۱^{bc}
۳۰۰ + ۳۰۰	۰ + ۰	۱۱/۳±۰/۵۳^{b}	۹/۷۵±۰/٤۵^{a}	۱۱/۷۰±۰/۵٤^{b}	۹/۵٦±۰/٤۳^{a}
۰ + ۰	۳۰۰ + ۱	۲/٦±۰/۱۸^{f}	٤/۳۵±۰/۲۷^{c}	۵/٦±۰/۲۳^{ae}	۵/۱۸±۰/۲۵^{e}
۱۵۰ + ۱۵۰	۳۰۰ + ۱	٦/۸±۰/۳۹^{b}	۳/٤۸±۰/۳۱^{c}	۱٤/۵٦±۰/۷۹^{a}	۵/۵۰±۰/۲٦^{b}
۳۰۰ + ۳۰۰	۳۰۰ + ۱	۱۳/۲±۰/۸۰^{a}	۲/۸۵±۰/۲۵^{d}	۱۲/۱۱±۰/٦۲^{b}	۷/۱۷±۰/۲۸^{bc}
۰ + ۰	٦۰۰ + ۲	۳/۱±۰/۱۷^{e}	۳/۸۰±۰/۲٦^{c}	٦/۵±۰/۳۸^{d}	٤/۷۰±۰/۲۰^{e}
۱۵۰ + ۱۵۰	٦۰۰ + ۲	۵/۵±۰/۲۵^{c}	۳/۷۲±۰/۳۵^{c}	٤/٤۷±۰/۲۳^{f}	٦/۷۸±۰/۳۵^{d}
۳۰۰ + ۳۰۰	٦۰۰ + ۲	٤/۲±۰/۲۳^{d}	۲/۳۳±۰/۲۰^{d}	۸/۲۳±۰/٤۸^{c}	۷/۸۰±۰/۳۹^{b}

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در روش مقایسه میانگین هستند. اعداد به صورت Mean±SE می‌باشند.

کاربرد لیگاندها موجب کاهش کاتیون‌های آزاد بافت گیاهی شده و تقویت خروج یون‌های سمی از سلول‌ها و بافت‌ها می‌شود (Xu *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2007; Pohlmeier and Prasad, 2004) و موجب بهبود تنش فلز سنگین و اکسیداتیو

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

می‌شود که نتایج مربوط به بهبود شاخص‌های رشد در این تحقیق نیز مشاهده شد (جدول ٦).

تنش ۱۵۰ میکرومولار مس و نیکل دارای تأثیرهای متفاوتی بر میزان قندهای احیاکننده در ارقام مختلف مطالعه شده بودند اما بنابراین سطح سمی ۳۰۰ میکروملار موجب افزایش قندهای اندام هوایی نسبت به شاهد گردید. میزان افزایش به حدود پنج برابر نیز رسید. بنابراین تغییرات افزایش میزان این پارامتر در شرایط تنش به‌ویژه ۳۰۰ میکرومولار میکس نیکل و مس قابل توجه بود. کاربرد دو لیگاند در گیاهان ارقام کال‌جی تحت تنش ۱۵۰ میکرومولار نیکل و مس کاهش قندهای احیاکننده اندام هوایی نسبت به میزان شاهد را باعث گردید (جدول ٥).

به‌طور کلی روند تأثیر تیمارهای تنشی آزمایش بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایشی بود و این موضوع به‌خصوص در مورد تأثیر نیکل و مس بر اندام هوایی صادق است و نشان‌دهنده القا تنش اکسیداتیو در دو رقم گوجه‌فرنگی توسط نیکل و مس است (جدول ٦).

در رقم کال‌جی و ارلی اوربانا سطح ۳۰۰ میکرومولار نیکل و مس به‌ترتیب موجب افزایش پنج و دو برابری فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد در اندام هوایی گردیدند، در حالی که تنش نیکل و مس همزمان با کاربرد لیگاندها در این ارقام تأثیر همزمان معنی¬داری بر کاهش فعالیت کاتالاز داشت (جدول ٦). بنابراین تأثیر همزمان هیستیدین و مالات در هر دو رقم کال‌جی و ارلی اوربانا تحت شرایط تنش و غیرتنش بخوبی مشاهده گردید.

به‌نظر می‌رسد که تیمار همزمان هیستیدین و مالات در مرحله رویشی گیاهان رقم کال‌جی تحت تنش موجب کاهش چشمگیر فعالیت آنزیم کاتالاز شده است. باید توجه نمود که در اندام هوایی رقم کال‌جی تحت شرایط تنش، کاربرد مالات بدون هیستیدین موجب افزایش چند برابری فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد گردید (جدول ٦).

همچنین در رقم کال‌جی مشابه وضعیت قبل، تیمار همزمان دو لیگاند موجب کاهش معنی¬دار سطح فعالیت ارتقایافته آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شرایط تنش در اندام هوایی گردید در حالی که تیمار حاوی ۱+٦۰۰ هیستیدین و مالات موجب کاهش فعالیت آنزیم اخیر گردید. در مورد MDA و سایر آلدئید و آب‌اکسیژنه نیز وضعیت تا حدی مشابه است. (جدول ٦).

گیاهان به آسانی نیکل را در بافت‌های خود تجمع می‌دهند و بر خلاف بسیاری از عناصر کم‌مصرف گیاهی نیکل آزادانه و به سرعت در گیاه انتقال می‌یابد و درنهایت نیز در دانه‌ها تجمع می‌یابد. ایجاد رفتار تنش‌زای نیکل در گیاهان به این دلیل است که نیکل دارای نقش عملکردی و غیرعملکردی مشابه با کاتیون‌های ضروری روی و مس در سیستم ریشه گیاهان است (Holmgren *et al*., 1993). بنابراین محدودیت جذب و انتقال روی و مس در گیاه تحت تنش نیکل موجب بی‌نظمی‌های تغذیه‌ای می‌گردد. مطالعات و سنجش‌های یونی در زمینه تغذیه گیاهی نشان داده است که گیاهان زراعی بسیاری از کاتیون‌های ضروری خود را در آوندهای چوبی به فرم آزاد منتقل نمی‌کنند و چنین عناصری در برگ گیاه به فرم کمپلکس‌های فلزی با بار منفی یافت می‌شوند. این کمپلکس‌های فلزی با مواد آلی مانند اسیدهای آلی تشکیل‌شده و نسبتاً پایدار هم هستند. از جمله این عناصر تشکیل‌دهنده کمپلکس فلزی می‌توان به آهن، کلسیم، مس و روی اشاره نمود و فقط عناصری مانند منگنز به‌صورت کاتیون آزاد یا احتمالاً دارای کمپلکس آنیونی ناپایدار در شیره خام انتقال می‌یابد و در فرایندهای مهمی مانند فتوسنتز برگی شرکت می‌نماید (Yi *et al*., 2013). تحقیقات مربوط به تعیین فرم انتقال نیکل در برگ گیاهان بیش تجمع‌دهنده نیکل نشان داده است که نیکل به‌صورت یک کمپلکس فلزی با بار مثبت یا منفی (بسته به نوع گیاه و غلظت نیکل) دارای جرم مولکولی کم در گیاه انتقال و تجمع می‌یابد. ثابت شده است که کمپلکس‌های کلسیم، نیکل و آهن بیشتر از طریق آوند چوبی منتقل می‌گردد و در حالی که کمپلکس‌های فلزی منگنز و روی بیشتر از طریق آوندهای آبکش در درون گیاه جابه‌جا می‌شوند (Wu *et al*., 2012; Yan *et al*., 2008). در گوجه‌فرنگی یک کمپلکس با بار مثبت از نیکل در آوند چوبی به‌همراه میزان کمی (۳ میکرومولار) از کمپلکس با بار منفی یافت شده است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

این نوع مطالعات نشان می‌دهد که مقادیر غیرسمی نیکل در گیاهان به‌صورت باندشده با مواد آلی وجود دارند و فرم باندشده نیکل تقریباً پایدار بوده و در صورت نفوذ دوباره خاک دارای خطر زیست‌محیطی نمی‌باشد. زمانی که مقدار نیکل جذب‌شده از حد آستانه تحمل یک گیاه بیشتر باشد، توانایی گیاه در باندکردن مقادیر اضافی یون‌های نیکل چندان مشاهده نمی‌گردد و مقادیر اضافی نیکل به فرم آزاد در گیاه تجمع می‌یابد و اثرات تنش‌زای نیکل در این موقع مشاهده می‌گردد (Tiwari *et al*., 2002). این مقادیر اضافی نیکل پس از مرگ گیاه به‌راحتی به محیط‌زیست و مزراع کشاورزی آزاد می‌گردد. معمولاً ۱۰۰ میلی‌گرم نیکل در هر کیلوگرم خاک به‌عنوان آستانه سمیت نیکل برای بسیاری از گیاهان حساس در خاک‌ها محسوب می‌شود (Zhang *et al*., 2008). مقادیر سمی مس در بافت گیاهی می‌تواند موجب تغییر در نفوذپذیری غشا، ساختار کروماتین، فعالیت‌های آنزیمی فرایندهای تنفس، فتوسنتز و القا پیری گردد (Freedman *et al*., 1989; Roitto *et al*., 2005). باندشدن نیکل و مس به لیگاندهایی مانند هیستیدین و مالات در این پژوهش، بخوبی شاخص‌های اکسیدانی و رشدی گیاهان به‌ویژه رقم کال‌جی تحت شرایط تنش را بهبود داد (جداول ۵ و ٦).

شاخص‌های ظرفیت قابلیت تبادل یونی (CEC)، تجمع و میزان حلالیت نیکل و مس در خاک تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله اسیدیته، اتصال به مواد آلی لیگاندی، فعالیت میکروارگانسیم‌های خاک و غلظت کلسیم هستند (Lago-Vila *et al*., 2015; Bhalerao *et al*., 2015). بنابراین وجود لیگاندهای آلی مانند سیترات و آرژینین و همچنین اکسیدهای آهن و منگنز در فاز جامد خاک، موجب افزایش قابل‌توجه جذب سطحی کاتیون‌های نیکل در خاک‌های ماسه‌ای لومی می‌شوند (Georgiadou *et al*., 2018; Conyers *et al*., 2002; Liao *et al*., 2000). در این شرایط کمپلکس ماده آلی- نیکل می‌تواند به جایگاه‌های تبادلی خاک متصل شده و ضریب دسترس‌بودن نیکل یا مس را کاهش دهد (Athar and Ahmad, 2002; Seregin and Kozhevnikova, 2006). همچنین اسیدهای آلی و کربوکسیلی مانند فولویک اسید و هیومیک اسید نیز در خاک به وفور یافت شده و می‌توانند با نیکل کمپلکس‌های پایداری را تشکیل دهند و از غلظت نیکل آزاد خاک بکاهند (Barcelo and Poschenrieder, 2004; Bowler and Fluhr, 2000). در این تحقیق نیز به‌دلیل شباهت‌های ساختاری، لیگاندهای مورد آزمایش (هیستیدین و مالات) دارای همین تأثیرگذاری در جهت رفع و بهبود آثار تنش‌زای سمیت نیکل و مس بودند (جداول ۱ تا ٦).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش ثابت کرد که دو رقم گوجه‌فرنگی مورد استفاده تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای تنشی و مقاومت زای لیگاندی قرار گرفتند. در بسیاری از پارامترهای رشد و اکسیداتیو مانند رشد گیاه، MDA، تجمع آب‌اکسیژنه، فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به‌ویژه در کال‌جی پاسخ چشمگیرتری نسبت به ارلی اوربانا از خود نشان داد و تأثیر فاکتور نوع رقم از لحاظ آماری معنی‌دار بود. نکته قابل‌توجه آن که کاربرد همزمان ۲+٦۰۰ لیگاندهای هیستیدین و مالات تحت شرایط تنش‌زای ۳۰۰ میکرومولار توأم از نیکل و مس به‌ویژه رقم کال‌جی از لحاظ تخفیف تنش اکسیداتیو تأثیرگذارتر بود. به‌طوری که در برخی پژوهش‌های آتی می‌توان اثر ترکیبی لیگاندها را تحت تنش سایر فلزات سنگین نیز بررسی نمود. بررسی سایر ارقام جدید گوجه‌فرنگی یا سایر گیاهان زراعی نیز می‌تواند به تکمیل کاربرد لیگاندهای مرتبط کمک کند. همچنین پیشنهاد می‌گردد این نوع تحقیقات در سطح وسیع مزرعه یا مناطق آلوده صنعتی حتی به‌صورت محلول‌پاشی اجرا شود و نتایج کاربردی آن در مناطق آلوده صنعتی و کشاورزی در اختیار محققین حوزه‌های محیط‌زیست و کشاورزی قرار گیرد. بنابراین می‌توان فعالیت ژنی و محصولات ژن‌ها را در مراحل بالادستی در گیاهان زراعی مانند گوجه‌فرنگی و ارقام جدید گوجه‌فرنگی مورد مطالعه و پژوهش قرار داد. به‌طور کلی در این تحقیق، تیمارهای لیگاندی و یونی به‌صورت جداگانه یا توأم به‌صورت تیمار یونی و لیگاند استفاده شد و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

تأثیر برون‌زای فیزولوژیکی و کاربردی آنها در این پژوهش مد نظر بود. واکنش باندشدن بین کاتیون‌ها و لیگاندها به‌دلیل اثر متقابل آماری از لحاظ پارامترهای مختلف بررسی شد که در نتایج و بحث ارائه شده مشهود بود. بنابراین واکنش لیگاندی محض بین ترکیب‌های تیماری با توجه به تأثیر فیزیولوژیک در تحقیقات آینده انجام خواهد گرفت.

تشکر و قدردانی

ین مقاله بخشی از یک طرح پژوهشی بوده که قرارداد آن به شماره ۹۵/٤٠٤/ص/۷ در پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان به ثبت رسیده است. نویسندگان مقاله مراتب تشکر خود را از مسئولین پژوهشگاه و دانشگاه اعلام می‌دارند.

منابع

امینی، ف.، نوری، م.، عسکری، م.، فروغی، م. و عباس‌پور، ج. (۱۳۹۱) تغییرات القایی نیکل بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های گیاه یونجه تاجی (*Coronilla varia* L.) در کشت هیدروپونیک. مجله تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی ۲: ۱۵۲-۱٤۳.

قادریان، س. م. و مهتدی، ا. (۱۳۸٦) اثر نیکل و کروم بر جوانه‌زنی و رشد در جمعیت‌های سرپنتین و غیرسرپنتین *Alyssum simplex* و *Alyssum bracteatum*. مجله پژوهشی علوم پایه دانشگاه اصفهان، ویژه‌نامه زیست‌شناسی ۲۸: ٤۲-۳۱.

محمدحسینی، م.، نکوئی، م. و رحیمی، م. (۱۳۹۰) وابستگی ثابت‌های تشکیل کمپلکس کادمیم -2 -4-(II) پیریدیل آزو- رزورسینول (PAR) به قدرت یونی در محیط‌های آبی، الکلی و عوامل فعال سطحی غیریونی به روش اسپکتروفوتومتری. مجله شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی ۱: ٦۸-۵۹.

Adriano, D. C. (2001) Trace Elements in Terrestrial Environments. 2nd Ed. Springer, New York.

Ahmad, M. S. A., Hussain, M., Saddiq, R. and Alvi, A. K. (2007) Mungbean: A nickel indicator, accumulator or excluder?. Bull Environmental Contamination Toxicology 78: 319-324.

Ahonen-Jonnarth, U., Roitto, M., Markkola, A. M., Ranta, H. and Neuvonen, S. (2004) Effects of nickel and copper on growth and mycorrhiza of scots pine seedlings inoculated with *Gremmeniella abietina*. Forest Path 34: 337-348.

Alam, M. M., Hayat, S., Ali, B. and Ahmad, A. (2007) Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. Photosynthetica 45: 139-142.

Allen, H. (2002) Terrestrial ecosystems: an overview. In: Bioavailability of Metals in Terrestrial Ecosystems (ed. Allen, H.) Pp. 1-5. SETAC Press, Pensacola.

Andersen, M. K., Raulund-Rasmussen, K., Strobel, B. W. and Hansen, H. C. B. (2002a) Heavy metal distribution and fractionation in pairs SAS Institute. Journal of Soil Sciences 53: 491-502.

Andersen, M. K., Refsgaard, A., Raulund-Rasmussen, K., Strobel, B. W. and Hansen, H. C. B. (2002b) Content, distribution, and solubility of cadmium in arable and forest soils. Soil Sciences Society of American 66: 1829-1835.

Armengaud, P., Thiery, L., Buhot, N., Grenier-de March, G. and Savoure, A. (2004) Transcriptional regulation of proline biosynthesis in *Medicago truncatula* reveals developmental and environmental specific features. Physiologia Plantarum 120: 442-445.

Asher, C. J. (1991) Beneficial elements, functional nutrients and possible new essential elements, micronutrients in agriculture, 2nd Ed. Soil Science Society of America, Madison.

Athar, R. and Ahmad, M. (2002) Heavy metal toxicity in legume-microsymbiont system. Journal of Plant Nutrition 25: 369-386.

Baker, A. J. M., McGrath, S. P., Reeves, R. D. and Smith, J. A. C. (2000) Metal hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metalpolluted soils. In: Phytoremediation of Contaminated Soil and Water (eds. Terry, N. and Ban uelos, G.) Pp. 85-107. Lewis Publishers, Boca Raton.

Barcelo, J. and Poschenrieder, C. (2004) Structural and ultra-structural changes in heavy metal exposed plants. In: Heavy Metal Stress in Plants: from Biomolecules to Ecosystem (ed. Prasad, M. N. V.) Pp. 223-248. Springer, Berlin.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Tears, I. D. (1975) Rapid determination of free proline in water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Bhalerao, S. A., Sharma, A. S. and Poojari, A. C. (2015) Toxicity of nickel in plants. International Journal of Pure and Applied Bioscience 3: 345-355.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

Bowler, C. and Fluhr, R. (2000) The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. Trends in Plant Science 5: 1360-1385.

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.

Chen, C., Chen, T. H., Lo, K. F. and Chiu, C. Y. (2004) Effects of proline on copper transport in rice seedlings under excess copper stress. Plant Science 166: 103-111.

Cobbett, C. and Goldsbrough, P. (2002) Phytochelatins and metallothioneins: Roles in heavy metal detoxification and homeostasis. Annual Review of Plant Biology 53: 159-82.

Conyers, M., Moroni, S. and Wratten, N. (2002) Resistance of rapeseed (*Brassica napus* L.) to aluminium apparent in nutrient solution but not in soil. Proceedings of the Australian Agronomy Conference, Australian Society of Agronomy.

Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. A. (1981) Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany 32: 93-101.

Diaz, J., Bernal, A., Pomar, F. and Merino, F. (2001) Induction of skhikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. Plant Science 161: 179-188.

Freedman, J. H., Ciriolo, M. R. and Peisach, J. (1989) The role of glutathione in copper metabolism and toxicity. Journal of Biological Chemistry 264: 5598-5605.

Gao, S., Yan, R., Cao, M., Yang, W., Wang, S. and Chen, F. (2008) Effects of copper on growth, antioxidant enzymes and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedling. Plant and Soil Environmental 54: 117-122.

Georgiadou, E. C., Kowalska, E., Patla, K., Kulbat, K., Smolinska, B., Leszczynska, J. and Fotopoulos, V. (2018) Influence of heavy metals (Ni, Cu, and Zn) on nitro-oxidative stress responses, proteome regulationand allergen production in basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. Frontiers in Plant Science 9: 86-92.

Ghasemi, R., Ghaderian, S. M. and Kramer, U. (2009) Interference of nickel with copper and iron homeostasiscontributes to metal toxicity symptoms in the nickelhyperaccumulator plant *Alyssum inflatum.* New Phytologist 184: 566-580.

Gonnelli, C., Galardi, F. and Gabrielli, R. (2001) Nickel and copper tolerance and toxicity in three Tuscan populations of *Silene paradoxa*. Physiological Plantarum 113: 507-514.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 12: 189-198.

Holmgren, G. G. S., Meyer, M. W., Chaney, R. L. and Daniels, R. B. (1993) Cadmium, lead, zinc, copper, and nickel in agricultural soils of the United States of America. Journal of Environmental Quality 22: 335-348.

Hwang, N. (1975) Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. Journal of Clinical Microbiology 1: 114-115.

Jones, R. L. (2002) Zinc and cadmium in illinois surface soils. Transactions of the Illinois State Academy of Science 95: 87-97.

Kidd, P. S., Llugany, M., Poschenrieder, C., Gunse, B. and Barcel, J. (2001) The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). Journal of Experimental Botany 52: 1339-352.

Kovacik, J., Gruz, J., Backor, M., Tomko, J., Strnad, M. and Repcak, M. (2008) Phenolic compounds composition and physiological attributes of Matricaria chamomilla grown in copper excess. Environmental Experimental Botany 62: 145-152.

Kupper, H., Gotz, B., Mijovilovich, A., Kupper, F. C. and Meyer-Klaucke, W. (2009) Complexation and toxicity of copper in higher plants. I. Characterization of copper accumulation, speciation, and toxicity in crassula helmsii as a new copper accumulator. Plant Physiology 151: 702-714.

Lago-Vila, M., Arenas-Lago, D., Rodriguez-Seijo, A., Andrade Couce, M. L. and Vega, F. A. (2015) Cobalt, chromium and nickel contents in soils and plants from a serpentinite quarry. Solid Earth 6: 323-335.

Liao, M. T., Hedley, M. J., Woolley, D. J., Brooks, R. R. and Nichols, M. A. (2000) Copperuptake and translocation in chicory (*Cichorium intybus* L. cv Grasslands Puna) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. Cv Rondy) plants grown in NFT system: II. The role of nicotianamine and histidine in xylem sap copper transport. Plant and Soil 223: 243-252.

Lichtenthaler, H. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymology 148: 350-382.

Lukin, A., Dauvalter, V., Kashulin, N., Yakovlev, V., Sharov, A. and Vandysh, O. (2003) Assessment of copper–nickel industry impact on a subarctic lake ecosystem. Science Tot Environment 306: 73-83.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

Luo, M. and Bi, S. (2003) Solid phase extraction-spectrophotometric determination of dissolved aluminum in soil extracts and ground waters. Journal Inorg Biochemistry 15: 173-8.

Mahmood, T. and Islam, K. R. (2006) Response of rice to copper toxicity and acidity. Journal Plant Nutrition 29: 943-957.

Meirs, P., Hada, S. and Aharoni, N. (1992) Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid peroxidation products detected during parsly by a newly developed method. Journal of American Society and Horticulture Science 117: 128-132.

Meriga, B., Reddy, B. K., Rao, K. R., Reddy, L. A. and Kishor, P. B. K. (2004) Aluminium-induced production of oxygen radicals, lipid peroxidation and DNA damage in seedlings of rice (*Oryza sativa*). Journal of Plant Physiology 161: 63-68.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.

Mostofa, M. G., Hossain, M. A., Fujita, M. and Lam-Son Phan Tran, L. (2015) Physiological and biochemical mechanisms associated with trehalose-induced copper-stress tolerance in rice. Scientific Reports 5: 1-16.

Murphy, A. S. (1999) Early copper-induced leakage of K^+ from Arabidopsis seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. Plant Physiology 121: 1375-1382.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Nieminen, T. M. (2004) Effects of soil copper and nickel on survival and growth of Scots pine. Journal of Environmental Monitor 6: 888-896.

Osteras, A. H. and Greger, M. (2006) Interactions between calcium and copper or cadmium in Norway spruce. Biologia Plantarum 50: 647-652.

Panou-Filotheou, H., Bosabalidis, A. M. and Karataglis, S. (2001) Efects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* subsp. hirtum). Annals of Botany 88: 207-214.

Parlac, U. (2016) Effect of nickel on growth and biochemical characteristicsof wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences 76: 1-5.

Pearce, D. A. and Sherman, F. (1999) Toxicity of copper, cobalt, and nickel salts is dependent on histidine metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Bacteriology 181: 4774-4779.

Plewa, M. J. and Wagner, E. D. (1993) Activation of promutagens by green plants. Annual Review of Genetics 27: 93-113.

Pohlmeier, A. and Prasad, N. V. (2004) Heavy Metal Stress in Plants. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Quinn, J. M., Kropat, J. and Merchant, S. (2003) Copper response element and crr1-dependent Ni^{2+}-responsive promoter for induced, reversible gene expression in *Chlamydomonas reinhardtii*. Eucariotic Cell 2: 995-1002.

Reimann, C., Ayras, M., Chekushin, V., Bogatyrev, I., Boyd, R., de Caritat, P., Dutter, R., Finne, T. E., Halleraker, J., Jaeger, H., Kashulina, G., Lehto, O., Niskavaara, H., Pavlov, V., Raisanen, M. L., Strand, T. and Volden, T. (1998) Groundwater composition near the nickel-copper smelting industry on the Kola Peninsula, central Barents Region (NW Russia and NE Norway). Environmental Geochemical Atlas of the Central Barents Region 422-425.

Roitto, M., Rautio, P., Julkunen-Tiitto, R., Kukkola, E. and Huttunen, S. (2005) Changes in the concentrations of phenolics and photosynthates in *Scots pine* (L.) seedlings exposed to nickel and copper. Environmental Pollution 137: 603-609.

Seregin, V. and Kozhevnikova, A. D. (2006) Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. Russ Journal of Plant Physiology 53: 257-277.

Sharma, P. and Bhardwaj, R. (2008) Effect of 28-homobrassinolide on nickel uptake, protein content and antioxidative defence system in *Brassica juncea*. Biologia Plantarum 52: 767-770.

Sigel, A., Sigel, H. and Sigel, R. K. O. (2007) Metal Ions in Life Sciences. 2nd Ed. John Wiley and Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, England.

Sirko, A., Blaszczyk, A. and Liszewska, F. (2004) Overproduction of SAT and /or OASTL in transgenic plants: A survey of effects. Journal of Experimental Botany 55: 1881-1888.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. (2004) Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. Physiologia Plantarum 121: 58-65.

Somogyi, M. (1952) Determination of reducing sugars by Nelson-Somogyi method. Journal of Biology and Chemestry 200: 245.

Sreekanth, T. V. M., Nagajyothi, P. C., Lee, K. D. and Prasad, T. N. (2013) Occurrence, physiological responses and toxicity of nickel in plants. International Journal of Environmental Science and Technology 10: 1129-1140.

Srivastava, S., Mishra, S., Tripathi, R. D., Dwivedi, S. and Gupta, D. K. (2006) Copper induced oxidative stress and responses of antioxidants and phytochelatins in *Hydrilla verticillata* (L.). Royle Aquatic Toxicology 80: 405-415.

Tewari, R. K., Kumar, P. and Sharma, P. N. (2006) Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants. Planta 223: 1145-1153.

Thauer, R. K. (2001) Enzymology: Nickel to the fore. Science 293: 1264-1265.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

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

Volbeda, A. and Fontecilla-Camps, J. C. (2005) Investigations of models related to the active sites of [NiFe] and other nickel-iron enzymes. Coordination Chemistry Review 249: 1609-1619.

Wang, S., He, X. J. and An, R. D. (2010) Responses of growth and antioxidant metabolism to nickel toxicity in *Luffa cylindrica* seedlings. Journal Animal Plant Science 7: 810-821.

Wu, L., Luo, Y. and Song, J. (2007) Methods in Biotechnology, Phytoremediation: Methods and Reviews. Willey, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey.

Wu, Y., Liu, X., Wang, W., Zhang, S. and Xu, B. (2012) Calcium regulates the cell-to-cell water flow pathway in maize roots during variable water conditions. Plant Physiology and Biochemistry 58: 212-219.

Xu, W., Li, W., He, J., Balwant, S. and Xiong, Z. (2009) Effects of insoluble Zn, Cd and EDTA on the growth, activities of antioxidant enzymes and uptake of Zn and Cd in *Vetiveria zizanioides*. Journal of Environmental Sciences 21: 186-192.

Xu, J., Yang, L., Wang, Z., Dong, G., Huang, J. and Wang, Y. (2006) Toxicity of copper on rice growth and accumulation of copper in rice grain in copper contaminated soil. Hemosphere 62: 602-607.

Yan, R., Gao, S., Yang, W., Cao, M., Wang, S. and Chen, F. (2008) Nickel toxicity induced antioxidant enzyme andphenylalanine ammonia-lyaseactivities in *Jatropha curcas* L. cotyledons. Plant Soil and Environment 54: 294-300.

Yi, H., Dey, S., Kumaran, S., Lee, S. G., Krishnan, H. B. and Jez, J. M. (2013) Structure of soybean serine acetyl transferase and formation of the cysteine regulatory complex as a molecular chaperone. JBC Papers. (In Press) Yusuf, M., Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. (2011) Nickel: An overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. Bull Environmental Contamination Toxicology 86: 1-17.

Zhang, Y., Zhang, H. W., Zhen-Cheng, S. U. and Zhang, C. G. (2008) Soil microbial characteristics under long-term heavy metal stress: A case study in Zhangshi Wastewater Irrigation Area, Shenyang. Pedosphere 18: 1-10.

Zoller, T., Skroppa, T., Johnsen, O. and Polle, A. (2003) Apoplastic peroxidases in needles of Norway spruce (*Picea abies* progenies from different crossing environments. Forst Wissencha Ftliches Central Blatt 122: 153-159.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]

An investigation of the response of two new tomato varieties to the use of exogenous histidine and malate ligands to reduce oxidative stress due to the simultaneous toxicity of copper and nickel in hydroponics culture media

Hossein Mozafari[1*], Hassan Salari[1], Hakimeh Oloomi[1], Mohammad Moghtader[2] and Mohammad Mohsen salajeghe[1]

[1]Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran
[2]Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran
(Received: 16/07/2018, Accepted: 14/10/2019)

Abstract

The toxicity of heavy metals such as copper and nickel induces oxidative stress in tomato cultivars, due to the production of free radicals and damage to the plasma membrane due to toxic amounts of copper and nickel. When the negative effects of oxidative stress exceed the ability of the antioxidant resistance system, the plant decreases its growth and yield. In this research, we tried to study the simultaneous effect of two histidine and malate ligands on growth improvement and oxidative stress reduction in two new tomato cultivars including Cal J N3 and Earlyurbana under simultaneous stresses of copper and nickel under standard hydroponic conditions. 9 post-optimization treatments containing concentrations of 150 and 300 µM of copper and nickel, 300 and 600 µM of histidine and 1 and 2 mM of malate were in the base of Hoagland solution. The treatments were applied to plants cultivated at 50 ml Falcon tube containing Hoagland solution without culture medium in three replications. After treatment, parameters such as morphological growth, total protein content, changes in the activity of catalase and peroxidase enzymes, H_2O_2 accumulation, Malon dialdehyde and so on were measured in both cultivars. The results showed that the simultaneous use of 600 µM and 2 mM from histidine and malate ligands had a significant effect on oxidative stress improvement on tomato cultivars under 300 µM of nickel and copper stresses. Thus, by adding ligands in stress conditions, oxidant indices improved in comparison with control, indicating a greater correlation between plasma membrane and reduced absorption and transport of nickel and copper free cations. In addition, Cal j N3 cultivar gave a more significant relative response to the growth and oxidation parameters of ligands under stress conditions. Ligands seemed to confront by the influence of heavy metals on physiological, molecular, enzymatic activity and nutrient substitution, which indicates further study of the effect of ligands on the molecular level.

Keywords: Catalase, Copper, Malon dialdehyde, Nickel, Peroxidase

Corresponding author, Email: mozafari.hossein@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.5.8]