مقاله پژوهشی

نقش همزیستی میکوریزی در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از فلز سنگین منگنز در گیاه پسته

فرشته محمدحسنی جور[1*] و علی احمدی مقدم[2]

[1] گروه زیست شناسی،دانشگاه پیام نور، تهران، ایران،[2] گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۱۰/۰۱)

چکیده

به‌منظور بررسی نقش همزیستی اکتومیکوریزی گیاه پسته رقم فندقی با قارچ *Agaricus bisporus* در مقاومت به غلظت‌های متفاوت از فلز منگنز، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج سطح فلز منگنز (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار) و دو سطح تلقیح و عدم تلقیح با این قارچ، در سه تکرار اجرا گردید و تأثیر این همزیستی بر پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه، پراکسیداسیون لیپیدی، درصد آغشتگی (درصد میکوریزی‌شدن) ریشه‌ها و میزان تجمع فلزی در اندام هوایی و ریشه‌های گیاهان میکوریزی وغیرمیکوریزی مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج، تحت شرایط تنش فلز سنگین منگنز، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی مشاهده شد. کاهش محتوای آسکوربات و گلوتاتیون و کاهش معنی‌دار درصد آغشتگی ریشه‌ها نیز با افزایش غلظت فلز سنگین مشاهده شد. میزان فلز منگنز منتقل‌شده از ریشه به بخش هوایی در گیاهان همزیست‌شده با قارچ کمتر از گیاهان غیرهمزیست بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که قارچ میکوریزی *Agaricus bisporus* به لحاظ بهبود سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان و ممانعت از انتقال فلز سنگین به بخش هوایی، خطرات ناشی از تنش فلزات سنگین بر رشد گیاه پسته را تعدیل می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، اکتومیکوریز، پسته فندقی، منگنز

مقدمه

امروزه یکی از مسائل زیست‌محیطی آلوده‌شدن خاک زیرکشت گیاهان مختلف به فلزات سنگین است. در حقیقت فعالیت‌های انسانی مانند توسعه صنایع، ذوب فلزات، استخراج معادن، مصرف کودهای شیمیایی حاوی فلزات سنگین ممکن است منجر به تجمع زیاد فلزات سنگین در خاک شود (هاشمی و اسرار، ۱۳۸۹). اگرچه برخی از این فلزات مانند مس، آهن، منگنز و روی جزء عناصر ریزمغذی ضروری هستند که برای محدوده وسیعی از فرآیندهای سلولی مورد نیاز هستند اما در غلظت‌های بالاتر از حد بهینه سبب القای تنش اکسیداتیو و ایجاد رادیکال‌های فعال اکسیژن شده و از طریق اختلال در ساختار غشاء و آسیب به ماکرومولکول‌های حیاتی گیاه بر رشد گیاه اثر منفی گذاشته و یا حتی منجر به مرگ گیاه می‌شوند (Dalvi and Satish, 2013). از جمله مکانیسم‌های سلولی برای کاهش سمیت فلزی، غیرمتحرک‌سازی یون‌های فلزی از طریق همزیستی میکوریزی و از جمله اکتومیکوریز است (Fernandez *et al.*, 2017). در ارتباط با نقش قارچ اکتومیکوریز در تحمل فلزات سنگین توسط گیاه میزبان، اکثر

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Fereshtehmhasani@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

مکانیسم‌های پیشنهادشده فرایندهای متنوعی از دفع را شامل می‌شوند که حرکت فلزات به ریشه‌های میزبان را محدود می‌کنند (Mohammadi and Khalesro, 2010). نتایج بررسی‌ها نشان داده است که در خاک‌هایی که دارای قارچ اکتومیکوریزی به‌صورت همزیست با گیاه هستند میزان فلزات سنگین موجود در خاک کمتر از حالتی است که همزیستی اکتومیکوریزی وجود ندارد (نادرنژاد، ۱۳۹۲).

پسته با نام علمی (*Pistacia vera* L.) یکی از گیاهان مهم تیره Anacardiaceae (سماق) است که متعلق به راسته سداب (Sapindales) است و ایران به‌عنوان دومین صادرکننده پسته بعد از آمریکا شناخته شده است (Schramm, 2019). محصول این گیاه از عمده‌ترین محصولات صادراتی غیرنفتی می‌باشد و از جمله درختانی است که رابطه همزیستی آن هم به‌صورت میکوریز وزیکولار آربوسکولار و هم اکتومیکوریزی گزارش شده است به‌طوری‌که این گیاه با گونه‌های مختلفی از قارچ *Glomus* و *Gigaspora* وارد رابطه میکوریزی از نوع وزیکولار آربوسکولار می‌گردد و اثرات مثبت این همزیستی در بهبود جذب عناصر معدنی توسط Kafkas و Ortas (۲۰۰۹)، صالحی و همکاران (۱۳۸۷) و افزایش تحمل به تنش شوری توسط فلاحیان و همکاران (۱۳۸٤) به اثبات رسیده است. همچنین اثرات مثبت همزیستی اکتومیکوریزی این گیاه با قارچ *Agaricus bisporus* در جلوگیری از سمیت منیزیم توسط بهرامی سیرمندی و همکاران (۱۳۸۹)، در جلوگیری از سمیت فلز سنگین کادمیوم محبوب القلوب (۱۳۹۰) و در تخفیف اثرات اشعه UV توسط نادرنژاد (۱۳۹۲) گزارش شده است.

کودهای شیمیایی که در زمین‌های کشت پسته استفاده می‌شود دارای مقادیر بالایی از فلزات سنگین می‌باشد و احتمال جذب این فلزات توسط درختان پسته و اثرات سوء آنها بر درخت و بر انسان به‌عنوان مصرف‌کننده مورد تأمل و بررسی است (پناهی، ۱۳۸۷). ایجاد ارتباط و همزیستی میکوریزی از نوع اکتومیکوریز و نقش آن در افزایش تحمل فلز سنگین در بسیاری از گیاهان گزارش شده است اما تا کنون این مورد در گیاه پسته گزارش نشده است و تنها در مورد عنصر غذایی منیزیم و فلز سنگین کادمیوم مطالعات محدودی انجام شده است. از این‌رو در این تحقیق سعی می‌شود تا به اثبات تأثیر مثبت همزیستی اکتومیکوریزی قارچ *Agaricus bisporus* با گیاه پسته در تحمل یکی از تنش‌های رایج در زمین‌های کشاورزی پرداخت تا اثر مثبت این رابطه بر گیاه پسته به خاطر اهمیت این محصول از نظر تغذیه‌ای و اقتصادی بررسی شود که آیا نتیجه این همزیستی مسالمت‌آمیز به‌نفع گیاه پسته می‌باشد و یا خیر.

مواد و روش‌ها

پس از جمع‌آوری قارچ *Agaricus bisporu* (J. Langes) از زیر درختان پسته در باغی واقع در ایستگاه شماره ۲ مؤسسه تحقیقات پسته کشور واقع در رفسنجان- کرمان، این قارچ در محیط‌کشت ملین – نورکرانس آگار (MMN) شامل: (۰/۵ g) KH_2PO_4، (۰/۰۲۵ g) NaCl، (۰/۰۵ g) $CaCl_2$، (۰/۱۵ g) $MgSO_4$، (۰/۲۵ g) $(NH4)_2HPO_4$، (۱۰۰ mg) کلرید تیامین، (۱/۲ml) Fe (Cl_3)، عصاره مالت (۳ g) و گلوکز (۱۰ g) در شرایطی کاملاً استریل رشد کرد (Marx, 1969).

محیط‌کشت در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر تهیه شد و پس از اضافه‌کردن ۱۵ گرم آگار و پس ازتنظیم pH محلول به میزان ۵/۸، مرحله استریل محلول موردنظر از طریق اتوکلاو به‌مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد انجام شد. ظرف‌های محیط‌کشت پس از کشت قارچ در شرایط استریل به‌مدت چهار هفته در دمای معمولی اتاق قرار داده شدند تا قارچ‌ها رشد کنند (Laiye *et al.*, 2003). به‌منظور ایجاد نهال‌های پسته، بذرهای پسته پس از خیس‌شدن در آب به‌مدت دو هفته در دمای ٤ درجه قرار گرفتند و در محلول ۰/۵ درصد هیپوکلرید کلسیم و سپس در محلول توئین یک درصد گذاشته و درنهایت چهار بار با آب مقطر استریل شسته شدند تا استریل شوند. این کار دو بار تکرار شد، سپس بذرهای داخل پتری‌دیش استریل در دمای آزمایشگاه در تاریکی قرار داده شدند تا جوانه بزنند. پیت و پرلیت چهار بار با آب شیر شسته و خشک شدند و در ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و در دمای

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

۱۲۱ درجه و به‌مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. سه هفته بعد از جوانه‌زنی، گیاهک‌ها در شرایط استریل به ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری که حاوی پرلیت به مقدار ٥٤ گرم و پیت‌ماس به مقدار ٦/٥ گرم بود، وارد شدند و ۸۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند با غلظت ۱/۲ نیز افزوده شد (Gellier *et al.*, 1984). در کنار ریشه‌های نیمی از ارلن‌ها، قطعات قارچ یک اندازه (۱۰ دیسک) گذاشته شد. هر یک از دو گروه از ارلن‌ها که حاوی گیاهان میکوریزی و یا غیرمیکوریزی بودند به چهار گروه با حداقل سه تکرار تقسیم شدند. بعد از هشت هفته از رشد گیاهک‌ها، به‌منظور تشخیص و اطمینان از اکتومیکوریزی شدن نهال‌ها، از ریشه‌هایی که احتمال وجود اکتومیکوریزی را داشته برش‌های عرضی گرفته وپس از رنگ‌آمیزی با متیلن بلو یک درصد، در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شدند. پس از اطمینان از ایجاد ارتباط میکوریزی بین نهال‌ها وقارچ و پس از بهینه‌سازی غلظت‌های مورد استفاده از فلز منگنز جهت تیمار، گیاهان میکوریزی وغیرمیکوریزی به‌مدت هشت هفته در اتاقک رشد با شرایط کنترل‌شده تحت دوره نوری ١٦/٨ (تاریکی /نور)، دوره دمایی ۲۸/۱۸ درجه سانتی‌گراد (شب/روز) و رطوبت نسبی ٦٠-٥٠ درصد، تحت تیمار پنج غلظت از فلز منگنز (صفر، ۲۰۰، ٤٠٠، ٦٠٠ و ۸۰۰ میکرومولار) با استفاده از نمک سولفات منگنز قرار گرفتند.

درصد میکوریزی ریشه‌ها: بعد از گذشت شش هفته از تلقیح و اطمینان از ایجاد ارتباط میکوریزی، ریشه‌های میکوریزی‌شده در زیر استریوسکوپ مورد مطالعه قرار گرفتند. به این صورت که ریشه‌های میکوریزی روی کاغذ میلی‌متری به‌صورت تصادفی پخش شدند و نقاط برخورد ریشه با خطوط اصلی کاغذ و نیز تعداد نقاط برخوردی که واجد آغشتگی بودند شمارش شدند. پس از آن نسبت این نقاط آغشته به کل نقاط برخوردی برحسب درصد محاسبه گردید و به‌صورت درصد آغشتگی ریشه‌ها به اکتومیکوریزی ذکر شد(Turjaman *et al.*, 2005).

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) که محصول اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع هستند، اندازه‌گیری شد. اندازه گیری غلظت مالون دی‌آلدهید به روش Heath و Packer (١٩٦٨) انجام شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ mM^{-1} Cm^{-1} استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری برحسب میکرومول بر وزن تر گیاه محاسبه و ارائه گردید.

سنجش مقدار اسید آسکوربیک: برای سنجش مقدار اسید آسکوربیک از روش De Pinto و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد. برای اندازه‌گیری مقدار آسکوربیک اسید، ۰/۵ گرم بافت تازه وزن شد و در ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۵٪ ساییده شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس به محلول رویی بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار، آلفا -آلفا دی پیریدیل ٤٪، ۱۰ میکرولیتر $FeCl_3$ اضافه شده و بعد شدت جذب را در طول‌موج ۵۲۵ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری مقدار گلوتاتیون احیا (GSH): اندازه‌گیری مقدار گلوتاتیون احیا براساس روش المن (Ellman, 1959) انجام گرفت. براساس این روش ۰/۵ گرم بافت تازه برگی در ٤ میلی‌متر متافسفریک ۱۵ درصد سائیده شد و عصاره حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در g× ۱۰۰۰۰ و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. به ۲۰۰ میکرولیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ ٢/٦ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات و ۲۰۰ میکرولیتر محلول DTNB ٦ میلی‌مولار اضافه گردید و پس از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در ٤١٢ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت گلوتاتیون احیا از منحنی استاندارد آن استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو، سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX): فعالیت این آنزیم براساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=٧)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات براساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر به‌مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت آسکوربات اکسیدشده از ضریب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

خاموشی آن معادل $۲/۸\ mM^{-۱}\ Cm^{-۱}$ و فرمول $A=\varepsilon bc$، استفاده شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به‌عنوان مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول آسکوربیک اسید را در مدت ۱ دقیقه اکسید کند.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری SOD: پس ازتهیه عصاره آنزیمی مخلوط واکنشی شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، NBT ۰/۰۷۵ میکرومولار، Na-EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۷۵ میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم علاوه بر شاهد (برای صفرکردن دستگاه اسپکتروفتومتر) نیاز به نمونه کنترل نیز می‌باشد. میزان فعالیت آنزیم SOD درنمونه‌ها در مقایسه با کنترل سنجیده می‌شود.

در لوله کنترل نیز مخلوط واکنش ذکرشده وجود داشت با این تفاوت که به آن عصاره آنزیمی اضافه نشد. بنابراین به دلیل عدم وجود آنزیم در کنترل، احیاء NBT در حضور نور (احیاء نوری) به‌طور ۱۰۰٪ در کنترل انجام و تمام نیتروبلو تترازولیوم موجود در مخلوط واکنش در حضور نور به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب کنترل در ٥٦۰ نانومتر نشان‌دهنده ۱۰۰٪ احیاء نوری NBT است ونیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی است. بنابراین یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز مقدار آنزیمی است که موجب ۵۰٪ ممانعت از احیاء نوری احیای نیتروبلو تترازولیوم (یا جلوگیری ازتبدیل آن به فورمازون) می‌گردد. اختلاف جذب نمونه‌ها و کنترل در ٥٦۰ نانومتر نشان دهنده مهار احیاء نوری NBT در حضور آنزیم SOD موجود در نمونه است (Giannopolitis and Raies, 1977). با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) در ۵۰ میکرولیتر عصاره حاصل از روش Bradford (۱۹۷٦) بیان گردید.

سنجش میزان فلز منگنز در ریشه و اندام هوایی: به‌منظور اندازه‌گیری میزان فلز منگنز در بافت گیاه از روش جذب اتمی Lozak و Soltyk (۲۰۰۲) استفاده شد. ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی خشک (ریشه و اندام هوایی) در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ حل و سوسپانسیون اسیدی حاصل به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. محلول‌ها با آب دیونیزه به حجم رسیده و مقدار جذب آنها با کمک دستگاه جذب اتمی مدل (Varian SpertrAA-220) ساخت ژاپن انجام گرفت. در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد و با استفاده از معادله $y = 8.425x - 3.6188$ غلظت فلز تعیین گردید.

آنالیز آماری: این تحقیق در قالب یک طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با پنج سطح فلز منگنز (صفر، ۲۰، ٤۰۰، ٦۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر) و دو سطح تلقیح و عدم تلقیح با قارچ و در سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پارامترها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 تحت آنالیز واریانس یک‌طرفه قرار گرفتند و میانگین داده‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P < ۰/۰۵$ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر تیمار منگنز بر غلظت مالون دی‌آلدئید: میزان سنتز مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی در برگ‌های هر دو گروه از گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی از غلظت ۲۰۰ میکرومولار منگنز به بعد نسبت به گیاهان شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش یافت که البته این میزان در گیاهان غیرمیکوریزی نسبت به گیاهان میکوریزی بیشتر بود. بیشترین درصد افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید در غلظت ۸۰۰ میکرومولار منگنز در رقم فندقی غیرمیکوریزی بود که ٥۸/٦۱ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش داشت.

این نتایج حاکی از این است که فلز منگنز موجب القای تنش اکسیداتیو و درنتیجه تولید بیشتر گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه پسته شده است (شکل ۱ و جدول ۱).

نتایج حاصل از تأثیر تیمار منگنز بر محتوای آسکوربیک اسید و گلوتاتیون احیا: اثر فلز سنگین منگنز بر محتوای آسکوربیک اسید و گلوتاتیون احیا در نمودار (۲ و ۳) نشان داده شده است. در تیمار گیاهان دو رقم پسته میکوریزی و غیرمیکوریزی با فلز منگنز کاهش محتوای آسکوربات با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس (مقادیر میانگین مربعات) تأثیر سطوح مختلف فلز منگنز بر محتوای مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز)، گلوتاتیون و غلظت منگنز در ریشه و اندام هوایی در برگ پسته فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی

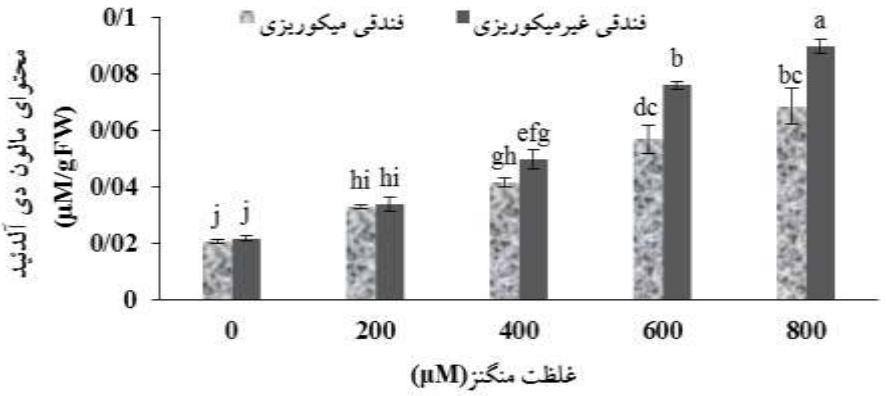
منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای مالون دی‌آلدئید	محتوای گلوتاتیون	محتوای آسکوربات	درصد میکوریزی
		µM/gFW	mg/gFW		
منگنز	٤	۰/۱٤۹**	۱۸۸/۸**	۱/۱**	۱۵۵/۳**
میکوریزی	۱	۰/۰۳٤**	۵۳۱/۷**	۰/۹۹٦**	۷۵۵۲/۵**
منگنز × میکوریز	٤	۰/۰۰٦**	۱۷/۹۵**	۰/۰۰٦^{ns}	۱۵۵/۳**
خطا	۲۰	۰/۰۰۱	۳/۸۵	۰/۰۱۹	۳/٦
کل	۳۰				

** **بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۱،** * **بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵،** ^{ns} **معنی‌دار نیست.**

ادامه جدول ۱-

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای منگنز ریشه	محتوای منگنز اندام هوایی	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز
		mg/gDW		U/mg protein	
منگنز	٤	۰/۰۱**	۰/۰۲۳**	۵۷/۹**	۲۰/۱۹**
میکوریزی	۱	۰/۰۰۹**	۰/۰۳٦**	۱۰/۸۵**	٦/۹۹**
منگنز × میکوریز	٤	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۹**	۲/۲۵	۰/۵۵**
خطا	۲۰	۰/۰۰۱	۰	۰/۱٤۷	۰/۰۹۸
کل	۳۰				

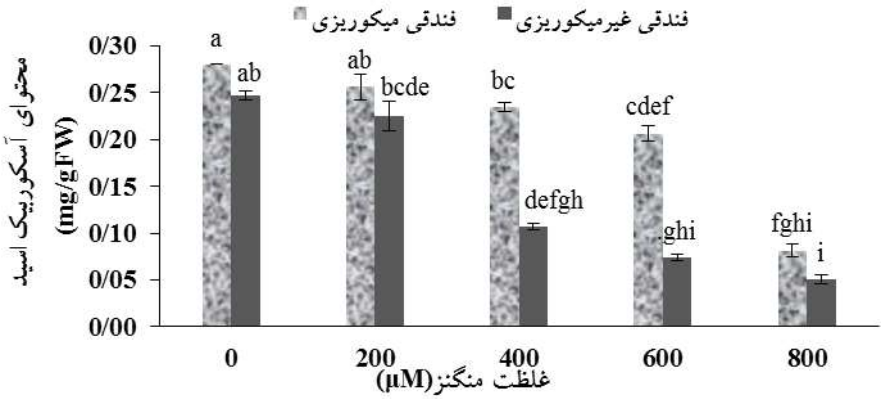
** **بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۱،** * **بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵،** ^{ns} **معنی‌دار نیست.**



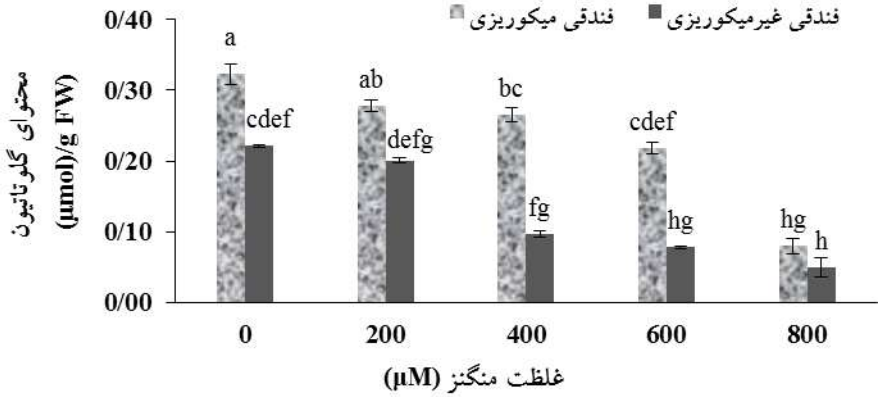
شکل ۱- اثر سطوح مختلف فلز منگنز بر محتوای مالون دی‌آلدئید در برگ پسته فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند.

افزایش غلظت منگنز در محلول غذایی گزارش شد که این کاهش از غلظت ٤۰۰ میکرومولار نسبت به گیاهان شاهد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]



شکل ۲- اثر سطوح مختلف فلز منگنز بر محتوای آسکوربیک اسید در برگ پسته فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند.



شکل ۳- اثر سطوح مختلف فلز منگنز بر محتوای گلوتاتیون احیا در برگ پسته فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند.

معنی‌دار بود (شکل ۲).

در تیمار هر دو گروه از گیاهان پسته میکوریزی و غیرمیکوریزی با فلز منگنز، کاهش محتوای گلوتاتیون با افزایش غلظت منگنز در محلول غذایی گزارش شد که این کاهش در مورد گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی از غلظت ٤۰۰ میکرومولار نسبت به گیاهان گروه شاهد معنی‌دار بود. محتوای گلوتاتیون برگ گیاهان غیرمیکوریزی نسبت به گیاهان میکوریزی کاهش بیشتری داشت که این کاهش معنی‌دار بود. بیشترین میزان کاهش محتوای گلوتاتیون برگ در تیمار گیاهان با فلز منگنز، در غلظت ۸۰۰ میکرومولار منگنز بود که ۷۷/۹۹ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش را نشان داد (شکل ۳، جدول ۲ و ۳).

نتایج حاصل از اثر منگنز بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو در گیاه پسته: منگنز سبب القای بیشتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو در برگ گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی شد. نمودار شکل ٤ (A-B) نشان داد که فعالیت دو آنزیم SOD، APX به‌ویژه در غلظت‌های بالای تیمار (٦۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار) بین دو گروه گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی افزایش معنی‌داری را نشان داد.

افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار گیاهان با فلز منگنز در مورد پسته میکوریزی از غلظت ۲۰۰ میکرومولار و در ارقام غیرمیکوریزی از غلظت ٤۰۰ میکرومولار نسبت به گیاهان گروه شاهد معنی‌دار بود (شکل ٤A).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

جدول ۲- جدول مقایسه میانگین‌های تأثیر سطوح مختلف فلز منگنز بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز)، محتوای مالون دی‌آلدئید، گلوتاتیون و غلظت منگنز در ریشه و اندام هوایی در برگ پسته فندقی میکوریزی

تیمار منگنز	محتوای منگنز ریشه	محتوای منگنز اندام هوایی	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز
	mg/gDW		U/mg protein	
شاهد	۰/۰۸۳۷^{g}	۰/۰۶۰۰^{m}	۰/٤۱۸۳^{g}	۰/٦۸۸۲^{hg}
۲۰۰ میکرومولار	۰/۰۹۹۷^{fgh}	۰/۰۸۳۰^{lm}	۰/۷۰٦۷^{fg}	۱/۷۸۷۷^{ef}
٤۰۰ میکرومولار	۰/۱۱۰۷^{efgh}	۰/۰۸۸۳^{klm}	۱/٤۱۹۳^{f}	۲/۲٦۰٦^{d}
٦۰۰ میکرومولار	۰/۱۱۹۰^{defgh}	۰/۱۰۹۷^{jkl}	٦/۱٥۹۰^{b}	۳/۷۷۲۸^{c}
۸۰۰ میکرومولار	۰/۲۳۹۷^{b}	۰/۱۲٦۳^{ij}	۸/٦٥۰۰^{a}	٦/۱۰۱۹^{a}

حروف مشترک در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی دار تیمارها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. داده‌ها، میانگین سه تکرار ± SE است.

ادامه جدول ۲-

تیمار منگنز	محتوای مالون دی‌آلدئید	محتوای گلوتاتیون	محتوای آسکوربات	درصد میکوریزی
	µM/gFW	mg/gFW		
شاهد	۰/۰۲۰٦^{j}	۰/۳۲۳۱^{a}	۰/۲۸۰۰^{a}	٤٥^{a}
۲۰۰ میکرومولار	۰/۰۳۲۸^{hi}	۰/۲۷۸۰^{ab}	۰/۲٥٦۱^{ab}	۳۷/٦٦۷^{bc}
٤۰۰ میکرومولار	۰/۰٤۱٤^{gh}	۰/۲٦٤۹^{bc}	۰/۲۳٤۷^{bc}	۳۱/٦٦٤^{ed}
٦۰۰ میکرومولار	۰/۰٥٦۸^{dc}	۰/۲۱۸٤^{cdfe}	۰/۲۰٦٤^{cdef}	۲٥/۳۳۳^{fg}
۸۰۰ میکرومولار	۰/۰٦۸۳^{bc}	۰/۰۷۹۹^{hg}	۰/۸۱٥^{fghi}	۱۹^{h}

حروف مشترک در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی دار تیمارها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. داده‌ها، میانگین سه تکرار ± SE است.

جدول ۳- جدول مقایسه میانگین های تأثیر سطوح مختلف فلز منگنز بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی(کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز)، محتوای مالون دی‌آلدئید، گلوتاتیون و غلظت منگنز در ریشه و اندام هوایی در برگ پسته فندقی غیرمیکوریزی

تیمار منگنز	محتوای منگنز ریشه	محتوای منگنز اندام هوایی	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز
	mg/gDW		U/mg protein	
شاهد	۰/۰٦۸۷^{g}	۰/۰۸٥۰^{lm}	۰/۳۰٤۳^{g}	۰/٥۷۰۹^{ij}
۲۰۰ میکرومولار	۰/۰۸٥۳^{fgh}	۰/۱۰۳۰^{jkl}	۰/٥۰۷۳^{fg}	۱/۰۳۱۷^{hi}
٤۰۰ میکرومولار	۰/۰۹۷۷^{fgh}	۰/۱۲۱۷^{ijk}	۰/٦٤۷۳^{fg}	۱/٤۰۷۹^{fgh}
٦۰۰ میکرومولار	۰/۱۰۲۰^{fgh}	۰/۱٦۷۰^{b}	٤/۱٦۹۳^{de}	۲/۱۷۳۲^{de}
۸۰۰ میکرومولار	۰/۱۲٥۰^{defgh}	۰/۳۳٤۷^{b}	٥/۷۱۰۳^{b}	٤/٦۰۰٥^{b}

حروف مشترک در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی دار تیمارها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. داده‌ها، میانگین سه تکرار ± SE است.

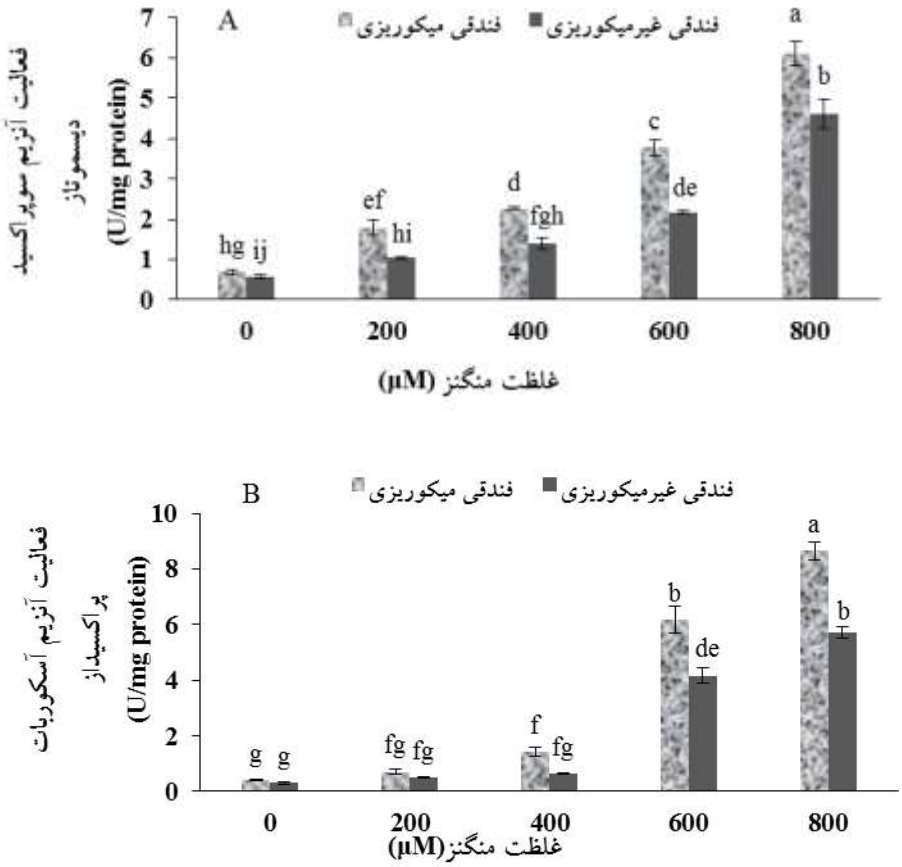
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

ادامه جدول ۳-

تیمار منگنز	محتوای مالون دی‌آلدئید	محتوای گلوتاتیون	محتوای آسکوربات	درصد میکوریزی
	µM/gFW	mg/gFW		
شاهد	۰/۰۲۱٦^{j}	۰/۲۲۱٦^{cdef}	۰/۲٤۷۰^{ab}	–
۲۰۰ میکرومولار	۰/۰۳۳٥^{hi}	۰/۲۰۰٦^{defg}	۰/۲۲٤۸^{bcde}	–
٤۰۰ میکرومولار	۰/۰٤۹۷^{efg}	۰/۰۹۷۰^{fg}	۰/۱۰٦۹^{defgh}	–
٦۰۰ میکرومولار	۰/۰۷٥۸^{b}	۰/۰۷۸۳^{hg}	۰/۰۷۳۷^{ghi}	–
۸۰۰ میکرومولار	۰/۰۸۹۷^{a}	۰/۰٤۹۹^{h}	۰/۰٥۰۳^{i}	–

حروف مشترک در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی دار تیمارها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ٥ درصد می‌باشد. داده‌ها، میانگین سه تکرار ± SE است.

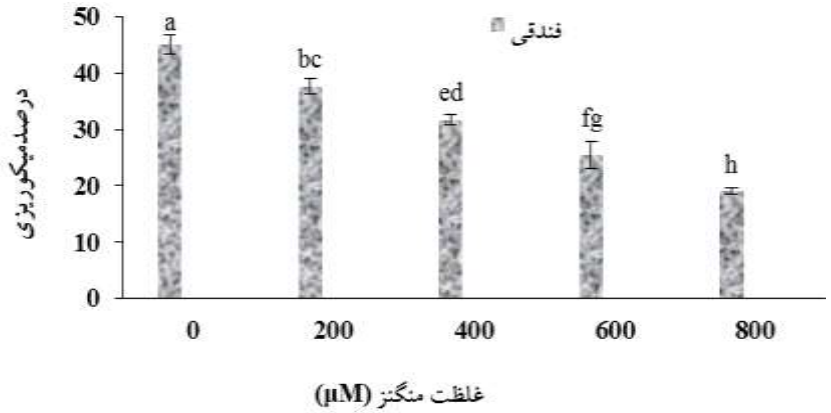


شکل ٤- A اثر سطوح مختلف فلز منگنز بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در برگ پسته فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی. B اثر سطوح مختلف فلز منگنز بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ پسته فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰٥) می‌باشند.

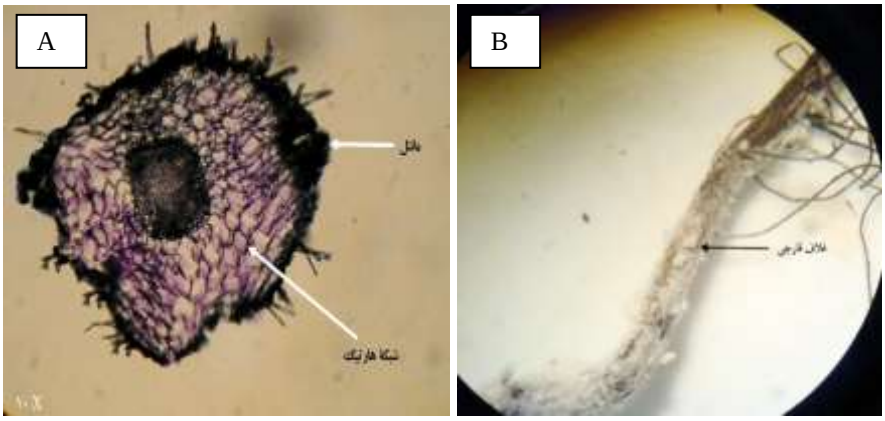
افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در مورد گیاهان میکوریزی از غلظت ٤۰۰ میکرومولار و در مورد گیاهان غیرمیکوریزی از غلظت ٦۰۰ میکرومولار منگنز نسبت به گیاهان شاهد گزارش شد. در این دو غلظت در میزان فعالیت این آنزیم بین دو گروه گیاه میکوریزی و غیرمیکوریزی نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (شکل ٤B).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]



شکل ۵- اثر سطوح مختلف فلز منگنز بر درصد آغشتگی ریشه رقم پسته فندقی میکوریزی (M). داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند.



تصویر ۱- ریشه‌های اکتومیکوریزی شده پسته رقم فندقی در زیر میکروسکوپ تشریحی (A) و میکروسکوپ نوری (B)

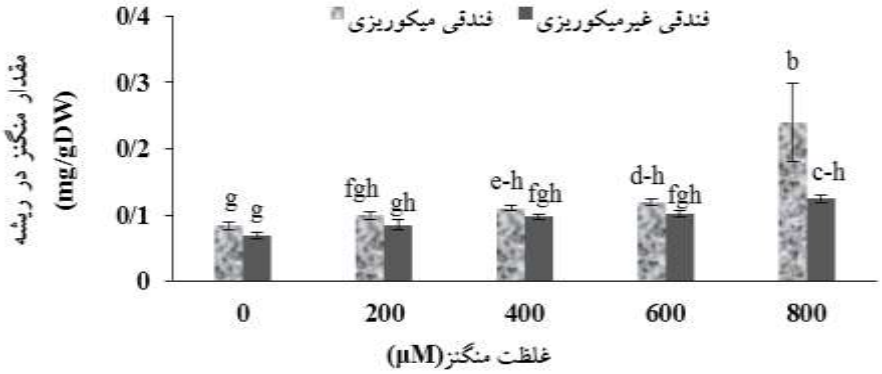
نتایج درصد آغشتگی ریشه‌ها به اکتومیکوریز در غلظت‌های متفاوت فلز منگنز: با افزایش غلظت فلز منگنز در محلول غذایی کاهش معنی‌داری در درصد آغشتگی ریشه‌ها مشاهده شد. کمترین درصد آغشتگی ریشه‌ها در غلظت ۸۰۰ میکرومولار منگنز بود که ۵۷/۷۷ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد و بیشترین میزان آغشتگی، در غلظت ۲۰۰ میکرومولار منگنز بود که فقط ۱۵ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد (شکل ۵ و تصویر ۱).

نتایج حاصل از اثر تیمار منگنز بر میزان تجمع فلز در ریشه و بخش هوایی در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی پسته: بر طبق دو نمودار ٦ و ۷، کاربرد منگنز در سطوح مختلف موجب انباشت این فلز در بخش‌های ریشه‌ای در مقایسه با بخش هوایی در گیاهان میکوریزی شده است به‌طوری‌که بیشترین میزان انباشتگی در ریشه گیاهان میکوریزی، در غلظت ۸۰۰ میکرومولار منگنز بود که ۱۸٦/٤٥٤ درصد افزایش را نسبت به گیاهان شاهد داشت (شکل ٦). افزایش معنی‌دار غلظت منگنز در بخش هوایی گیاهان غیرمیکوریزی از غلظت ٦۰۰ میکرومولار و در گیاهان میکوریزی در غلظت ۸۰۰ میکرومولار نسبت به گیاهان گروه شاهد مشاهده شد (شکل ۷ و تصویر ۲).

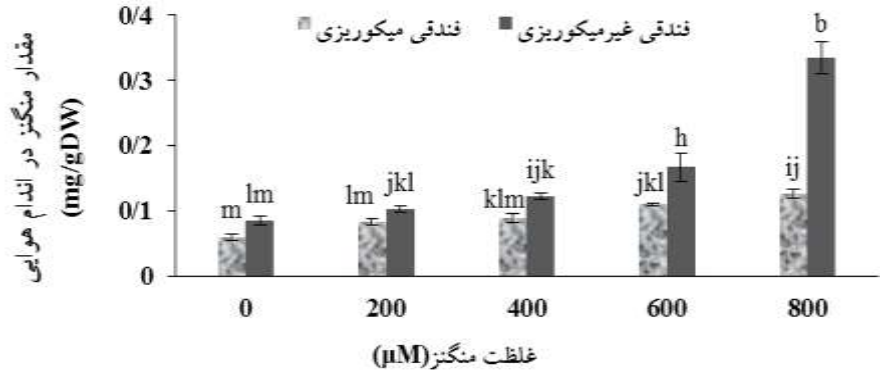
بحث

منگنز پنجمین عنصر در پوسته کره زمین از نظر فراوانی است و در طبیعت به‌صورت آزاد وجود ندارد. دسترسی منگنز برای گیاه به‌وسیله فرایندهای ردوکس که به pH و دسترسی الکترون بستگی دارد کنترل می‌شود در خاک‌های اسیدی، آتشفشانی و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]



شکل ٦- محتوای منگنز ریشه در پسته فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی در تیمارهای مختلف منگنز. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند.



شکل ۷- محتوای منگنز اندام هوایی در پسته فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی در تیمارهای مختلف منگنز. . داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند.



تصویر ۲- گیاه پسته رقم فندقی میکوریزی و غیرمیکوریزی تحت تیمار با فلز منگنز

غرقابی، افزایش احیای منگنز باعث تبدیل اشکال مختلف این عنصر به شکل فعال جذبی شده و منجر به مسمومیت می‌شود (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸٤). یکی از مکانیسم‌های بروز سمیت در بافت‌های گیاهی در حضور فلزات سنگین از قبیل منگنز تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد تنش اکسیداتیو است رادیکال‌های آزاد با اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

غیراشباع واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده، و به تخریب اسیدهای چرب و تولید مالون دی‌آلدئید منجر می‌شوند (Taeck Jong *et al*., 2011). تنش منگنز و مقایسه آن با نمونه‌های شاهد نشان داد افزایش غلظت منگنز در محیط سبب القای تولید MDA می‌شود که این افزایش در گیاهان غیرمیکوریزی بیشتر و در بالاترین غلظت تیمار با فلز منگنز تفاوت معنی‌داری از لحاظ محتوای این پارامتر بین دو گروه گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی مشاهده شد. این ترکیب به عنوان یک شاخص بیوشیمیایی برای تعیین آسیب‌های غشای شناخته شده است. افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید در پاسخ به تنش روی، مس و کادمیوم در گیاه میکوریزی لوبیا قرمز و گندم (Rabie, 2005) و در پاسخ به تیمار روی و مس در گیاه میکوریزی قهوه عربی (Andrade *et al*., 2010)، در پاسخ به تنش کادمیوم در گیاه میکوریزی گوجه (Hashem and Egamberdieva, 2016) نیز گزارش شده است.

ایجاد ارتباط میکوریزی بین قارچ *Agaricus bisporus* و گیاه پسته سبب کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش تولید MDA در گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی شد که این نتایج با گزارشات بسیاری از محققین مطابقت دارد (Andrade *et al*., 2010; Hashem and Egamberdieva, 2016; Rabie, 2005). یکی از مکانیسم‌های بروز سمیت در بافت‌های گیاهی در حضور فلزات سنگین تشویق تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد تنش اکسیداتیو است. در حالت طبیعی بین میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و میزان نابودی آنها از سطح سلولی گیاه تعادلی وجود دارد اما اگر این تعادل به‌هم بخورد و میزان رادیکال‌های آزاد موجود در سلول از مقدار ترکیبات سم‌زدا و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تجاوز کند تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد (Hashem and Egamberdieva, 2016). گیاهان مکانیسم‌های دفاعی متعددی برای کنترل و خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسیژن به‌کار می‌گیرند. از جمله این مکانیسم‌ها سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با سازوکار آنزیمی و غیرآنزیمی است.

افزایش میزان MDA در گیاه سبب تحریک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی از طریق افزایش فعالیت چرخه آسکوربات- گلوتاتیون می‌شود که این سیستم‌ها، نقش مهمی را در حفاظت غشاهای بیولوژیکی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع فلزات سنگین ایفا می‌نمایند. کاهش تیول‌های پروتئینی و غیرپروتئینی، آسکوربات و گلوتاتیون در گیاهان تیمارشده با فلز منگنز در این تحقیق نشان‌دهنده این است که گیاه پسته دچار تنش اکسیداتیو شده است. افزایش میزان MDA در گیاه سبب تحریک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی از طریق افزایش فعالیت چرخه آسکوربات- گلوتاتیون می‌شود که این سیستم‌ها، نقش مهمی را در حفاظت غشاهای بیولوژیکی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع فلزات سنگین ایفا می‌نمایند. احتمالاً به‌علت ورود گلوتاتیون احیا در مسیر سنتز فیتوکلاتین‌ها و درنتیجه کاهش گلوتاتیون احیا و یا به‌علت کاهش فعالیت آنزیم‌های درگیر در چرخه اکسید و احیا آسکوربات، نسبت دهیدروآسکوربات به آسکوربات افزایش می‌یابد (Cho and Seo, 2005). احتمالاً کاهش در میزان آسکوربات در این تحقیق در غلظت‌های بالای منگنز نیز می‌تواند به این علت باشد. به‌طوری‌که در تیمار گیاهان با این فلز محتوای آسکوربیک اسید و گلوتاتیون احیا به‌ویژه در گیاهان غیرمیکوریزی کاهش یافت. افزایش محتوای آسکوربات و گلوتاتیون در گیاه میکوریزی *Lonicera japonica* در تیمار با فلز سنگین کادمیوم (Jiang *et al*., 2016)، در گیاه میکوریزی *Sorghum halepense* در تیمار با فلز سزیوم (Huanga *et al*., 2016)، در گیاه میکوریزی *Phaseolus vulgaris* در تیمار با فلز روی (Jiang *et al*., 2016) نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی گزارش شده است. افزایش محتوای آسکوربات و گلوتاتیون در گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی احتمالاً به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های MDHAR، APX، GR و DHAR در این گیاهان است.

سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با سازوکار آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و ...) نیز از جمله مکانیسم‌هایی است که می‌تواند رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین برده و خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو را تخفیف دهد. سوپراکسید دیسموتاز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

(SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) نیز آنزیم‌های مهم پاداکسادیشی هستند که گونه‌های فعال اکسیژن را جاروب می‌کنند و از اکسیداسیون لیپیدها، تخریب کلروفیل و آسیب‌های دیواره سلولی جلوگیری می‌کنند (Rabie, 2005). در مطالعه حاضر مشخص شد که میزان فعالیت این دو آنزیم تحت تأثیر فلزات سنگین منگنز افزایش یافته است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقایسه با نمونه‌های شاهد معنی‌دار است. که این افزایش در گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی محسوس‌تر بود. علیرغم اینکه تیمار با غلظت‌های بالای منگنز در این مطالعه فعالیت اکثر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (SOD، CAT و APX) را در گیاه پسته و به‌ویژه در گیاهان میکوریزی افزایش داده است، با این وجود به‌نظر می‌رسد که این افزایش برای جبران افزایش H_2O_2 و تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در اثر سمیت منگنز کافی نبوده و میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان بیشتر بوده است. بنابراین در گیاهان در معرض منگنز به‌خصوص در غلظت بالای آن، تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به غشا را موجب شده است.

منابع

بهرامی سیرمندی، س.، احمدی مقدم، ع. و حسینی فرد، ج. (۱۳۸۹) اثر اکتومیکوریز بر روی میزان برخی عناصر معدنی موجود در گیاه پسته احمد آقایی تحت تیمارهای مختلف منیزیم. مجله زیست شناسی گیاهی ایران ۱-۱۲.

پناهی، ب.، اسماعیل‌پور، ع.، فربود، ف.، مؤذن‌پور کرمانی، م. و فریور، م. (۱۳۸۷) راهنمای پسته (کاشت، داشت و برداشت). چاپ دوم، نشر آموزش کشاورزی (وزارت جهاد کشاورزی).

خسروپناه، م. و حاجی‌بلند، ر. (۱۳۸٤) تحمل مسمومیت منگنز در گیاهان آفتابگردان، برنج و ذرت در شرایط آبکشتی.

صالحی، ف.، مرادی قهدریجانی، م.، میرابوالفتحی، م. و علی اصغرزاده، ن. (۱۳۸۷) تأثیر کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریزی وزیکولار آربوسکولار و سطوح مختلف فسفر بر جذب فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم و صفات رویشی نهال پسته. مجله زراعت و باغبانی ۷۸: ٥٦-٤٨.

فلاحیان، ف.، عباسپور، ح. و فهیمی، ح. (۱۳۸٤) بررسی تأثیر قارچ اندومیکوریز بر تغذیه معدنی و رشد گیاه پسته در شوری. مجله پژوهش و سازندگی ٦٧: ٨٦-٨٢.

محبوب القلوب، ا. (۱۳۹۰) مطالعه تأثیر اکتومیکوریز بین پسته احمد آقایی و قارچ دکمه‌ای بر جذب مقادیر مختلف کادمیم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران.

نادرنژاد، ن. (۱۳۹۲) بررسی میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تولید ترکیبات فنلی در گیاه پسته و اثر اکتومیکوریز در کاهش تنش اکسیداتیو UV-B. پایان‌نامه دکتری، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران.

هاشمی، ش. و اسرار، ز. (۱۳۸۹) اثر منگنز بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در شاهی (*Lepidium sativum* L.). مجله زیست شناسی گیاهی ۵: ۱-۱۲.

Andrade, S. A. L., Silveira, A. P. D. and Mazzafera, P. (2010) Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil. Science of the Total Environment 408: 5381-5391.

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

Cho, U. and Seo, N. (2005) Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. Plant Science 168: 113-120.

Dalvi, A. and Satish, A. (2013) Response of plants towards heavy metal toxicity: An overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. Annals of Plant Sciences 362-368.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

De Pinto, M., Francis, D. and De Gara, L. (1999) The redox state of the ascorbate dehydroascorbate pair as a specific sensor of cell division in tobacco BY 2 cells. Protoplasma 209: 90-97.

Ellman, G. L. (1959) Tissue sulfydryl groups. Archive of Biochemistry and Biophysics 82: 70-77.

Fernandez-Fuego, D., Keunen, E. and Cuypers, A. (2017) Mycorrhization protects *Betula pubescens* Ehr. From metal-induced oxidative stress increasing its tolerance to grow in an industrial polluted soil. Journal of Hazardous Materials 336: 119-127.

Gellier, B., Letouze, R. and Steullu, D. G. (1984) Micro propagation of Brich and mycorrhizal formation in vitro. New Phytologists 97: 591-599.

Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase. I. occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Cho, U. H. and Seo, N. H. (2005) Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. Plant Science 168: 113-120.

Hashem, A. and Egamberdieva, D. (2016) Alleviation of cadmium stress in *Solanum lycopersicum* L. by arbuscular mycorrhizal fungi via induction of acquired systemic tolerance. Saudi Journal of Biological Sciences 23: 272-281.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetic and stochiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry and Biophisics 125: 189-190.

Huanga, R., Lub, Y., Yanga, H., Huanga, W. and Chen, K. (2016) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on caesium accumulation and the ascorbate-glutathione cycle of *Sorghum halepense*. Asian Journal Plant Science 42: 323-331.

Jiang, Q., Feng, Zh., Shi-Hui, L., Hai-Di, Zh., Dan-Jing, Y., Zhi-Hong, Y., Shao-Shan, L. and Yuan-Xiao, J. (2016) Can arbuscular mycorrhizal fungi reduce Cd uptake and alleviate Cd toxicity of *Lonicera japonica* grown in Cd-added soils? Scientific Reports 6: 1-9.

Kafkas, S. and Ortas, I. (2009) Various mycorrhizal fungi enhance dry weights, P and Zn uptake of four *Pistacia* Species. Journal of Plant Nutrition 32: 146-159.

Laiye, Q. U., Quoreshi, A. M., Iwase, K., Tamai, Y., Funada, R. and Koike, T. (2003) In vitro ectomycorrhizal formation on two larch species of seedlings with six different fungal species. Eurasian Research Journal 6: 65-73.

Lozak, A. and Soltyk, K. (2002) Determination of selected trace elements in herbs and their influence. Science Environment 289: 33-40.

Marx, D. H. (1969) The infuence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. Phytopathology 59: 153-163.

Mohammadi, K. and Khalesro, SH. (2010) Beneficial effects of the mycorrhizal fungi for plant growth. Journal of Applied Environmental and Biological Sciences 1: 310-319.

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

Rabie, G. H. (2005) Contribution of arbuscular mycorrhizal fungus to red kidney and wheat plants tolerance grown in heavy metal-polluted soil. African Journal of Biotechnology 4: 332-345.

Schramm, W. (2019)World pistachio trade. 1st Ed. Associates, Inc. Printed in the United States of America.

Taeck Jong, L., Binod Prasad, L. and Won Hee, K. (2011) Growth and physiological response to manganese toxicity in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. campestris). Horticulture, Environment, and Biotechnology 52: 252.

Turjaman, M., Tamai, Y., Segah, H., Youngcha, J., Hesterlimin, S., Osaki, M. and Tawaraya, K. (2005) Inoculation with the ectomycorrhiza fungi *Pisilithus arhizus* and *Scleroderma* sp. improves early growth of *Shorea pinanga* nursery seedling. New Forests 30: 67-73.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]

Role of mycorrhizal fungi in the alleviation of Manganese toxicity in Fandoghi cultivar of pistachio (*Pistacia vera L.*) trees

Fereshteh mohamadhasani [1]*, Ali Ahmadimoghadam[2]

[1] Department of Biology, Faculty of Science, Payamenoor University of Tehran, Iran
[2] Department of Biology, Faculty of Science, Bahonar University, Kerman, Iran
(Received: 18/07/2020, Accepted: 21/12/2020)

Abstract

In metal contaminated soils, ectomycorrhizal (ECM) fungi may improve plant growth through an enhanced nutrition or by alleviating toxicity of the metals. In order to evaluate the alleviating effects of ectomycorrhizal colonization on Mn toxicity, a study was performed using pistachio plants and *Agaricus bisporus* fungus as factorial in a completely randomized design with three replications. The experiment included two factors: mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) pistachio plants and five levels of the Mn concentrations (0, 200, 400, 600 and 800 µm) in 3 replicates. In this study, the experiment was conducted to investigate the effect of ectomycorrhizal colonization in the alleviation of oxidative stress and improvements of the antioxidant enzyme activities, as well as lipid peroxidation and metal accumulation in pistachio trees (Fandoghi cultivar). The results showed that the increase of Manganese concentration caused an increase in the malondialdehyde (MDA), and induction in antioxidative enzymes activity in the leaves of the M and NM plants, but it was dramatically higher in M plants. A decrease of ascorbate (ASA) content was induced by increasing the zinc concentration where it was higher in M plants but all metal treatments increased dehydroascorbate (DHA) contents in both M and NM plants. The results showed that the Mn translocated from root to shoot in M plants was lower than the NM plants. The amelioration of Mn toxicity by *A.bisporus* may be a result of improving the antioxidant defense system and prevention of the absorption of heavy metals.

Key words: Antioxidant enzymes, Manganese, lipid peroxidation, Ectomycorrhiza, *Agaricus bisporus*

Corresponding author, Email: Fereshtehmhasani@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.12.4]