

## اثر قارچ میکوریزا بر پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) تحت تنش کروم

مریم زارع<sup>۱</sup>، علیرضا سیروس مهر<sup>۲</sup> و سارا عبدخانی<sup>۳\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۰۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۲/۲

### چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae*) بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی سورگوم در سطوح فلز سنگین کروم به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح میکوریزا (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ گرم قارچ میکوریزا) و چهار غلظت کروم (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ میلی گرم در لیتر) بود. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که قارچ میکوریزای آربوسکولار اثر معنی داری بر طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه، طول بوته و وزن تر بوته داشت، به طوری که حضور قارچ منجر به کاهش اثر منفی سمیت کروم می شود. در سطوح کروم نیز، طول بوته در گیاهان میکوریزایی تلقیح شده با ۵۰ گرم و ۱۰۰ گرم قارچ بیشتر شد و در سطوح بالای قارچ اثر سمیت کروم کاسته شده است. در گیاهان میکوریزایی در سطوح کروم میزان کلروفیل افزایش یافت به طوری که با افزایش میزان قارچ از سمیت کروم کاسته شده است. نتایج نشان داد که بین مقدار قندهای محلول در اندام هوایی گیاه سورگوم تلقیح شده با قارچ و سطوح مختلف کروم تفاوت معنی دار ( $p \leq 0.01$ ) وجود نداشت. فعالیت آنزیم‌های سمیت‌زدا شامل گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی نیز افزایش یافت. طبق نتایج به نظر می‌رسد که قارچ میکوریزای آربوسکولار می‌تواند در تحمل سمیت کروم به گیاه زراعی سورگوم کمک کند.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم، قارچ میکوریزا، قندهای محلول، کلروفیل، کروم.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، اصلاح گیاهان باغبانی، دانشگاه زابل

۲- استادیار، گروه زراعت، دانشگاه زابل

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، بیوتکنولوژی در کشاورزی، دانشگاه زابل

\*: نویسنده مسئول: abdekhanisara@yahoo.com

## مقدمه

سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) گیاهی با طول دوره رشد کوتاه و نیاز آبی نسبتاً کم است که نسبت به خشکی و شرایط نامساعد محیطی مقاوم بوده و سازگاری خوبی با شرایط اقلیمی گرم و خشک و معتدل جهان دارد و راندمان بالایی از نظر تولید قند دارد (۱۵). سورگوم را قبل از رسیدن کامل در حالتی که هنوز سبز است برداشت نموده و به مصرف تغذیه حیوانات می‌رسانند و یا آن را سیلو کرده در زمستان استفاده می‌نمایند. برگ‌های سورگوم برای تغذیه حیوانات شیری غذای مناسبی می‌باشد (۱۴). کروم عموماً یک عنصر فراوان در پوسته زمین بوده و در حالت‌های اکسیداسیون از  $Cr^{2+}$  تا  $Cr^{6+}$  یافت می‌شود که تنها اشکال سه و شش ظرفیتی آن از لحاظ بیولوژیکی حائز اهمیت هستند (۶). غلظت‌های پایین کروم می‌تواند رشد گیاهان را افزایش دهد. درحالی‌که غلظت‌های بالاتر کروم برای انسان، گیاهان و حیوانات به شدت سمی است و سبب خطرات ابتلا به انواع سرطان‌ها، ناهنجاری‌های ژنتیکی و دیگر می‌گردد (۲۷). کروم به علت شباهت ساختاری با برخی عناصر ضروری، تغذیه معدنی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تغییرات متابولیک نیز توسط کروم در گیاهان ایجاد می‌شود. این تغییرات از طریق اثر مستقیم فلز کروم بر آنزیم‌ها، متابولیت‌ها و یا توانایی آن در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) مانند رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسیداز و رادیکال‌های هیدروکسیل و ایجاد تنش اکسیداتیو اعمال می‌شود. تنش اکسیداتیو به آسیب سلولی منجر می‌شود (۲۳). با ایجاد و شروع تنش سیستم‌های دفاعی گیاه نیز فعال می‌شود و رادیکال‌های آزاد شده در سلول‌های گیاهی به‌وسیله سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی کنترل می‌شود (۲۵). کنترل سطح آنتی‌اکسیدان‌ها به‌وسیله سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بوده، که شامل متابولیت‌هایی چون گلوکاتایون پراکسیداز، آسکوربات و بتاکاروتن و آنزیم‌های جاروب کننده رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز می‌باشد (۳). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریحان و آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در گیاهان کلزا تحت تیمار با

عنصر سنگین نیکل توسط محققان گزارش گردیده است (۸). کروم همچنین بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سیتو کروم اکسیداز و نترات ردوکتاز تأثیر می‌گذارد (۵). مقادیر بالای فلزات سنگین در خاک، تأثیر نامساعدی بر روی فرآیندهای میکروارگانیسمی و میکروبیولوژیکی دارد. در بین ارگانیسم‌های خاک قارچ‌های میکوریزایی تنها موجوداتی هستند که ارتباط مستقیمی بین خاک و ریشه‌ها ایجاد می‌کنند و بنابراین در میزان دسترسی فلزات سنگین و سمیت آن‌ها در گیاهان بسیار حائز اهمیت هستند. اجتماعات میکوریزایی آربوسکولار، بر روی ریشه‌های گیاهان در حال رشد در خاک‌های آلوده با فلزات سنگین موجودند و نقش مهمی در تحمل سمیت و انباشتگی فلزات سنگین ایفا می‌کنند. سمیت فلزات در خاک بستگی به میزان دسترسی آن‌ها دارد که به‌صورت توانایی آن‌ها برای انتقال از بخش خاک به داخل سیستم موجود زنده تعریف می‌شود (۱۷). همچنین اثرات سوء ناشی از تنش‌های محیطی نظیر شوری، خشکی و عناصر سنگین را کاهش می‌دهد. متصل شدن فلزات سنگین به دیواره سلولی میسلیوم‌های قارچ‌ها و تشکیل کمپلکس در واکوئل‌های قارچ باعث کاهش غلظت یون‌های آزاد در سیتوپلاسم و کاهش جذب یون‌های فلزی توسط گیاه می‌گردد و مکانیسم افزایش تحمل گیاه به تنش سمیت و تجمع عناصر سنگین در قارچ می‌باشد (۲۰).

فعالیت آنزیم‌های سمیت‌زدا شامل گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی نیز افزایش یافته که این افزایش در گیاهان میکوریزایی بالاتر بود. قارچ میکوریزا می‌تواند در تحمل سمیت کادمیوم به گیاه زراعی گندم کمک کند. نتایج حاصل از اثر قارچ میکوریزای آربوسکولار بر برخی پارامترهای رشد و فیزیولوژی از قبیل وزن تر و خشک ریشه و ساقه، رنگرزه‌های فتوسنتزی، قند کل، پروتئین کل، پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو در گیاه گندم تحت سمیت کادمیوم نشان داد که قارچ آربوسکولار اثر معنی‌داری بر وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی داشته، به‌طوری‌که حضور قارچ منجر به کاهش اثر منفی سمیت کادمیوم می‌شود با افزایش غلظت کادمیوم نیز، طول ریشه کاهش نشان داد، ولی کاهش چندانی در طول

ساقه مشاهده نشد. در پاسخ به تنش، کاهش طول ریشه در گیاهان همزیست کمتر از گیاهان غیرمیکوریزی است (۱۳).

هدف تحقیق بررسی اثر غلظت‌های مختلف کروم ( $Cr^{+3}$ ) و کاربرد قارچ میکوریزا بر برخی فاکتورهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه سورگوم می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل انجام گرفت. بذرهای سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) رقم پیام از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی شهرستان زابل و ماده تلقیح میکوریزا از شرکت زیست فناوری توران شاهرود تهیه گردید که شامل خاک، بقایای ریشه‌ای و اندام قارچ (*Glomus mosseae*) بود. در این آزمایش چهار سطح کاربرد قارچ میکوریزا شامل (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم قارچ میکوریزا در گلدان) استفاده شد. برای این منظور در هنگام کشت بذرهای سورگوم در ۴۸ گلدان یک کیلوگرمی به ارتفاع ۱۵ و قطر ۱۴ سانتی‌متر که حاوی مقادیر مشخصی از خاک بود، در زیر بذرها مقادیر ذکر شده از قارچ به صورت لایه‌ای به ضخامت ۲ تا ۳ سانتی‌متر اضافه شد و تا مرحله ۴ برگی (۵۲ روز بعد از کاشت) در شرایط گلخانه با آب معمولی آبیاری شدند. در مرحله چهار برگی به منظور اعمال تنش کروم از چهار سطح کروم (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر) از منبع  $Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$  استفاده شد. سطوح مختلف عنصر سنگین کروم به همراه آب آبیاری به صورت میلی‌گرم در لیتر در گلدان‌ها اعمال گردید. ۱۰ روز پس از اعمال تنش، نمونه برداری جهت مطالعه صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی شامل طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه، طول بوته، وزن تر بوته، قندهای محلول، آنزیم گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز انجام شد. وزن تر و خشک ریشه و وزن تر بوته با استفاده از ترازو دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. میزان قندهای محلول (کربوهیدرات) به روش ایریگون و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. برای این منظور ۰/۳ گرم از بافت سبز برگ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد

در لوله آزمایش دربسته قرار داده و به مدت یک ساعت در حمام بن ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. پس از سرد شدن ۱ میلی‌لیتر از این نمونه‌ها برداشته شد و به آن ۱ میلی‌لیتر فنل نیم درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. در نهایت میزان نور جذبی در ۴۸۳ نانومتر با دستگاه اسپکترومتر قرائت شد. شاخص کلروفیل بر اساس قرائت دستگاه از برگ‌های گیاه انجام شد. بدین منظور از هر بوته سه برگ همسان (جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته) انتخاب و کلروفیل آن‌ها به وسیله دستگاه قرائت شد. جهت استخراج پروتئین محلول کل یک گرم بافت برگ در حضور ۱۰۰ میلی‌گرم پلی وینیل پیرولیدون (PVP) و ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج (شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و سدیم متا بی‌سولفات یک میلی‌مولار) له شدند. جهت عصاره‌گیری نمونه حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ انتقال داده شده و در ۱۵۰۰۰ rpm و دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ رومیزی (Beckman مدل Allegra-64R) سانتریفیوژ شدند. فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکترومتری (اسپکترومتر Labomed مدل UV-۳۲۰۰) در دمای آزمایشگاه (۲۵±۲) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش ناکانو و اسدا (۱۹۸۷) اندازه‌گیری گردید. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی  $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  تعیین گردید. به منظور اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز از روش بیرز و سیزر (۱۹۵۲) استفاده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن  $H_2O_2$  در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی  $\text{mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  تعیین گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش همدا و کلین (۱۹۹۰) صورت گردید. فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی  $26/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  تعیین گردید. فعالیت ویژه آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز به صورت تعداد مول  $H_2O_2$  تجزیه‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. داده‌های وزن تر ریشه

ابتدا ضرب در ۱۰۰۰ و سپس تبدیل داده‌های لگاریتمی آماری MSTATC و میانگین‌ها با روش LSD در سطح انجام گرفت. داده‌های وزن خشک ریشه فقط در ۱۰۰۰ ضرب شدند. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

O.C (%)	pH	نیترژن (%)	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	هدایت الکتریکی (ds.m <sup>-1</sup> )	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)
۰/۷۹	۷/۵	۰/۰۵۷	۱۴۳	۱۴	۵/۶۸	۳۲	۴۴	۲۲

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در گیاه سورگوم تحت تأثیر قارچ میکوریزا و کروم

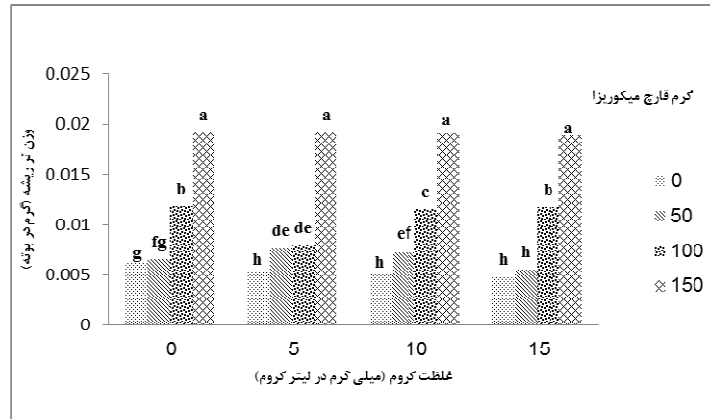
منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک	طول بوته	وزن تر بوته	کلروفیل	کربوهیدرات	گایاکول	کاتالاز	آسکوبات پراکسیداز
قارچ میکوریزا	۳	۹/۶۸۹**	۰/۶۶۶**	۱۲۸/۷۶**	۷/۸۰۳**	۰/۰۰۳۹**	۰/۶۳۳**	۰/۴۸۹**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۰۵۴**	۰/۰۰۹**
کروم	۳	۱/۱۰۴**	**	۰/۶۷۵**	۴/۰۷**	۰/۰۰۰۳۳ <sup>ns</sup>	**	۰/۰۱۲*	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۵۸**
قارچ میکوریزا × کروم	۹	۰/۶۰۸**	۰/۰۶۴**	۰/۷۷۱**	۳/۲۹**	۰/۰۰۰۵۲**	۰/۰۰۷۸	۰/۰۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۴**	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۶**
خطا	۳۲	۰/۱۸۰	۰/۰۲۱	۰/۰۷۱	۰/۴۷۰	۰/۰۰۰۱۹	۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۴
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۸۱	۱۴/۷۲	۵/۳۵	۴/۳۶	۱۲/۴۱	۲/۱۷	۱/۵۲	۲/۷۲	۳/۱۲	۲/۷۸

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و NS عدم اختلاف معنی‌دار

### وزن تر و خشک ریشه

شد. اثر متقابل قارچ میکوریزا و کروم بر همه صفات مورد بررسی به جز کربوهیدرات در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). در وزن تر ریشه‌ها، مشاهده می‌شود که در گیاهان تلقیح شده با قارچ نسبت به شاهد وزن تر ریشه افزایش یافت و در اثر سمیت کروم وزن تر ریشه در گیاهان تلقیح شده با قارچ در سطوح مختلف افزایش یافت در واقع سطوح مختلف قارچ اثر سمیت کروم را خنثی کرد (شکل ۱).

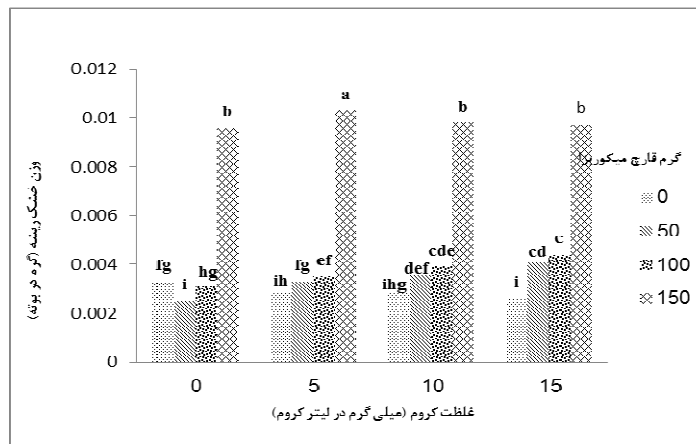
نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که اثر قارچ میکوریزا بر طول ریشه، وزن تر ریشه، طول بوته، کلروفیل، کربوهیدرات، آنزیم‌های گایاکول، کاتالاز و آسکوبات پراکسیداز در سطح یک درصد و بر وزن خشک ریشه در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. سطوح مختلف کروم بر طول ریشه، وزن خشک ریشه، طول بوته، آنزیم گایاکول، کاتالاز و پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار



شکل ۱- اثر متقابل قارچ میکوریزا\* کروم بر میانگین وزن تر ریشه سورگوم

سطوح مختلف قارچ اثر سمیت کروم را تا حدی خنثی کرد. به طوری که سطوح مختلف قارچ ۵۰ و ۱۰۰ گرم اثر سمیت کروم را به یک اندازه خنثی کرد و وزن خشک ریشه در یک سطح افزایش یافت ولی سطوح بالای قارچ (۱۵۰ گرم) اثر سمیت کروم را بیشتر خنثی کرد و وزن خشک ریشه خیلی بیشتر شد (شکل ۲).

در وزن خشک ریشه به طور کلی در سطوح کاربرد کروم در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا میزان وزن خشک ریشه بیشتر شد و در مقایسه بین سطوح کاربرد میکوریزا بیشترین وزن خشک ریشه از کاربرد ۱۵۰ گرم میکوریزا به دست آمد که اختلاف زیادی با سایر ترکیبات تیماری دارد (شکل ۲). در اثر سمیت کروم در گیاهان غیر میکوریزایی وزن خشک ریشه‌ها کاهش یافت. در واقع

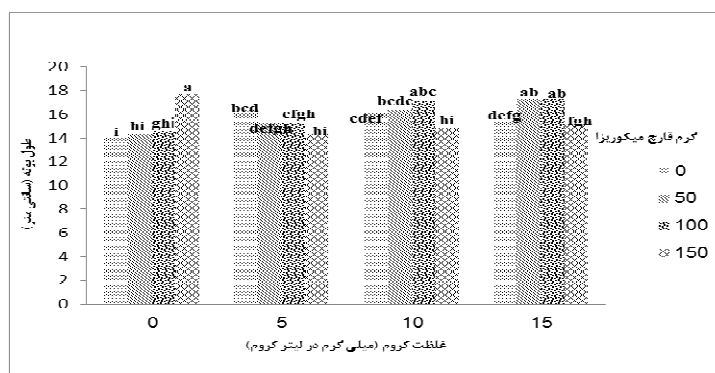


شکل ۲- اثر متقابل کروم\* میکوریزا بر میانگین وزن خشک ریشه سورگوم

حدودی باعث افزایش طول اندام هوایی در گیاه سورگوم شد. در مورد طول بوته در گیاهان میکوریزایی مشاهده می‌شود با غلظت‌های ۵۰ تا ۱۰۰ گرم قارچ در اثر افزایش میزان کروم بیشتر شد و در سطوح بالای قارچ (۱۵۰ گرم) اثر کروم کاهش نیافت.

### طول ریشه، طول بوته و وزن تر بوته

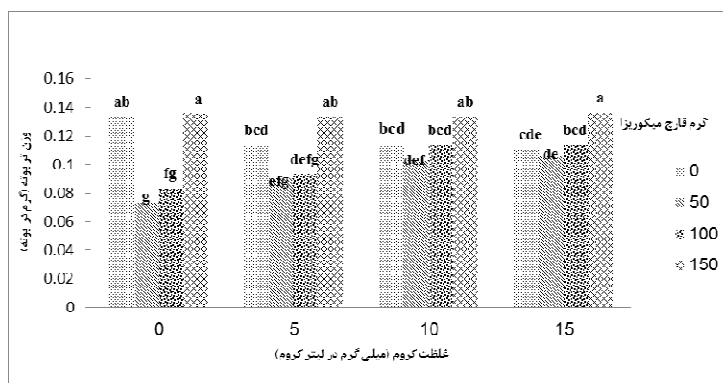
با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده شد که سمیت کروم باعث کاهش طول ریشه و طول بوته می‌شود. عموماً کاهش طول ریشه و ساقه در گیاهان میکوریزایی کمتر از گیاهان شاهد است. در شکل ۳ نشان داده شده است که در گیاهان غیر میکوریزایی با افزایش غلظت کروم طول اندام هوایی کاهش می‌یابد. ولی غلظت‌های مختلف قارچ تا



شکل ۳- اثر متقابل کروم\*میکوریزا بر میانگین طول بوته سورگوم

سطح بالای قارچ (۱۵۰ گرم قارچ) وزن بوته نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی بیشتر شد (شکل ۴).

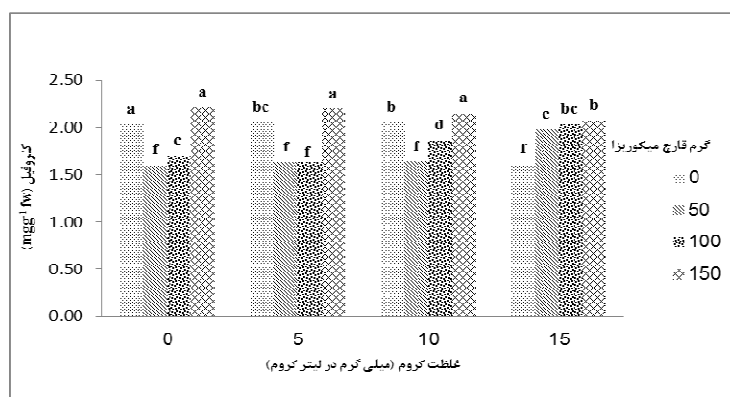
مقادیر کروم، در گیاهان میکوریزایی اثر سمیت کروم کاسته شد و وزن تر بوته افزایش یافت، به طوری که در



شکل ۴- اثر متقابل کروم\*میکوریزا بر میانگین وزن تر بوته سورگوم

افزایش یافت و با افزایش سطوح قارچ از تنش کروم کاسته شد. میزان کلروفیل در گیاهان میکوریزایی با غلظت (۱۵۰ گرم) بالاتر از میزان آن در گیاهان غیرمیکوریزایی است (شکل ۵).

شاخص کلروفیل برای کلروفیل مشخص شد که در گیاهان غیرمیکوریزایی با افزایش غلظت کروم کاهش یافت. در گیاهان میکوریزایی در اثر سطوح کروم، میزان کلروفیل

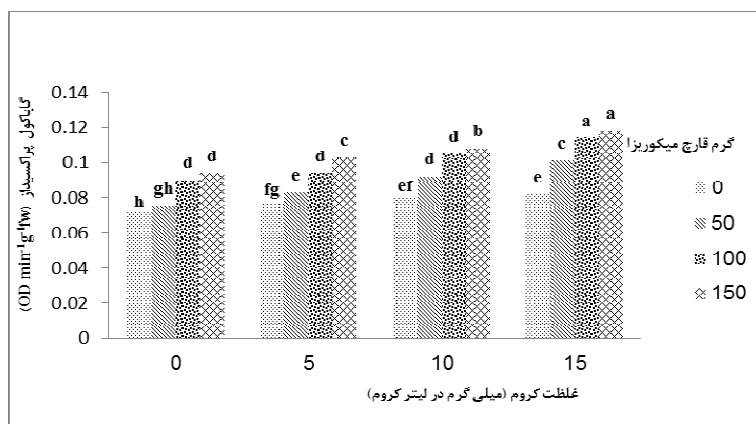


شکل ۵- اثر متقابل کروم\*میکوریزا بر میانگین شاخص کلروفیل سورگوم

اختلاف معنی داری ( $p \leq 0.01$ ) است. افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ساقه گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی در اثر تنش اکسیداتیو کروم و با افزایش غلظت فلز کروم معنی دار است ( $p \leq 0.01$ )، اما در حالت کلی این افزایش فعالیت در گیاهان میکوریزایی بالاتر از گیاهان غیرمیکوریزایی است (شکل ۶).

### فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز

کاربرد مقادیر کروم باعث افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در اندام‌های هوایی گیاهان غیرمیکوریزایی و میکوریزایی گردید. مشاهده شد که بین گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی با سطوح مختلف کروم

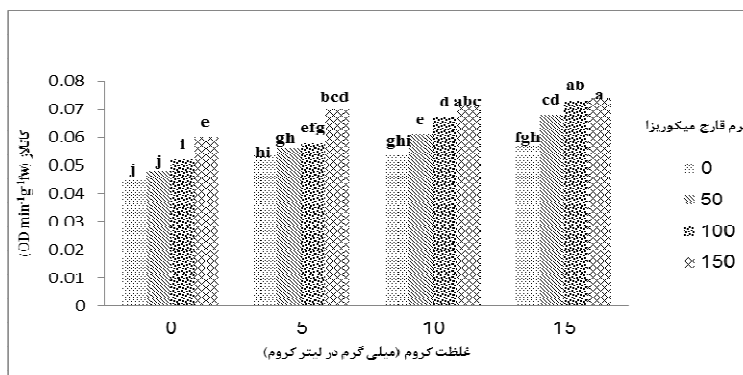


شکل ۶- اثر متقابل کروم\*میکوریزا بر میانگین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز سورگوم

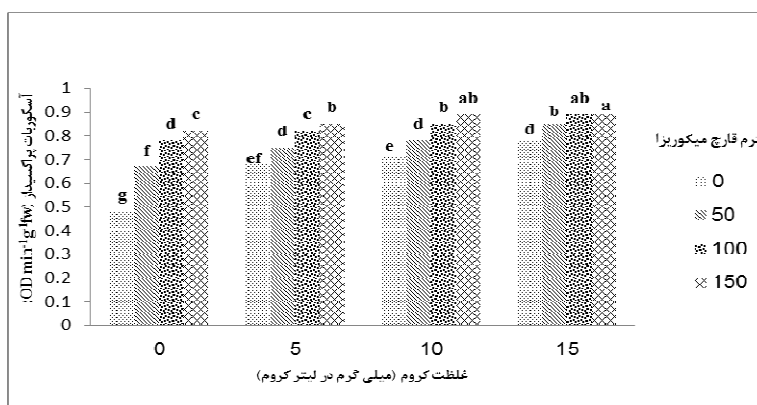
اندام‌های هوایی گیاهان غیرمیکوریزایی و میکوریزایی می‌شود. و مشاهده گردید که بین گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی با سطوح مختلف کروم اختلاف معنی داری است. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، در گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی در اثر سمیت کروم و با افزایش غلظت فلز کروم معنی دار است (شکل ۸). و به‌طور کلی در سطوح کروم و قارچ با افزایش میزان کاربرد کروم و قارچ بر میزان فعالیت این آنزیم افزوده می‌شود. یعنی اثرات تنش فلز کروم بیشتر از اثرات کاهنده میکوریزا

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به آنزیم کاتالاز نشان می‌دهد که سمیت کروم باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام‌های هوایی گیاهان غیرمیکوریزایی و میکوریزایی می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز ساقه گیاهان شاهد و گیاهان میکوریزایی در اثر سمیت کروم و با افزایش غلظت فلز کروم معنی دار است، اما در حالت کلی این افزایش فعالیت در گیاهان میکوریزایی بالاتر از گیاهان غیرمیکوریزایی است (شکل ۷). تنش کاربرد فلز کروم باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در

بود. درباره افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات در اندام هوایی اختلاف معنی داری ( $p \leq 0.01$ ) بین گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی مشاهده می شود (شکل ۸).



شکل ۷- اثر متقابل کروم\*میکوریزا بر میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در سورگوم



شکل ۸- اثر متقابل کروم\*میکوریزا بر میانگین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سورگوم

دانست. از طرفی در گیاهان میکوریزایی، هیفهای قارچی قادرند با نگهداری فلز در این هیفها و عدم انتقال آن به داخل سیستم گیاه باعث کاهش سمیت فلز سنگین شوند (۹). در آزمایش حاضر همچنین با افزایش سطوح قارچ از سمیت کروم کاسته شد و وزن تر و خشک ریشه و وزن بوته بیشتر شد. به مطالعات متعدد در مورد کاهش وزن خشک و رشد گیاهان در اثر تیمار کروم در گندم (۲۳)، لوبیا (۱۰) و باقلا (۲۴) اشاره کرد. در این زمینه چنین استنباط شده است که کاهش رشد ریشه می تواند به علت جلوگیری از تقسیم سلولی ریشه یا طولی شدن ریشه و یا به علت طولانی شدن چرخه سلول باشد. از طرفی سمیت کروم ممکن است به علت جایگزینی با کاتیونهای دیگر مثل  $Ca^{+2}$  در غشای سلول و دیواره سلول که منجر به

بررسی نتایج حاصل از آنالیز آماری دادهها، افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان شامل آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز را تحت تأثیر تنش فلز، هم در گیاه میکوریزایی و هم در گیاهان غیرمیکوریزایی (شاهد) نشان می دهد اما میزان افزایش فعالیت این آنزیمها عموماً در گیاهان میکوریزایی بالاتر از گیاهان غیرمیکوریزایی است.

### بحث و نتیجه گیری

می توان رشد بهتر گیاهان میکوریزایی را به بهبود وضعیت تغذیه ای گیاه و دسترسی آن به عناصر غذایی چون فسفر که موجب رشد بیشتر گیاه می شود مرتبط

گایاکول پراکسیداز و کاتالاز سبب حفاظت سلولی و مقاومت در برابر شرایط تنش و تحمیل شده به گیاه می‌شوند (۲۱). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، احتمالاً در پاسخ مستقیم به تولید رادیکال سوپراکسید می‌باشد. که احتمالاً در نتیجه اثر مهارى  $Cr^{3+}$  بر زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری‌های سلول‌های گیاهی می‌باشد (۲۳). کنترل سطح آنتی‌اکسیدان‌ها به‌وسیله سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بوده، که شامل متابولیت‌هایی چون گلوتاتیون پراکسیداز، آسکوربات و بتاکاروتن و آنزیم‌های جاروب کننده رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز می‌باشد (۳). کروم همچنین بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سیتوکروم اکسیداز و نیترات ردوکتاز تأثیر می‌گذارد (۵). اثر  $Cr^{3+}$  بر افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات در برگ و ریشه ریحان گزارش شد (۵).

در این مطالعه تنش کروم باعث افزایش در فعالیت گایاکول، آسکوربات و کاتالاز شد که می‌تواند دلیلی بر افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد تحت تنش کروم باشد. قارچ میکوریزا بهترین اثر را بر روی افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز در اندام هوایی گیاه سورگوم داشت. چنین تصور می‌شود که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک سیستم دفاعی مهم گیاهی در برابر تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط فلزات است (۲۶). در مجموع به نظر می‌رسد همزیستی میکوریزایی گیاه سورگوم با قارچ *Glomus mosseae* می‌تواند از طریق تعدادی از مسیرهای متابولیک و آنزیمی، رشد و نمو هماهنگ این گیاه را در شرایط تنش با فلز کروم بهبود بخشد.

عملکرد نادرست سلول گردد و همچنین کروم می‌تواند در جذب عناصر یونی مشابه دیگر مثل آهن و گوگرد دخالت کند که باعث کاهش رشد می‌شود (۲۲). از طرفی انتقال کروم به اندام‌های هوایی می‌تواند تأثیر مستقیمی بر متابولیسم شاخه‌ها داشته و در نتیجه باعث کاهش ارتفاع گیاه شود. اثر منفی بر بازدهی و وزن خشک اصولاً اثر غیرمستقیم کروم بر گیاهان می‌باشد که موجب اختلال جدی در جذب مواد مغذی معدنی و آب می‌شود و اثرات نامطلوبی بر رشد گیاه می‌گذارد (۲۳). در دو آزمایش جداگانه کاهش کلروفیل بر اثر تیمارهای کروم در گیاهانی مانند کاهو (۱۸) و دانه‌رست‌های کرفس بررسی شد (۲۲) و نتیجه شد که تغییرات کاهش سطوح کلروفیل می‌تواند به علت کاهش جذب Fe و کاهش عملکرد آنزیم‌هایی که در بیوسنتز کلروفیل دخالت دارند و نیز جایگزینی  $Mg^{2+}$  در ساختار مولکولی کلروفیل توسط برخی از فلزات سنگین مورد تیمار و یا کاهش اندازه شاخص بخش پیرامونی کمپلکس به‌واسطه یون کروم باشد (۴). کاهش میزان کلروفیل کل و در نتیجه فتوسنتز موجب کاهش تولید محصولات فتوسنتزی برای رشد اندام‌ها شده و در نتیجه باعث کاهش رشد می‌شود (۱۰). گزارش شده با افزایش غلظت کادمیوم، میزان کلروفیل در گیاه بنگدانه هم در گیاهان تلقیحی و هم غیر تلقیحی با قارچ میکوریزا کاهش می‌یابد، اما این کاهش در گیاهان تلقیحی پایین‌تر از گیاهان تلقیحی است (۱۲). افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک پاسخ عمومی به مقادیر سمی فلزات سنگین می‌باشد. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریحان و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گیاهان کلزا تحت تیمار با عنصر سنگین نیکل توسط محققان گزارش گردیده است (۸). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم‌ترین ترکیبات در جلوگیری از استرس اکسیداتیو در گیاهان می‌باشند. موضوع فوق براساس این واقعیت استوار است که عموماً فعالیت یک و یا چند مورد از این آنزیم‌ها در گیاهان تحت تنش افزایش می‌یابد (۱). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تولید شده به‌وسیله سلول‌های گیاهی شامل

## References

1. Allen, R.D, 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiol*, 107: 1049-1054.
2. Beers, R.F. & I. Sizer, 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen by catalase. *Journal Biochem*, 195: 133 - 140.
3. Bishekalayi, R., H. Fahimi, S. Saadatmand & S. Nezhad Sattari, 2011. The effect of Cr<sup>3+</sup> on Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes APX, SOD and PPOX in *Ocimum basilicum* L. *Horticultural Science*, 25: 470-478.
4. Dhir, B., P. Sharmila, P. Pardha Saradhi, S. Abdul Nasim, 2009. Physiological and antioxidant responses of *Salvinia natans* exposed to chromium-rich wastewater. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1790-1797.
5. Ghani, A, 2011. Effect of chromium toxicity on growth, chlorophyll and some mineral nutrients of (*brassica juncea* L.). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 2(1): 9-15.
6. Goyer, R.A. & T.W. Clarkson, 2001. Casarret and boulls toxicology. *The Basic Sciences of Poisons*, PP: 826-830.
7. Hemeda, H.M. & B.P. Kelin, 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. *Journal Food Science*, 55: 184-185.
8. Hisao, T.C, 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 519-570.
9. Horst V, 2004. Further root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in already mycorrhizal plants in suppressed after a critical level of root colonization. *Journal Plant Physiol*, 161: 339-341.
10. Hussain, M., A.S.M. Ahmad, A. Kausar, 2006. Effect of lead and chromium on growth, photosynthetic pigments and yield components in mashbean [*vigna mungo* (L.) hepper]. *Pak. Journal Bot*, 38(5): 1389-1396.
11. Irigoyen, J., J. Emerich & M. Sanches-Daiz, 1992. Water stress induced changes in concentration of praline and total soluble sugars hn nodulated alfalfa plants. *Journal.Plant Physiol*, 101: 339-341.
12. Kazemaliluo, S., M. Rasolisedghyan, H. Khodaverdiluo, B. Kalaty, 2012. Effect of Micro Arganyzm→Hay growth on some physiological parameters of henbane (*Hyoscyamus niger* L) under cadmium stress. *National Congress on Science and modern agricultural technologies, University of Zanjan*. 10(3): 71-80.
13. Khalighijamalabedi, A, 2011. The effects of mycorrhizal fungi *Glomus intraradices* on root growth and shoot and total protein content in wheat plants under cadmium toxicity. *First Conference of Agricultural Development Specialist Astan→Hay North West Iran Meshkinshar, PNU*. 1-11.
14. Khodabandeh, N, 2008. Cereals. University of Tehran publication, 537p. (In Presian)
15. Kulkarni, D.P., A. Almodares & R.B. Somani, 1995. Sweet sorghum: A supplementary sugar crop in Iran. *Annals of Plant Physiology*, 9: 90-94.
16. Lambais M, 2000. Regulation of plant defencerelated genes in arbuscular mycorrhizae. *The American Phytopathological Society*, 45-59.
17. Leyval, C., K. Turnau, R. Haselwandter, 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: *physiological, ecological and applied aspects*. *Mycorrhiza*, 7:139-153.
18. Naaz, S., S.N. Pandey, 2010. Effects of industrial waste water on heavy metal accumulation, growth and biochemical responses of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Environmental Biology*, 31: 273-276.
19. Nakano, Y. & K. Asada, 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: in inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiol*, 28: 131-140.
20. Ortiz, D.F, 1992. Heavy metal tolerance in the fission yeast requires an ATP-binding Cassette-type vascular membrane transporter. *EMBO*, 11: 3491-3499.
21. Passardi, F., C. Cosio, C. Penel, C. Dunand, 2005. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Rep*, 24: 255-265.
22. Scoccianti, V., R. Crinelli, B. Tirillini, V. Mancinelli, A. Speranza, 2006. Uptake and toxicity of Cr (III) in celery seedlings. *Chemosphere*, 64: 1695-1703.
23. Shanker, A.K., C. Cervantes, H. Loza-Tavera & S. Avudainayagam, 2005. Chromium toxicity in plants. *Environment International*, 31(5): 739-753.
24. Vassilev, A., L. Koleva, M. Berova, N. Stoeva, 2007. Development of a plant test system for evaluation of the toxicity of metal contaminated soils. I.Sensitivity of plant species to heavy metal stress. *Journal Central European Agriculture*, 8(2):135-140.
25. Vranova, E., D. Inze & F.V. Breusegum, 2002. Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experience Botany*, 53: 1227-1236.
26. Weckx J.E.J., H.M.M. Clijsters, 1996. Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiological Plantarum*, 26: 506-512.
27. Zhang, X.H., J. Liu, H.T. Huang, J. Chen, Y.N. Zhu & D.Q. Wang, 2007. Chromium accumulation by the hyperaccumulator plant *Leersia hexandra* Swartz. *Chemosphere*, 67: 1138-1142.