بررسی نقش مثبت همزیستی اکتومیکوریزی در تخفیف اثرات سمیت ناشی از فلز سنگین روی در گیاه پسته رقم بادامی(*Pistacia vera L.*)

فرشته محمدحسنی[1*]، علی احمدی مقدم[2]، زهرا اسرار[2] و سید ضیا محمدی[3]

[1] **ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی**

[2] **ایران، کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی**

[3] **ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه شیمی**

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۱۵

چکیده

در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، کلونیزاسیون با قارچ‌های میکوریزی از طریق افزایش جذب مواد غذایی و یا تخفیف سمیت فلز به بهبود رشد گیاه کمک می‌کند. در پژوهش حاضر، به‌منظور بررسی و اثبات نقش مثبت و احتمالی همزیستی اکتومیکوریزی گیاه پسته رقم بادامی با قارچ *Agaricus bisporus* در مقاومت به غلظت‌های متفاوت از فلز روی، آزمایشی به حالت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج سطح فلز روی (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میکرولیتر) 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 و میزان تجمع فلزی در اندام هوایی و ریشه‌های گیاهان میکوریزی وغیرمیکوریزی مورد بررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد تحت شرایط تنش فلز سنگین، گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان قویتر و میزان تولید مالون دی آلدئید، به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو کمتری داشتند. کاهش محتوای آسکوربات و در مقابل افزایش میزان دهیدروآسکوربات نیز مشاهده شد. همچنین مشخص شد در ریشهٔ گیاهان میکوریزی تجمع فلز روی در مقایسه باریشهٔ گیاهان غیرمیکوریزی بیشتر است که این خود نشان‌دهندهٔ نقش قارچ اکتو میکوریز*Agaricus bisporus* در ممانعت از انتقال فلز سنگین و جلوگیری از آسیب به بخشهای هوایی گیاه است. بنابراین باتوجه به نتایج، می‌توان به این نتیجه رسید که قارچ میکوریزی *Agaricus bisporus* از طریق بهبود سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان و محدود نمودن جذب فلز سنگین به گیاه، خطرات ناشی از تنش بر رشد گیاه پسته را تعدیل می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: اکتومیکوریز، آنزیم آنتی‌اکسیدان، پسته بادامی، *Agaricus bisporus*، روی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۴۳۳۲۲۲۰۳۲، پست الکترونیکی: Fereshtehmhasani@yahoo.com

مقدمه

آلودگی خاک به فلزات سنگین نتیجه بسیاری از فعالیت‌های بشری نظیر معدن کاری، استخراج و ذوب فلزات و کاربرد کودها، سموم و قارچ کش‌های کشاورزی و غیره می‌باشد که سلامتی بشر و زیست‌بوم را به خطر می‌اندازد (۱۳). اگرچه برخی از این فلزات مانند مس، آهن، منگنز و روی جزء عناصر ریزمغذی ضروری هستند که برای محدوده وسیعی از فرایندهای سلولی مورد نیاز می‌باشند 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 ماکرو مولکول‌های حیاتی گیاه بر رشد گیاه اثر منفی گذاشته و یا حتی منجر به مرگ گیاه می‌شوند (۱۷). یکی از روش‌هایی که به‌عنوان ابزار جدیدی

برای اصلاح خاک، آب‌وهوا در حال ظهور می‌باشد، گیاه‌پالایی است. موفقیت این روش نه تنها به گیاه، بلکه به اثرات متقابل ریشه‌های گیاه با میکروارگانیسم‌های ریزوسفری و گونه و غلظت فلزات سنگین در خاک بستگی دارد (۳۲). کارایی گیاه‌پالایی در آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای مورد بررسی قرارگرفته است لیکن آنچه کمتر بدان پرداخته‌شده است بررسی نقش میکروارگانیسمهای همیار و یا همزیست با گیاهان در فرایند گیاه‌پالایی می‌باشد. ازجمله مکانیسم‌های سلولی برای کاهش سمیت فلزی، غیرمتحرک سازی یون‌های فلزی از طریق همزیستی میکوریزی و ازجمله اکتومیکوریز می‌باشد (۱۲). در ارتباط با نقش قارچ اکتومیکوریز در تحمل فلزات سنگین توسط گیاه میزبان، اکثر مکانیسم‌های پیشنهاد شده فرایندهای متنوعی از دفع را شامل می‌شوند که حرکت فلزات به ریشه‌های میزبان را محدود می‌کنند. ین موارد به‌طور گسترده بررسی شده است و شامل جذب فلزات توسط غلاف هیفی و کاهش دستیابی به آپوپلاست به دلیل خاصیت هیدروفوب غلاف، کلات شدن توسط ترشحات قارچی و جذب به میسلیوم خارجی می‌باشد (۱۴). 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 (۲۴). تعداد بسیار زیادی از قارچ‌های شرکت کننده در همزیستی اکتومیکوریزی قابلیت تجمع و تحمل مقادیر متفاوت از فلزات سنگین گوناگون را دارا می‌باشند. قارچ‌های بازیدیومیست ازجمله قارچ *Agaricus bisporus*، قارچ‌هایی هستند که علاوه بر همزیستی در اکوسیستم‌های طبیعی در بسیاری از آزمایش‌ها مورد استفاده قرارگرفته‌اند به طوری‌که در بسیاری از بررسی‌ها، قارچ‌های شرکت کننده در رابطه اکتومیکوریزی در شرایط Invitro کشت شده و تحت تأثیر فلزات سنگین قرارگرفته و میزان تحمل و جذب فلزات سنگین در این قارچ‌ها مورد بررسی قرارگرفته است (۱۳و ۲۸). اگرچه نتایج آزمایش‌های انجام‌یافته در زمینهٔ قارچ‌های میکوریز و فلزات سنگین، متنوع و وابسته به شرایط آزمایش ازجمله ویژگیهای بستر رشد، نوع گیاه و گونهٔ قارچ همزیست می‌باشد ولی به‌طور کلی، به نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریز قادر به تعدیل سمیت ایجادشده توسط فلز سنگین برای گیاه می‌باشند.. این قارچ‌ها نقش اکولوژیک قابل‌توجهی در تثبیت فلزات سنگین توسط گیاه در خاکهای آلوده به این فلزات با ایجاد کمپلکس، ایفا می‌کند و به نوبهٔ خود به بقای گیاهان میکوریزی کمک می‌کند (۸). نقش قارچ‌های میکوریز در تعدیل سمیت فلزات سنگین توسط فرناندزفوگو (۲۰۱۷) (۱۷)، هاشم (۲۰۱۶) (۲۱) و ربیع (۲۰۰۵) (۳۳) نیز گزارش شده است.

پسته (*Pistacia vera*) از خانواده Anacardiaceae می‌باشد که گیاهی دوپایه با میوه شفت و تک‌دانه می‌باشد (۴). محصول این گیاه از عمده‌ترین محصولات صادراتی غیرنفتی می‌باشد و ازجمله درختانی می‌باشد که رابطه همزیستی آن‌هم به‌صورت میکوریز وزیکولارآربوسکولار و هم اکتومیکوریزی گزارش شده است به طوری‌که این گیاه با گونه‌های مختلفی از قارچ *Glomus* و *Gigaspora* وارد رابطه میکوریزی از نوع وزیکولارآربوسکولار می‌گردد و اثرات مثبت این همزیستی در بهبود جذب عناصر معدنی توسط کفکاس (۲۰۰۹) (۲۳)، صالحی و همکاران (۱۳۸۷) (۲) و افزایش تحمل به تنش شوری توسط فلاحیان و همکاران (۱۳۸۴) (۳) به اثبات رسیده است. همچنین اثرات مثبت همزیستی اکتومیکوریزی این گیاه با قارچ *Agaricus bisporus* در جلوگیری از سمیت منیزیم توسط بهرامی سیرمندی (۱۳۸۹) (۱)، در جلوگیری از سمیت فلز سنگین کادمیوم توسط محبوب القلوب (۵) و در تخفیف اثرات اشعه UV توسط نادر نژاد (۱۳۹۲) (۶) انجام شده است.

از میان تنش‌های محیطی که این گیاه با آن مواجه است تنش فلزات سنگین است که به علت استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی و به‌منظور جبران کمبود عناصر غذایی در

مناطق پسته‌کاری می‌باشد که می‌تواند پیامدهای منفی هم بر خود گیاه و هم بر مصرف کننده‌های آن داشته باشد. ایجاد ارتباط و همزیستی میکوریزی از نوع اکتومیکوریز و نقش آن در افزایش تحمل فلز سنگین در بسیاری از گیاهان گزارش شده است اما تاکنون این مورد در گیاه پسته گزارش نشده است و تنها در مورد عنصر غذایی منیزیم و فلز سنگین کادمیوم کارهای محدودی شده است. ازاین‌رو 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 ازنظر تغذیه‌ای و اقتصادی بررسی شود که آیا نتیجه این همزیستی مسالمت‌آمیز به نفع گیاه پسته می‌باشد و یا خیر.

هدف از این تحقیق پی بردن به تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌خصوص پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز و میزان مالون دی آلدئید به منزله‌ی شاخصی از پراکسیداسیون غشا در گیاهان پسته تحت تنش فلز روی در حضور میکوریز در مقایسه با گیاهان شاهد بود.

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 محیط کشت ملین - نورکرانس آگار (MMN) شامل: (۰/ ۵ g) KH_2PO_4، (۰/ ۰۲۵g) NaCl، (۰/۰۵ g) $CaCl_2$، (۰/۱۵ g) $MgSO_4$، (۰/۲۵ g) $(NH4)_2HPO_4$،(۱۰۰mg) کلرید تیامین، (۱/۲ml) Fe (Cl_3)، عصاره مالت(۳g) و گلوکز(۱۰g) در شرایطی کاملاً استریل رشد کرد (۲۷).

محیط کشت در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد و پس از اضافه کردن ۱۵ گرم آگار و پس از تنظیم pH محلول به میزان ۵/۸، مرحله استریل محلول مورد نظر از طریق اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۱۲۱درجه سانتی‌گراد انجام شد. ظرف‌های محیط کشت پس از کشت قارچ در شرایط استریل به مدت چهار هفته در دمای معمولی اتاق قرار داده شدند تا قارچ‌ها رشد کند (۲۵). به‌منظور ایجاد نهال‌های پسته، بذرهای پسته پس از خیس شدن در آب به مدت دو هفته در دمای ۴ درجه قرارگرفتند و در محلول ۰/۵ درصد هیپوکلرید کلسیم و سپس در محلول توئین یک درصد گذاشته و در نهایت چهار بار با آب مقطر استریل شسته شدند تا استریل شوند. این کار دو بار تکرار شد، سپس بذرهای داخل پتری دیش 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 ۱۲۱ درجه و به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. سه هفته بعد از جوانه‌زنی، گیاهک‌ها در شرایط استریل به ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری که حاوی پرلیت به مقدار ۵۴ گرم و پیت ماس به مقدار ۶/۵ گرم بود، وارد شدند و ۸۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند با غلظت۱/۲ نیز افزوده شد (۲۰). در کنار ریشه‌های نیمی از ارلن‌ها، قطعات قارچ یک اندازه (۱۰دیسک) گذاشته شد. هریک از دو گروه از ارلن‌ها که حاوی گیاهان میکوریزی و یا غیر میکوریزی بودند به ۴ گروه با حداقل ۳ تکرار تقسیم شدند. بعد از ۸ هفته از رشد گیاهک‌ها، به‌منظور تشخیص و اطمینان از اکتومیکوریزی شدن نهال‌ها، از ریشه‌هایی که احتمال وجود اکتومیکوریزی را داشته برش‌های عرضی گرفته و پس از رنگ‌آمیزی با متیلن بلو یک درصد، در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شدند. پس از اطمینان از ایجاد ارتباط میکوریزی بین نهال‌ها و قارچ و پس از بهینه‌سازی غلظتهای مورد استفاده از فلز روی جهت تیمار، گیاهان میکوریزی وغیرمیکوریزی به مدت ۸ هفته در اتاقک رشد با شرایط کنترل شده تحت دوره نوری ۱۶/۸ (تاریکی /نور)، دوره دمایی ۲۸/۱۸ درجه سانتی‌گراد (شب/ روز) و رطوبت نسبی ۶۰-۵۰ درصد، تحت تیمار پنج غلظت از

فلز روی (۰ و۳۰ و ۶۰ و۹۰ و۱۲۰میکرومولار) با استفاده از نمک سولفات روی قرار گرفتند (۱۰و ۳۶).

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) که محصول اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع هستند، اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدهید به روش هیس و پاکر (۱۹۶۹) انجام شد (۲۲). برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل mM^{-1} Cm^{-1} ۱۵۵ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری برحسب میکرومول بر وزن تر گیاه محاسبه و ارائه گردید.

سنجش مقدار اسیدآسکوربیک و اسید دی هیدروآسکوربیک: برای سنجش مقدار اسیدآسکوربیک و اسید دی هیدروآسکوربیک از روش ده‌پینتو و همکاران (۱۹۹۹) (۱۵) استفاده شد. برای اندازه‌گیری مقدار آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک اسید، ۰/۵ گرم بافت تازه وزن شد و در ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۵ درصد ساییده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰gسانتریفیوژ گردید. سپس به محلول رویی بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار، آلفا -آلفا دی پیریدیل ۴ درصد، محلول $FeCl_3$ اضافه شده و بعد شدت جذب را در طول‌موج۵۲۵ نانومتر خوانده شد. برای سنجش اسید دی هیدروآسکوربات نیز همین مراحل را انجام داده با این تفاوت که به آن محلول دی تیوترایتول هم اضافه نمودیم.

سنجش فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز (APX): فعالیت این آنزیم براساس روش ناکانو و آسادا (۳۰) اندازه‌گیری شد. دراین روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، 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 به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت آسکوربات اکسیدشده از ضریب خاموشی آن معادل mM^{-1} Cm^{-1} ۲/۸ و فرمول $A=bc\varepsilon$، استفاده شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به‌عنوان مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول آسکوربیک‌اسید را در مدت ۱ دقیقه اکسید کند.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری SOD: پس از تهیه عصاره آنزیمی مخلوط واکنشی شامل بافر فسفات ۵۰میلی مولارPH=۷، ۰,۰۷۵ NBT میکرومولار، ۰,۱ Na-EDTA میلی‌مولار، ۷۵میکرومولار ریبوفلاوین، ۱۳میلی مولارمتیونین و ۵۰میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی تهیه شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم علاوه بر شاهد (برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر) نیاز به نمونه کنترل نیز می باشد. میزان فعالیت آنزیم SOD در نمونه‌ها درمقایسه با کنترل سنجیده می‌شود.

درلوله کنترل نیز مخلوط واکنش ذکر شده وجود داشت با این تفاوت که به آن عصاره آنزیمی اضافه نشد. بنابراین به دلیل عدم وجود آنزیم در کنترل، احیاء NBT درحضور نور (احیاء نوری) به طور۱۰۰ درصد در کنترل انجام و تمام نیتروبلوتترازولیوم موجود در مخلوط واکنش درحضور نور به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب کنترل در ۵۶۰نانومتر نشان دهنده ۱۰۰ درصد احیاء نوری NBT است ونیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی می‌باشد. بنابراین یک واحد آنزیمی سوپر اکسید دیسموتاز مقدار آنزیمی است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیاء نوری احیای نیتروبلوتترازولیوم (یا جلوگیری از تبدیل آن به فورمازون) می‌گردد. اختلاف جذب نمونه‌ها وکنترل در۵۶۰ نانومتر نشان دهنده مهار احیاء نوری NBT درحضور آنزیم SOD موجود در نمونه می‌باشد (۱۹). بااستفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی-گرم) در ۵۰ میکرولیتر عصاره حاصل از روش برادفورد (۱۹۷۶) (۱۱) بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): سنجش فعالیت کاتالاز براساس کاهش جذب آب‌اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت (۱۶). براساس این روش مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر پتاسیم‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آب‌اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع شد و کاهش در جذب آب‌اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری Cary 500 ساخت شرکت Varian اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی، مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مول آب اکسیژنه را در مدت ۳۰ ثانیه تجزیه کند. چون میزان فعالیت آنزیم بر اساس غلظت آب اکسیژنه تجزیه شده محاسبه شد، غلظت آب‌اکسیژنه مصرف شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل $۴۰mM^{-1}Cm^{-1}$ و فرمول $A= bc\varepsilon$ محاسبه گردید.

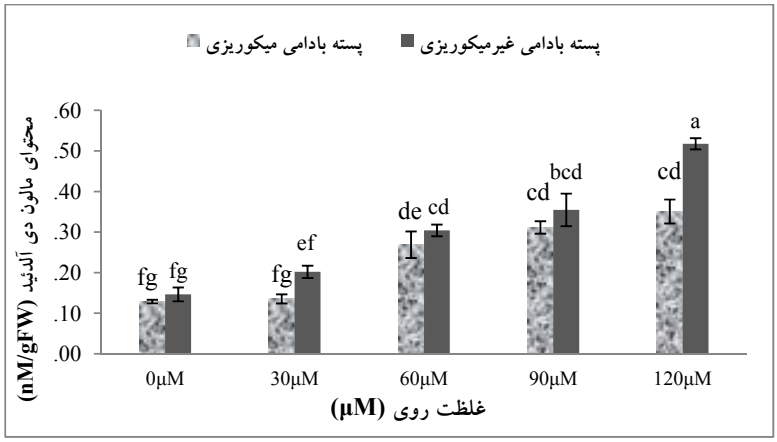
سنجش میزان فلز روی در ریشه و اندام هوایی: به منظور اندازه‌گیری میزان فلز روی در بافت گیاه از روش جذب اتمی لوزاک (۲۰۰۲) (۲۶) استفاده شد. ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی خشک (ریشه و اندام هوایی) در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ حل و سوسپانسیون اسیدی حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت. محلول‌ها با آب دیونیزه به حجم رسیده و مقدار جذب آنها با به کمک دستگاه جذب اتمی مدل (Varian SpertrAA-220ساخت 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 روی (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میکرولیتر) و دو سطح تلقیح و عدم تلقیح با قارچ و در سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پارامترها، با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 تحت آنالیز واریانس یک‌طرفه قرارگرفتند و میانگین داده‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند $P < ۰/۰۵$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

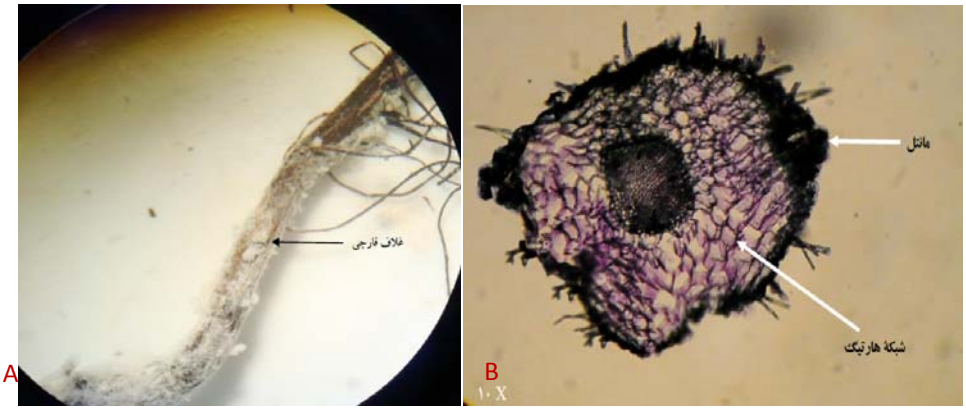
نتایج

نتایج حاصل از تاثیر تیمار روی بر غلظت مالون دی آلدئید: میزان سنتز مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی در برگ‌های هر دو گروه از گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی از غلظت ۶۰ میکرومولار روی به بعد نسبت به گیاهان شاهد طور معنی‌دار افزایش یافت که البته این میزان در گیاهان غیرمیکوریزی نسبت به گیاهان میکوریزی بیشتر بود. بیشترین میزان MDA در غلظت ۱۲۰ میکرومولار روی در برگ گیاهان غیرمیکوریزی بود که ۲۶۱/۶۵ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش داشت. این نتایج حاکی از این است که فلز روی موجب القای تنش اکسیداتیو و در نتیجه تولید بیشتر گونه های فعال اکسیژن در گیاه پسته شده است (نمودار ۱).

نتایج حاصل از تاثیر تیمار روی بر محتوای آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک: اثر فلز سنگین روی بر محتوای آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک در نمودار (۲و ۳) نشان داده شده است. بر اساس نتایج میزان آسکوربات در اندام هوایی گیاه پسته در دو حالت میکوریزی و غیرمیکوریزی، در غلظت های ۳۰ و ۶۰ و ۹۰ میکرومولار تفاوت معنی‌داری با گیاه کنترل نشان نمی‌دهد. در حالیکه سمیت روی در غلظت‌های بالا (۱۲۰ میکرومولار) محتوای این ترکیبات آنتی‌اکسیدان را به طور معنی‌دار در هردو گروه از گیاهان کاهش داده است در حالی که با افزایش غلظت فلز روی (۹۰ و ۱۲۰ میکرومولار) در محیط کشت میزان دهیدروآسکوربات در برگ به طور معنی دار نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد.

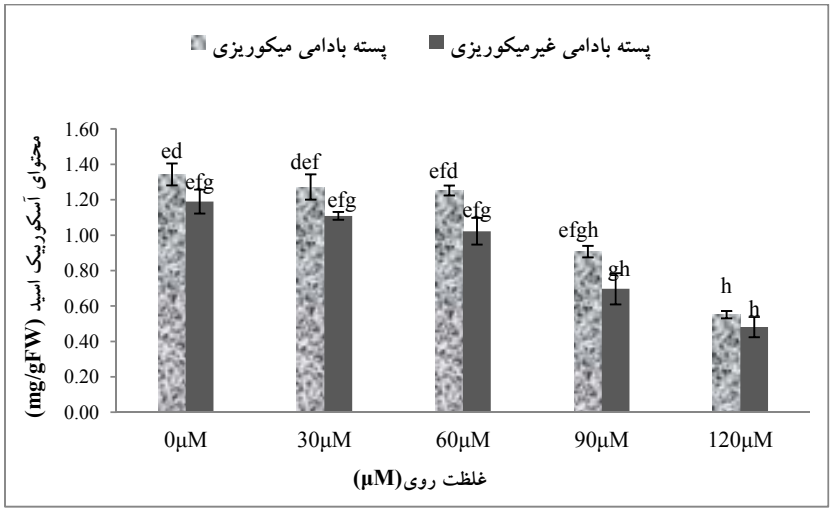


نمودار ۱- اثر سطوح مختلف فلز روی بر محتوای مالون دی‌آلدئید در برگ پسته بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده‌ها میانگین ۳ تکرار± Sd است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵)می‌باشند

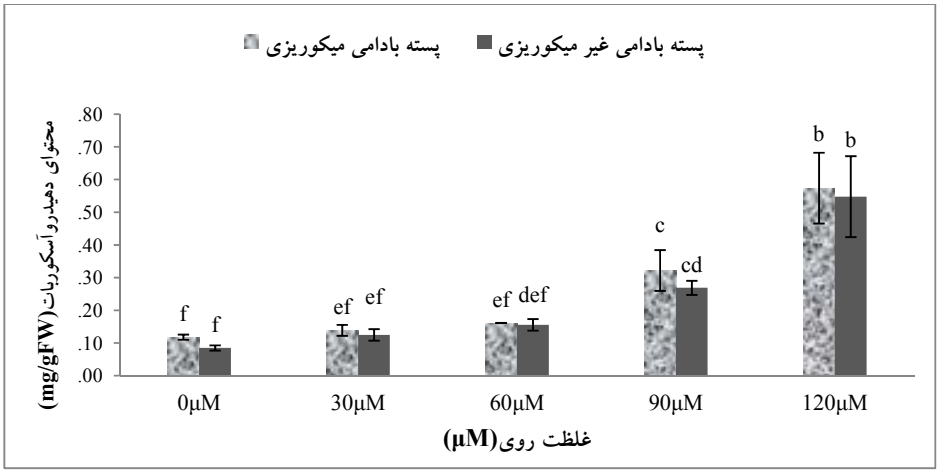


شکل۱- ریشه های اکتومیکوریزی شده پسته رقم بادامی در زیر میکروسکوپ تشریحی(A) و میکروسکوپ نوری (B)

شکل۲- گیاه پسته رقم بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی تحت تیمار با فلز روی



نمودار ۲- اثر سطوح مختلف فلز روی بر محتوای آسکوربیک اسید در برگ پسته بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده‌ها میانگین ۳ تکرار± Sd است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند

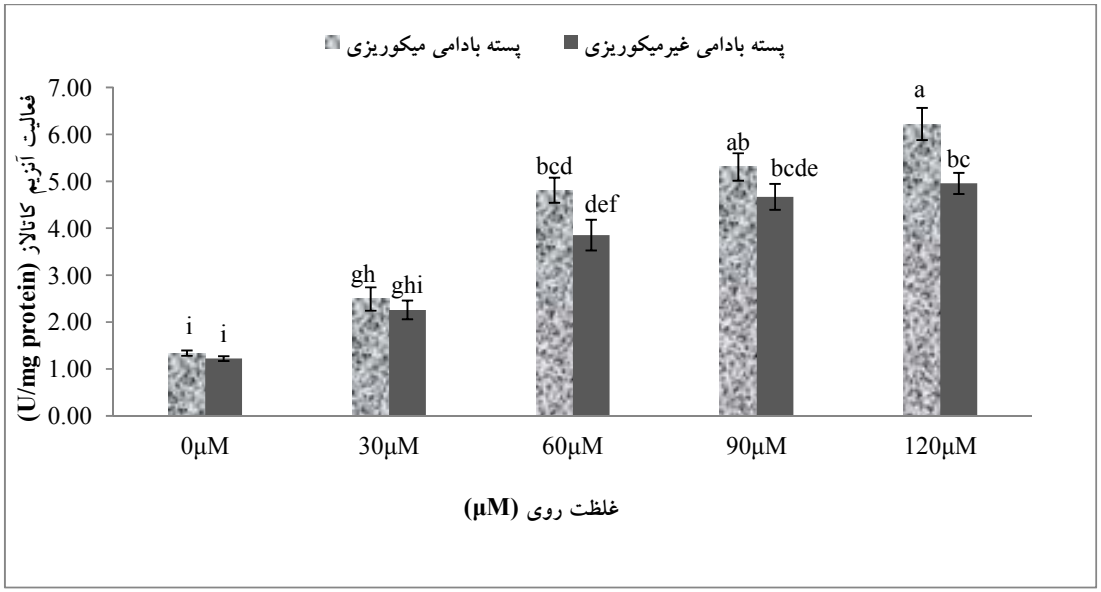


نمودار ۳- اثر سطوح مختلف فلز روی بر محتوای دهیدرو آسکوربیک اسید در برگ پسته بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده ها میانگین ۳ تکرار± Sd است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون‌های مربوط به یک فاکتور نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند

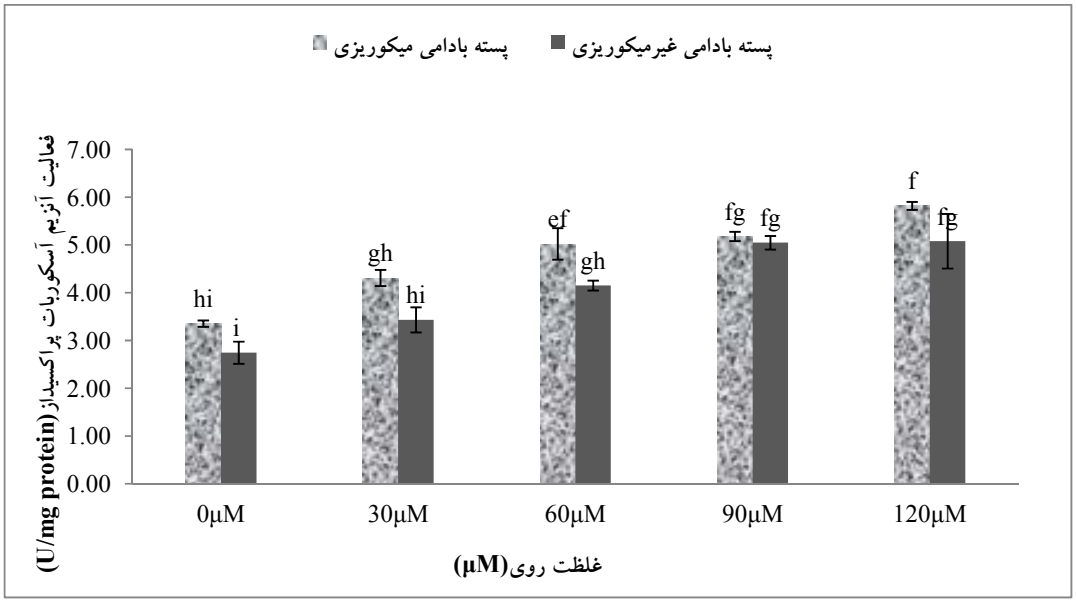
نتایج حاصل از اثر روی بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیداتیو در گیاه پسته: روی سبب القای بیشتر فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیداتیو در برگ گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی شد. نمودار شکل۴ (A-C) نشان داد که فعالیت سه آنزیم SOD، APX و CAT به ویژه در غلظت های بالای تیمار (۹۰ و ۱۲۰ میکرومولار) به طور معنی داری در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت.

نتایج حاصل از اثر تیمار روی بر میزان اندوزش فلز در ریشه و بخش هوایی در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی پسته: برطبق دو نمودار ۵ و ۶، کاربرد روی در سطوح مختلف موجب انباشت این فلز در بخش‌های ریشه‌ای در مقایسه با بخش هوایی در گیاهان میکوریزی شده است به طوری که بیشترین میزان انباشتگی روی در ریشه گیاهان میکوریزی، در غلظت ۱۲۰ میکرومولار روی بود که ۱۸۵/۷۵درصد افزایش را نسبت به گیاهان شاهد داشت. این در حالی است که در گیاهان غیرمیکوریزی

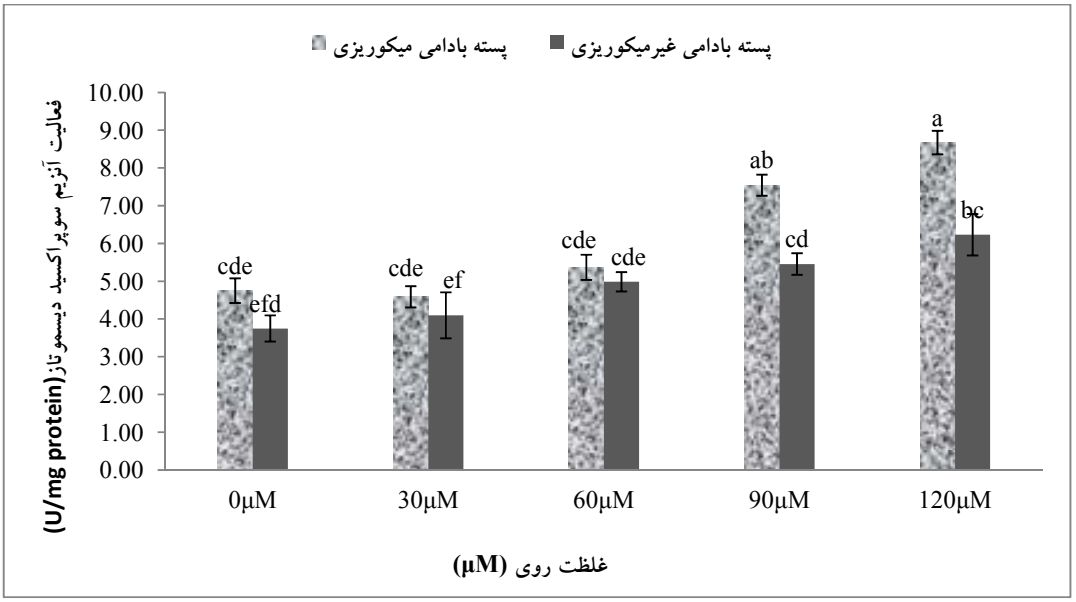
میزان انباشت این فلز در بخش هوایی نسبت به ریشه بیشتر بوده است. بیشترین میزان انباشتگی روی در بخش هوایی نیز در غلظت ۱۲۰ میکرومولار روی و در رقم بادامی غیرمیکوریزی بود به طوری که ۸۸/ ۲۹۴ درصد افزایش را نسبت به گیاهان شاهد داشت.



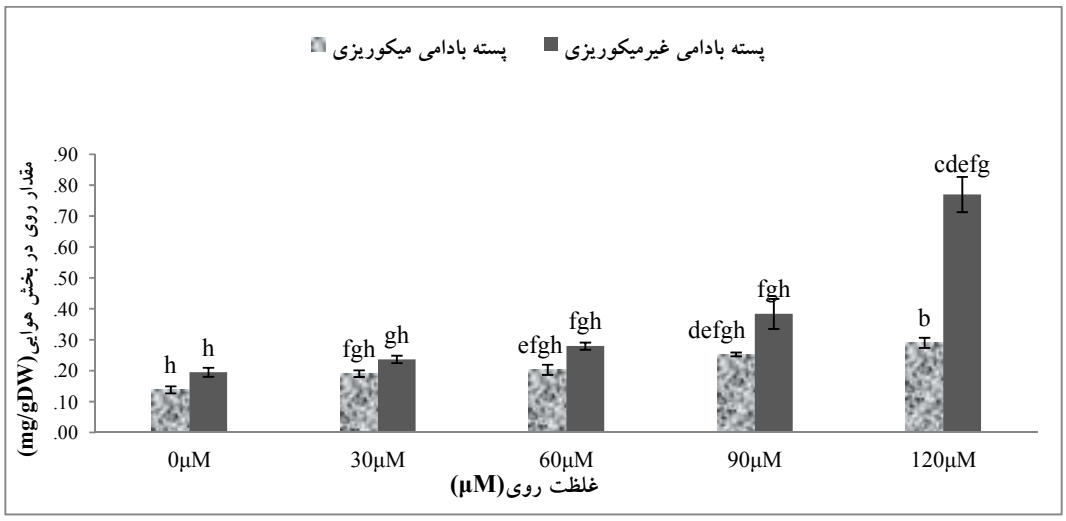
نمودار ۴A- اثر سطوح مختلف فلز روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ پسته بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده ها میانگین ۳ تکرار± Sd است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون های مربوط به یک فاکتور نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند



نمودار ۴B- اثر سطوح مختلف فلز روی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ پسته بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده ها میانگین ۳ تکرار± Sd است. بر اساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون های مربوط به یک فاکتور نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند



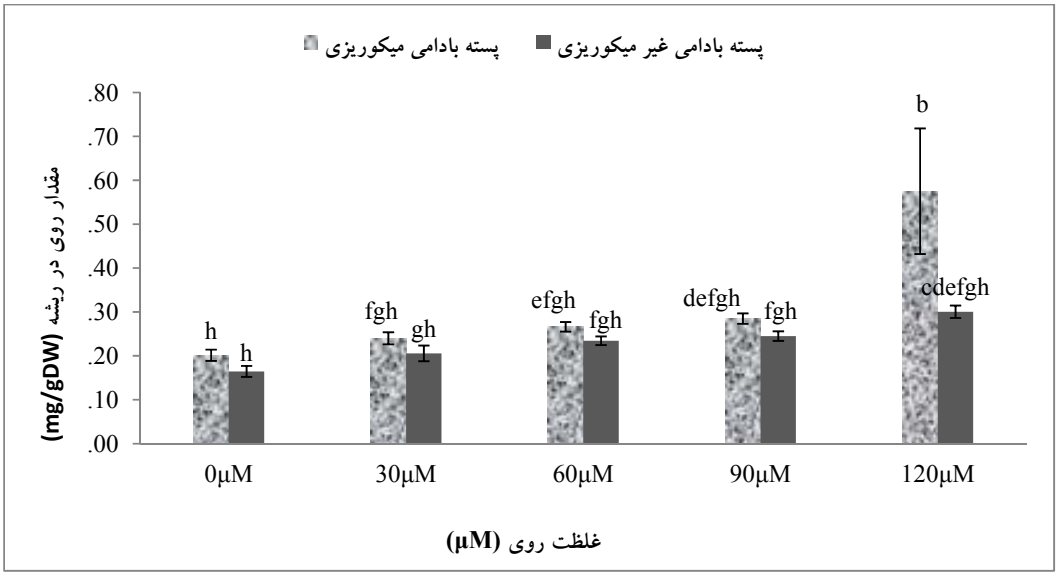
نمودار ۴C- اثر سطوح مختلف فلز روی بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در برگ پسته بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی. داده ها میانگین ۳ تکرار± Sd است. بر اساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون های مربوط به یک فاکتور نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می باشند



نمودار ۵- محتوای روی اندام هوایی در پسته بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی در تیمارهای مختلف روی. داده ها میانگین ۳ تکرار± Sd است. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون های مربوط به یک فاکتور نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشند

بحث

علیرغم نقش بسیار مهم روی در ساختار و راه‌اندازی بسیاری از فرایندهای متابولیکی گیاه مشابه با سایر عناصر سنگین تمرکز بالای آن در خاک و در گیاه سبب بروز برخی علائم ناشی از تنش و عدم رشد طبیعی گیاهان می‌شود. زمانیکه غلظت روی در برگ بیش از ۴۰۰ میلیگرم در کیلوگرم وزن خشک باشد، علائم سمیت آن به صورت نقاط نکروزه بر روی برگ نمایان می‌شود و در غلظتهای بالا سبب مرگ گیاه می‌گردد (۳۵).



نمودار ۶- محتوای روی ریشه در پسته بادامی میکوریزی و غیرمیکوریزی در تیمارهای مختلف روی. داده ها میانگین ۳ تکرار± Sd است. بر اساس آزمون دانکن حروف متفاوت ستون های مربوط به یک فاکتور نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار ($P< ۰/۰۵$) می‌باشند.

یکی از مکانیسم‌های بروزسمیت در بافتهای گیاهی در حضور فلزات سنگین از قبیل روی تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد تنش اکسیداتیو است رادیکال‌های آزاد با اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده، و به تخریب اسیدهای چرب و تولید مالون دی آلدئید منجر می‌شوند (۳۳).

دراین تحقیق میزان مالون دی‌آلدئید در غلظت کم فلز روی (۳۰ میکرومولار) تفاوت معنی داری با گیاه کنترل چه در حالت میکوریزی و چه غیرمیکوریزی نشان نمی‌دهد ولی غلظت‌های بالای این فلز محتوای این ترکیب و در نهایت پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را افزایش داده است. افزایش غلظت مالون دی آلدئید در پاسخ به تنش فلزات سنگین از قبیل منگنز در شاهی (۷)، در پاسخ به تنش روی، مس و کادمیم در گیاه میکوریزی توس سفید (۱۷)، در پاسخ به تنش کادمیوم در گیاه میکوریزی گوجه (۲۱) نیز گزارش شده است. افزایش میزان مالون دی آلدئید در غلظت‌های بالای روی به دلیل آسیب غشاهای سلولی گیاه توسط روی می‌باشد. آسیب غشایی موجب موجب به هم ریختگی وضعیت جذب مواد ضروری از خاک، نقصان هدایت روزنه‌ای و در نهایت کاهش محتوای آب درون سلول‌ها می‌گردد (۸).

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 (۳۳)، (۸) و (۲۱) مطابقت دارد.

در حالت طبیعی بین میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و میزان نابودی آنها از سطح سلولی گیاه تعادلی وجود دارد اما اگر این تعادل به هم بخورد و میزان رادیکالهای آزاد موجود در سلول از مقدار ترکیبات سم‌زدا و ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه تجاوز کند تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد (۲۱). گیاهان مکانیسم‌های دفاعی متعددی برای کنترل و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسیژن به کار می‌گیرند. از جمله این مکانیسمها سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با سازوکار آنزیمی و غیرآنزیمی است. بنابراین برای مقابله با تنش اکسیداتیو افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه ضروری می‌باشد.

افزایش میزان MDA در گیاه سبب تحریک سیستمهای آنتی اکسیدانی 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.

برطبق نمودار شکل(۲) میزان آسکوربات کل در اندام‌های هوایی گیاه پسته چه در حالت میکوریزی و چه غیر میکوریزی در غلظت های پایین روی (۹۰-۰ میکرومولار) تفاوت معنی‌داری با گیاهان کنترل را نشان نداد. در حالی که در غلظت‌های بالا (۱۲۰ میکرومولار) محتوای این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌داری افزایش داشته است. در این تحقیق، با افزایش غلظت روی میزان دهیدروآسکوربات در مقابل آسکوربات افزایش یافت که نتایج ما با یافته‌های پاندای (۳۱) در گیاه اسفناج، هاشمی (۷) در گیاه شاهی وهاشم (۲۱) در گیاه میکوریزی گوجه مطابقت دارد.

احتمالاً به علت ورود گلوتاتیون احیا در مسیر سنتز فیتوکلاتین‌ها و در نتیجه کاهش سوبسترای کاهنده آسکوربات و یا به علت کاهش فعالیت آنزیم‌های درگیر در چرخه اکسید و احیا آسکوربات، نسبت دهیدروآسکوربات به آسکوربات افزایش می‌یابد (۱۸). کاهش تیول‌های پروتینی و غیرپروتئینی، آسکوربات و گلوتاتیون در گیاهان تیمار شده با فلز روی در این تحقیق نشان دهنده این است که گیاه پسته دچار تنش اکسیداتیو شده است.

سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با سازوکار آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز و...) نیز از جمله این مکانیسم‌ها است که می‌تواند رادیکالهای آزاد اکسیژن را از بین برده و خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو را تخفیف دهد (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر مشخص شد که میزان فعالیت این سه آنزیم APX ، CAT و SOD تحت تاثیر فلز روی افزایش یافته است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD,APX وCAT در مقایسه با نمونه‌های شاهد به ویژه در غلظت‌های بالای این فلز در مورد هر سه آنزیم معنی‌دار است. که این افزایش در گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی محسوستر بود.

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD,APX و CAT در پاسخ به تنش روی، مس و کادمیوم در گیاه میکوریزی لوبیاقرمز و گندم (۳۳) و در پاسخ به تنش کادمیوم در گیاه میکوریزی گوجه (۲۱) نیز گزارش شده است که مطابق با یافته‌های ما این افزایش در گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی محسوستر بود. علیرغم اینکه تیمار با غلظت های بالای روی دراین مطالعه فعالیت اکثر آنزیم‌های آنتی اکسیدان (SOD، CAT و APX) را در گیاه پسته و به ویژه در گیاهان میکوریزی افزایش داده است، با این وجود به نظر می‌رسد که این افزایش برای جبران افزایش H_2O_2 و تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در اثر سمیت روی کافی نبوده و میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان بیشتر بوده است. بنابراین در گیاهان در معرض روی به خصوص در غلظت بالای آن، تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به غشا را موجب شده است.

درجه سمیت فلز سنگین و اثرات فیزیولوژیکی ناشی از آن به میزان جذب آن فلز توسط ریشه و میزان انتقال و جابه جایی آن در گیاه بستگی دارد (۳۷). از جمله مکانیسم‌های حفاظتی گیاه در مقابل فلزات سنگین جلوگیری از انتقال و تجمع فلز در بخش هوایی می‌باشد زیرا رشد بخش هوایی در مقایسه با بخش‌های ریشه‌ای حساسیت بیشتری در برابر فلزات سنگین از خود نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده نیز موید مطلب فوق است. از جمله دلایل کاهش انتقال فلز روی از ریشه به بخش هوایی باقی ماندن فلز سنگین به صورت کمپلکس فلز- تیول در سلولهای ریشه می‌باشد (۲۹و ۳۴).

نتایج حاصل نشان می‌دهد که اندوزش فلزات در ریشه‌های گیاهان میکوریزی به میزان قابل توجهی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بالاتر است. انباشت بیشتر فلز در ریشه گیاه میکوریزی و کاهش انتقال آن به بخش هوایی در مطابقت با نتایج ما، در پاسخ به تیمار با سرب در گیاه میکوریزی سویا (۹)، در پاسخ به تیمار سرب، روی، مس، کادمیم در گندم و لوبیا قرمز میکوریزی (۳۳)، نیز گزارش شده است. در چنین مواردی برای همزیستی میکوریزی نقش تثبیت کنندگی عناصر سنگین در بافت ریشه و عدم انتقال آن به اندام هوایی در نظر گرفته شده است که در واقع یکی از مکانیسمهایی است که از طریق آن قارچهای میکوریزی توانایی گیاه را برای رشد در خاکهای آلوده افزایش می‌دهند.

نتیجه گیری

تنش فلزات سنگین در گیاهان به ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید گونه‌های اکسیژن فعال منجر می شود. گیاهان برای تعدیل این تنش، مکانیسم‌های دفاعی متعددی از جمله افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و جلوگیری از انتقال و تجمع فلز در بخش هوایی را در پیش می گیرند. براساس نتایج، کلونیزاسیون با قارچ *Agaricus bisporus* موجب القاء افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محدود نمودن جذب فلز سنگین توسط گیاه شده و از این طریق به تحمل فلز سنگین کمک می‌کند.

منابع

۱- بهرامی سیرمندی، س.، احمدی مقدم، ع.، و حسینی فرد ،ج.، ۱۳۸۹. اثر اکتومیکوریز بر روی میزان برخی عناصر معدنی موجود در گیاه پسته احمدآقایی تحت تیمارهای مختلف منیزیم، مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران، صفحات ۱-۱۲.

۲- صالحی، ف.، مرادی قهدریجانی، م.، میرابوالفتحی، م.، و علی اصغرزاده، ن.، ۱۳۸۷. تاثیر 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، شماره ۷۸، صفحات ۵۶-۴۸.

۳- فلاحیان. ف.، عباسپور، ح.، و فهیمی، ح.، ۱۳۸۴. بررسی تاثیر قارچ اندومیکوریز بر تغذیه معدنی و رشد گیاه پسته درشوری، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۸۲، صفحات ۶۷-۸۶.

۴- قهرمان، ا.، ۱۳۸۷. کورموفیت های ایران (سیستماتیک گیاهی)، مرکز نشر دانشگاهی تهران، جلد سوم، ۷۶۸ صفحه.

۵- محبوب القلوب، ا.۱۳۹۰. مطالعه تاثیر اکتومیکوریز بین پسته احمدآقایی و قارچ دکمه ای بر جذب مقادیر مختلف کادمیم، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه شهید باهنر کرمان.

۶- نادرنژاد، ن، ۱۳۹۲. بررسی میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز و تولید ترکیبات فنلی در گیاه پسته و اثر اکتومیکوریز در کاهش تنش اکسیداتیو UV-B، پایان نامه دکتری دانشگاه شهید باهنر کرمان

۷- 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، شماره پنجم، صفحات ۱-۱۲.

8-Andrade, S., Silveira, A., 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, PP: 5381–5391.

9-Andrade, S., Abreu, C., Abreu, M., and Silveria, A., 2004. Influence of lead addition on arbuscular mycorrhiza and rhizobium symbiosis under soybean plants. Applied Soil Ecology, 26, PP: 123-131.

10-Adriaensen, K., Vangronsveld, J., and Colpaert, J. V., 2006. Zinc-tolerant Suillus bovinus improves growth of Zn-exposed Pinus sylvestris seedlings. Mycorrhiza, 16, PP: 553–558.

11- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding *Anal. Biochem*, vol. 72, PP: 248—254.

12-Colpaert, J. V., 2008. Heavy metal pollution and genetic adaptations in ectomycorrhizal fungi: Stress in yeast and filamentousfungi. British

Mycological Society Symposia Series, PP: 157-173.

13-Crane, S., Dighton, J., and Barkay, T., 2013. Growth responses to and accumulation of mercury by ectomycorrhizal fungi. Fungal Biology, 114(10), PP: 873-880.

14- Dalvi, A., and Bhalerao, S., 2013. Response of plants towards heavy metal toxicity: An overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. Annals of Plant Sciences, 2, PP: 362-368.

15- 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, PP: 90-97.

16- Dhindsa, R., Plumb-Dhindsa, P., and Thorpe, T., 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, PP: 93-101.

17- 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, PP: 119-127.

18- Gajewska, E., and Sklodowska, M., 2007. Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves Biometals, 20, PP: 27-36.

19-Giannopolitis, C., and Ries, S., 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology journal, 59, PP: 309-314.

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

21- 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, PP: 272–281.

22- Heath, R. L., and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetic and stochiometry of fatty acid peroxidation. Archive of biochemistry and biophysics. 125. PP: 189–190.

23- 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, PP: 146–159.

24- Krupa, P., and Piotrowska, Z., 2003. Positive aspect of interaction between plants and mycorrhizal fungi originating from plluted with cadmium. International Journal of Environmental Studies, 6, PP: 723-726.

25- Laiye, Q. U., Quoreshi, A., 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. Eurasiana.For.Res, 6, PP: 65-73.

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

27- 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, PP: 153-16 3.

28- Mohammadhasani, F., Ahmadimoghadam, A., and Asrar, Z., 2016. Growth responses and accumulation of heavy metals by fungus *Agaricus bisporus.* Acta Botanica Hungarica, 58(3–4), PP: 401–40.

29- Moser, A. M., Frank, J. L., D'Allura, J. A., and Southworth, D., 2009. Ectomycorrhizal communities of *Quercus garryana* are similar on serpentine and nonserpentine soils. Plant Soil, 315, PP: 185–194.

30- Nakano, Y., and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, Plant Cell Physiology, 22(5), PP: 867-880.

31- Panday, M., Girish, C., Dhardmendra, K., and Panday, R., 2009. Heavy metals, Co, Ni, Cu, Zn and Cd, produce oxidative damage and evoke differential antioxidant responses in spinach. Braz. J. Plant Physiology, 21(2), PP: 103- 111.

32- Pivetz, B., 2001. Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites. Ground Water Issue. *United States Environmental Protection Agency.*

33- 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, PP: 332–345.

34- Ray, P., Tiwari, R., and Adhoyela, A., 2004. Detecting the heavy metal tolerance level in ectomycorrhizal fungi in vitro. World Journal of

Microbiology and Biotechnology. 21, PP: 309-315.

35- Rion, B., and Alloway, J., 2004. Fundamental aspects of Zinc in soils and plants. International Zinc Association, PP: 1-128.

36-Vijayarengan, P., and Mahalakshmi, G., 2013. Zinc Toxicity in Tomato Plants. World Applied Sciences Journal, 24 (5), PP: 649-653.

37- Wu, Q., Zou, Y., and Abd-Allah, E., 2014. Mycorrhizal association and ros in plants. In: Ahmad, P. (Ed.). In: Oxidative damage to plants: antioxidant networks and signaling. Elsevier Inc.

Positive role of Mycorrhizal Fungi in the Alleviation of Zinc Toxicity in in Badami cultivar of pistachio (*Pistacia Vera L.*) trees

Mohammadhasani F.,[1] Ahmadimoghadam A.,[2] Asrar Z.[2] and Mohammadi S.Z.[3]

[1] Dept. of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, I.R. of Iran

[2] Dept of Biology, Faculty of Science, Bahonar University, Kerman, I.R. of Iran

[3] Dept. of Chemistry, Payame Noor University (PNU), Tehran, I.R. of Iran

Abstract

On metal contaminated soils, ectomycorrhizal (ECM) fungi may improve plant growth through an enhanced nutrition or by alleviation toxicity of the metals. In order to evaluation of alleviating effects of ectomycorrhizal colonization on zn 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 zn concentrations (0, 30, 60, 90 and 120 µm) in 3 replicates. In this study experiment was conducted to investigate the effect of ectomycorrhizal colonization in the alleviation of oxidative stress and improvements of the antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and metal accumulation in pistachio trees (Badami cultivar).The results showed that the increase of zinc 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 more 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 Zn translocated from root to shoot in M plants was lower than NM plants. The amelioration of Zn toxicity by *A.bisporus* may be a result of improving the antioxidant defense system and prevent the absorption of heavy metals.

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