بررسی اثر سرب و روی و نقش قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بیومارکرهای تخریب در یونجه، خلر و ماشک گل خوشه‌ای

حسین حسن‌پور درویشی*

عضو هیات علمی گروه علوم و مهندسی آب، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: Hhassanpour87@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۰۸

چکیده

به منظور بررسی اثر سرب و روی و نقش قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیمی و میزان بیومارکرهای تخریب گونه‌های گیاهی یونجه، ماشک و خلر، این آزمایش به‌صورت گلدانی در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس انجام گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار بود. فاکتورها شامل نوع خاک شامل: خاک طبیعی (S_1)، خاک آلوده معادن سرب و روی (S_2) و خاک آلوده شرکت کنسانتره روی (S_3)، نوع گیاه شامل: یونجه (*Medicago sativa*)، ماشک گل خوشه‌ای (*Vicia villosa*) و خلر (*Lathyrus sativus*) و قارچ میکوریزا (*Glomus Intraradices*) در دو سطح: مصرف و عدم مصرف (شاهد) بودند. جهت تهیه نمونه خاک‌های آلوده از خاک‌های زراعی آلوده مجاور کارخانه کنسانتره روی و معادن سرب و روی واقع در کیلومتر ۱۰ استان زنجان استفاده شد. به‌طورکلی، میزان فعالیت تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و بیومارکرهای تخریب (به استثنای دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین) در هر دو خاک‌های آلوده به فلز سنگین در مقایسه با خاک طبیعی (شاهد) بیش‌تر بود. با توجه به نتایج آزمایش، مصرف قارچ میکوریزا توانست میزان تمامی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را در خاک‌های آلوده (S_2 و S_3) در مقایسه با خاک طبیعی (S_1) در تمامی گونه‌های زراعی مورد مطالعه افزایش دهد. علاوه بر این، مصرف قارچ میکوریزا به دلیل جذب بیش‌تر فلزات سنگین به استثنای بیومارکر 8-OH-dG باعث افزایش بیومارکرهای MDA و D-T گونه‌های گیاهی در خاک‌های آلوده شد. به‌طورکلی، گیاه یونجه با تولید آنزیم CAT و GPX بیش‌تر و ماشک گل خوشه‌ای با تولید آنزیم SOD بالاتر نسبت به گونه گیاهی خلر احتمالاً توانسته است در مقابل تنش اکسیدی ناشی از فلزات سنگین سرب و روی که تولید رادیکال آزاد می‌کنند، مقابله کند. از بین گونه‌های گیاهی، یونجه بالاترین میزان بیومارکر D-T و 8-OH-dG و نیز گونه ماشک بیش‌ترین میزان بیومارکر MDA را به خود اختصاص دادند.

واژه‌های کلیدی: گونه‌های گیاهی، سرب، روی، تنش اکسیداتیو ، محیط زیست.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

مقدمه

امروزه صنعتی شدن جوامع، و به دنبال آن آلودگی هوا و زمین یکی از معضلات مهم بشر به شمار می‌رود. مظفری و همکاران (۱۳۹۱) در تحقیقی به عنوان ارزیابی توان چند گونه زراعی در کاهش آلودگی خاک به فلز سنگین کادمیوم که در آن اثر غلظت‌های کادمیوم (Cd) خاک (صفر، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بر میزان بیومارکر MDA گونه‌های گیاهی کلزا[1]، ماشک گل خوشه‌ای[2] و یونجه یک‌ساله[3] مورد بررسی قرار گرفته بود، نتیجه گرفتند که همراه با افزایش میزان غلظت فلز کادمیوم در خاک میزان تولید بیومارکر مالون‌دی‌آلدئید بالا در هر سه گونه گیاهی مورد مطالعه افزایش یافت. آن‌ها نیز نتیجه گرفتند که در بین گونه‌های گیاهی مورد مطالعه، گونه کلزا و یونجه به‌ترتیب با ۳۷/۱۳ و ۳۳/۷۰ میکرومول بر گرم وزن تازه‌بافت کم‌ترین و بیش‌ترین میزان بیومارکر MDA را به خود اختصاص دادند. Beladi و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که میزان بیومارکرهای مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، دی‌تیروزین (D-T) و دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین (8-OH-dG) به‌طور معنی‌داری همراه با افزایش غلظت فلز سنگین سرب و مس افزایش یافت. Maysa و Abdel-Aal (۲۰۰۸) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. تحقیقات نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین و افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد (Mittler and Zilinskas, 1994). سیستم آنتی‌اکسیدانی متشکل از چند آنزیم از جمله سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گایاکول‌پراکسیداز (G-POD) است. رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده با فعال شدن آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) به پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) تبدیل شده و فعالیت آنزیم‌های گلیکول‌پراکسیداز (G-POD)، گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (CAT) و آسکوربیک‌پروکسیداز (APX) از تجمع H_2O_2 جلوگیری می‌نماید. از آن‌جایی‌که فلز سنگین سرب (Pb)، میزان ساخت گونه‌های فعال اکسیژن را در گیاه افزایش داده و منجر به ایجاد تنش اکسیدی در آن‌ها می‌شود، بنابراین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان خاصی نیز در چنین گیاهانی دیده می‌شود، به عنوان مثال در بوته‌های برنجی که به مدت ۲۰ روز در محیط کشت ماس‌های حاوی ۰/۵ و یک میلی‌مول $Pb(No_3)_2$ قرار دارد میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل سوپراکسیددیسموتاز، گایاکول‌پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز در ریشه و برگ‌های آن‌ها افزایش پیدا کرد (Sharma and Dubey, 2005a). مشخص شده که کلنیزه شدن گیاه به وسیله برخی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار می‌تواند جذب و تجمع فلزات سنگین در اندام هوایی گیاه (استخراج گیاهی) را افزایش دهد (Weissenhorn *et al*., 1995). قارچ میکوریزا از طریق ایجاد کانال بین ریشه گیاه و خاک، افزایش سطح

[1] .*Barassicanapus*.
[2] .*Viciavillosa*.
[3] .*Medicagorigidula.*

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]
[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

جذب و قابلیت دسترسی فلزات سنگین، جذب این آلودگی‌ها توسط گیاه را امکان‌پذیر می‌سازد. افزایش میزان همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه گیاه منجر به افزایش مقدار جذب فلزات سنگین می‌شود؛ بنابراین هر عاملی که این میزان را بهبود و بیش‌تر سازد مسلماً کارایی پاک‌سازی آلودگی خاک توسط گیاه را افزایش می‌دهد (زارع و همکاران، ۱۳۸۵). نتایج مطالعات نشان داده اندکه نقش قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار در گیاه پالایی، در صورت حضور چند فلز با هم، به‌طور دقیق مشخص نمی‌شود (Wenger, *et al.*, 2002). Weissenhorn و همکاران (۱۹۹۵) جذب فلزات سنگین به‌وسیله گیاه ذرت میکوریزی را در خاک‌های آلوده به کادمیوم (Cd)، روی (Zn)، سرب (Pb)، مس (Cu) و منگنز (Mn) مطالعه کردند، ولی به دلیل اینکه فلزات با یکدیگر برهمکنش دارند، نتایج آن‌ها به‌طور دقیق نقش قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار را بر جذب هریک از فلزات، مشخص نکرده است. گیاهان شبدر و ذرت دارای همزیستی آربوسکولار نسبت به بوته‌های فاقد همزیستی، در خاک آلوده به سرب دارای سرب بیش‌تری در ریشه و مقدار کم‌تری در اندام‌های هوایی بودند. غلظت زیاد این فلز در ریشه نسبت به ساقه نشان‌دهنده ترکیب و غیرفعال شدن آن در ریشه‌ها توسط قارچ همزیست است (Joner and Leyval, 2001). از آن‌جایی‌که گونه گیاهی یونجه، خلر و ماشک از قابلیت تحمل در برابر شرایط بد رشد برخوردار بوده و به عنوان یکی از منابع ژنی قابل توجه محسوب شده و از آن‌جاکه این گونه‌های گیاهی از طریق حفظ تعادل سلولی با کمبود آب مقابله می‌کنند و به‌طورکلی، نسبت به تنش‌های غیرزنده از جمله فلزات سنگین و حتی تنش‌های زنده متحمل می‌باشند. بنابراین در این تحقیق به بررسی اثر خاک‌های آلوده به دو فلز سنگین سنگین سرب (Pb) و روی (Zn) بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی سوپراکسیدازدیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) و بیومارکرهای بیوشیمیایی دی‌تیروزین (D-T)، دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین (8-OH-dG) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) گونه‌های گیاهی یونجه، ماشک گل خوشه‌ای و خلر پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سرب و روی و نقش قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیمی و میزان بیومارکرهای تخریب گونه‌های گیاهی یونجه، ماشک و خلر، این آزمایش به‌صورت گلدانی در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس انجام گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار بود. فاکتورها شامل نوع خاک: خاک طبیعی به عنوان تیمار شاهد (S_1)، خاک آلوده شرکت سرب و روی (S_2) و خاک آلوده شرکت کنستانتره روی (S_3)، نوع گیاه شامل: یونجه (*Medicago sativa*)، ماشک گل خوشه‌ای (*Vicia villosa*) و خلر (*Lathyrus sativus*) و قارچ میکوریزا (*Glomus intraradices*) در دو سطح: مصرف و عدم مصرف (شاهد) بودند. جهت تهیه نمونه خاک‌های آلوده از

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

خاک‌های زراعی آلوده مجاور کارخانه کنسانتره روی و معادن سرب و روی واقع درکیلومتر ۱۰ استان زنجان استفاده شد. نمونه برداری از خاک‌ها از عمق صفر-۳۰ سانتی‌متری صورت گرفت و سپس به منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد نظر و هم‌چنین وضعیت حاصل‌خیزی و عوامل محدودکننده، به‌ویژه عناصر سنگین سرب و روی آزمایش خاک انجام شد (جدول‌های ۱ و ۲). به منظور عملیات آماده‌سازی کلوخه‌های خاک خرد و سپس از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس گونه‌های گیاهی در گلدان‌ها کشت شد. در مرحله گل‌دهی از برگ گونه‌های گیاهی نمونه تهیه شد و با استفاده از کولمن حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. سپس نمونه‌ها با نیتروژن مایع منجمد و در یخچال ۴۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌ها نگهداری شد.

جدول ۱: نتایج تجزیه‌های فیزیکی وشیمیایی مربوط به انواع خاک مورد مطالعه

نوع خاک	اسیدیته خاک (pH)	شوری خاک (دسی‌زیمنس بر متر)	کربن آلی (درصد)	بافت خاک	مواد خنثی‌شونده (درصد)	نیتروژن کل N (درصد)	فسفر قابل جذب P (پی.پی.ام.)	پتاس قابل جذب K (پی.پی.ام.)	آهن Fe (پی.پی.ام.)	مس Cu (پی.پی.ام.)	منگنز Mn (پی.پی.ام.)	کادمیوم Cd (پی.پی.ام.)
S_1*	۷/۴	۰/۶۷	۰/۵۵	شنی	۱۲/۷	۰/۵۴	۲۹/۷	۵۲۰	۲۹۶	۴/۵	۷/۸	۰/۵
S_2	۷/۹	۱/۳۹	۰/۷۴	لومی شنی	۱۳/۹	۰/۰۶	۱۵/۴	۴۹۰	۱۴۰	۸/۲	۵۷/۱	۱۱/۹
S_3	۷/۵	۱/۶۹	۰/۶۶	لومی شنی	۱۱/۸	۰/۰۹	۲۱/۵	۴۱۰	۲۲۰	۷/۹	۵۹/۲	۹/۷

*S_1: خاک طبیعی (شاهد)، S_2: خاک آلوده شرکت سرب و روی و S_3: خاک آلوده شرکت کنسانتره روی می‌باشند.

جدول ۲: مقدار کل و قابل جذب فلز سرب و روی نمونه‌های خاک

خاک طبیعی (شاهد) S_1				خاک شرکت سرب و روی S_2				خاک شرکت کنسانتره روی S_3			
روی (Zn)		سرب (Pb)		روی (Zn)		سرب (Pb)		روی (Zn)		سرب (Pb)	
قابل جذب	کل	قابل جذب	کل	قابل جذب	کل	قابل جذب	کل	قابل جذب	کل	قابل جذب	کل
۹۲/۴	۳۲۰	۱۲۰	۴۳۵	۶۸۸	۲۲۱۷	۵۴۸	۱۴۱۶	۱۵۸۰	۴۶۵۰	۱۰۲۰	۳۲۰۰

اعداد بر حسب میلی‌گرم به کیلوگرم خاک خشک می‌باشند.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD)

میزان فعالیت آنزیم SOD از روش Misra و Fridovich (۱۹۷۲) تعیین شد. جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز از دو برگ هنگام صبح قبل از گرم شدن هوا برداشت شد، سعی بر آن بود که برگ‌ها کاملاً جوان و گسترده باشند. برگ‌ها داخل نایلون اتیکت‌گذاری شده قرار گرفت و در یخدانی که کف آن از یخ پوشیده شده بود قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌ها در بافر تریس ۰/۱۶ مولار با pH=۷/۵ خرد و هموژن شد. آنگاه حجم مشابه از بافر دیجیتونین و آنزیم هضم‌کننده دیواره اضافه گردید و اجازه داده شد تا فرایند هضم غشاء و دیواره سلول انجام شود. در پایان مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) برداشته شده و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. سپس در باقی‌مانده محلول استخراجی مقدار آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) اندازه‌گیری شد. از آنزیم استاندارد و خالص جهت استاندارد نمودن نتایج استفاده گردید.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX)

در ابتدا نمونه‌های منتقل شده به آزمایشگاه با آب مقطر شستشو داده شدند. بلافاصله در بافر فسفات تریس ۰/۱۶ مولار با pH=۷/۵ وارد شده سپس خرد و هموژن شدند. آنگاه اجازه داده شد در حضور حجم مشابه از همان بافر حاوی دیجیتونین و آنزیم هضم‌کننده دیواره، فرآیند هضم غشاء و دیواره سلول انجام شود. در پایان مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین برداشت شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. سپس در باقی‌مانده محلول استخراجی مقدار آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) از طریق روش Paglia و Valentine (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد. عصاره استخراجی به محلول بافر حاوی فسفات‌منوپتاسیک ۰/۵۶ مول (pH=۷/۵)، همراه ۱/۲ میلی‌مول EDTA، یک میلی‌مول $NaNo_3$ و ۰/۲ میلی‌مول NADPH وارد شد. سپس به آن ۰/۲ میلی‌لیتر گلوتاتیون احیاء به همراه ۰/۱ میلی‌مول از آب اکسیژنه اضافه گردید. بلافاصله میزان اکسیداسیون NADPH که از طریق تعیین مقدار تغییر جذب در ۳۴۰ نانومتر در ۳۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل -Shimaduz-u- z-u 100 اندازه‌گیری گردید، هم‌زمان یک محلول بلانک حاوی تمام مواد فوق بدون حضور عصاره استخراجی برای تصحیح و حذف خطاهای احتمالی مورد استفاده قرار گرفت. یک واحد از فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرومول از سوبسترا NADPH در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شده است. برای استاندارد شدن از نمونه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز استاندارد استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

جهت محاسبه‌ی این صفت، از نمونه‌های گیاهی و برگ‌های جوان و کاملاً گسترده استفاده شد و سپس توسط روش Paglia و Valenyine (۱۹۸۷) میزان تغییرات این آنزیم تعیین شد. نمونه‌های گیاهی پس از شستشو با آب مقطر بلافاصله در محلول بافرفسفات- تریس ۰/۱۶ مول (pH=۷/۵) وارد و خرد و هموژن شد. سپس حجم مشابه بافر حاوی دیجیتونین آنزیم هضم کننده‌ی دیواره اضافه نموده تا فرآیند هضم غشاء و دیواره‌های سلولی صورت گیرد. در آخر میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) برداشته شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. در این روش شدت حذف آب اکسیژنه به عنوان سوبسترا ارزیابی شد. بافر زمینه برای انجام کار حاوی ۰/۱۷ میلی‌مول فسفات دی سدیک (pH=۷/۵) به همراه ۰/۱۵ مول EDTA، ۰/۱۱ میلی‌مول کلریدمنیزیم در نظر گرفته شد. واحد فعالیت آنزیم کاتالار معادل نسبت تبدیل آب اکسیژنه در مدت یک دقیقه به هنگام پیشرفت واکنش درجه اول در نظر گرفته شد.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

سنجش دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین (8-OH-dG)

بافت مورد نظر توزین و پس از تعیین نسبت کل پروتئین یک قسمت از بافت در محلول بافر فسفات‌بی‌کربنات (منوسدیک) ۱/۶ مول (pH=۷/۵) خرد و سپس به سرعت در حضور یخ و شرایط سرد هموژن گردید. به محلول هموژن از ماده دی‌متیل‌سولفوکساید به غلظت ۰/۴ مول اضافه شد. پس از اضافه کردن بافر جدید بنام استات‌منوسدیک با pH=۵/۶ آن را در برابر آب مقطر به مدت ۶ ساعت دیالیز و سپس محتوای باقی مانده در ۱۵۰۰ دور به مدت۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول بالایی در اسپکتروفتومتر به‌ترتیب در طول موج‌های ۲۸۰ و ۲۶۰ نانومتر قرائت گردید. آنگاه با اضافه کردن تری‌کلرواستیک اسید ۰/۳۵ مول از پروتئین عاری شدند. این محلول پس از سانتریفوژ در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و محلول بالایی جهت سنجش 8-OH-dG مورد استفاده قرارگرفت. عصاره به‌دست آمده جهت سنجش بیومارکر 8-OH-dG بر اساس روش Bogdanov و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد. در این مورد عصاره را از ستون کربن شماره ۸ (C_8) عبور داده، این ستون مخصوص جذب پورین‌هاست. پس از به تعادل رسیدن و عبور تمامی حلال موجود در عصاره آنگاه ستون با عبور از فاز متحرک جدید حاویTrisHcl با pH=۸/۲ ماده 8-OH-dG از این ستون خارج شد و به ستون جدید کربن ۸ منتقل گشت. پس از به تعادل رسیدن، ستون با فاز متحرک حاوی آدنوزین با غلظت ۰/۶۵ مول شستشو گردید. این امر سبب جدا شدن اختصاصی ماده مورد نظر به عنوان یک پیک اختصاصی شده به‌طوری‌که این پیک به دستگاه دتکتور منتقل و شناسایی گردید. مقدار 8-OH-dG به‌صورت نسبت خاص از کل پیک‌های پورینی ارزیابی می‌گردد.

سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

جهت اندازه‌گیری این بیومارکر از روش Steven و Sidney (۱۹۸۷) استفاده گردید. عصاره‌ای که برای سنجش 8-oH-dG مصرف شد بر اساس روش تیو بار بتوریک‌اسید با MDA مورد استفاده قرار گرفت. محصول این واکنش پس از عاری شدن از پروتئین بوسیله تری‌کلرواستیک اسید ۱۲ مول به ستون سیلکاژل اکتادسیل منتقل شدند. پس از به تعادل رسیدن ستون، این ستون با فاز متحرک شامل فسفات بافر متانولی شستشو شد و پیک MDA در اسپکتروفتومتر با دتکتور مرئی در طول موج ۵۳۲ نانومتر شناسایی و بر اساس سطح زیر منحنی پیک اندازه‌گیری گردید. جهت استاندارد شدن مالون‌دی‌آلدئید خالص با نسبت‌های مختلف در بافر شستشو و منحنی استاندارد رسم گردید.

سنجش دی تیروزین (D-T)

جهت اندازه‌گیری دی‌تیروزین، دو برگ از گیاه با آب مقطر شستشو داده شد و بلافاصله در بافر فسفات‌تریس ۰/۱۶ مولار با pH=۷/۵ وارد و خرد و هموژن گردید، آنگاه اجازه داده شد حجم مشابه از همان بافر حاوی دیجیتوتین و آنزیم

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

هضم‌کننده دیواره فرآیند هضم غشای دیواره سلول صورت گیرد. در پایان مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در محلول هموژن برای سنجش توسط روش پیشنهادی Steven و Sidney (۱۹۷۸) برداشته شد و مقدار پروتئین بر اساس میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد، پس از آن در باقی‌مانده محلول مقدار دی‌تیروزین براساس روش مذکور مورد سنجش قرارگرفت در این روش میزان فعالیت بر اساس واکنش به مایع کروماتوگرافی ارزیابی شد. بافر زمینه برای کار حاوی تریس‌اسیدکلریدریک با pH= ۷/۲ ، ۰/۲ میلی‌مول بر لیتر سدیم‌دی‌سدیک بود.کلیه تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر اصلی و اثرات متقابل دوگانه (به استثناء برهمکنش دو گانه نوع گیاه × نوع خاک و نوع گیاه × میکوریزا بر روی بیومارکر دی‌هیدرواکسی‌گوآنوزین) و سه‌گانه عوامل آزمایش بر روی کلیه صفات آزمایشی معنی‌دار تشخیص داده شد (جدول ۳).

جدول ۳: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات					
		دی هیدرواکسی گوآنوزین (8-OH-dG)	دی‌تیروزین (D-T)	مالون‌دی‌آلدهید (MDA)	گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)	کاتالاز (CAT)	سوپراکسیددیسموتاز (SOD)
نوع گیاه	۲	۶۲۴۵۶/۳۶**	۴۰۸/۵۲**	۱۲۰۳/۴۸**	۶۸۳۷/۳۷**	۱۴۱۸۰/۷۴**	۴۱۱۶۴۲/۹۳**
نوع خاک	۲	۳۵۸۵/۷۷**	۳۱۶/۲۶**	۶۸۶/۲۹**	۳۸۸۳/۵۴**	۱۷۲۸۴/۶۹**	۲۱۲۳۶۲۸/۷۲**
میکوریزا	۱	۱۵۱۹/۸۴*	۲۸۵/۴۴**	۴۴۱/۵۴**	۶۵۸/۸۴**	۲۳۵۹/۸۴**	۲۰۳۹۴۷/۵۵**
نوع گیاه× نوع خاک	۴	۶۹۷/۲۴^{ns}	۹/۷۳**	۶۱/۴۶**	۹۸/۳۲**	۲۴۹/۳۴**	۸۲۳۵/۵۵**
نوع گیاه × میکوریزا	۲	۱۴۱/۸۶^{ns}	۱۵/۰۷**	۴۸/۹۲**	۱۶/۰۸**	۲۲/۷۴**	۷۵۲۳/۹۳**
نوع خاک× میکوریزا	۲	۲۴۱۱/۰۹**	۹۸/۹۹**	۱۰۹/۲۷**	۷۳/۴۳**	۴۴۴/۵۱**	۴۰۱۵۹/۳۸**
نوع گیاه × میکوریزا × نوع خاک	۴	۹۱۲/۰۹*	۶/۸۸**	۱۳/۶۰**	۶/۷۸**	۳۸/۰۳**	۵۱۰۷/۶۳**
خطا	۵۴	۳۴۳/۸۴	۱/۶۹۷	۰/۷۵۶	۱/۷۵۵	۴/۳۸۶	۶۲۷/۷۵۹
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۵/۳۸۸	۱۰/۴۷۵	۴/۲۸۰	۳/۲۶۴	۲/۳۶۴	۲/۱۹۸

ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD)

با توجه به معنی‌دار شدن برهمکنش سه گانه فاکتورهای آزمایش بر آنزیم آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، ترکیب تیماری ماشک × مصرف میکوریزا × خاک آلوده S_3 و خلر × عدم مصرف میکوریزا × خاک طبیعی S_1 به‌ترتیب با ۱۶۱۴ و ۸۰۴/۵ واحد به میلی‌گرم پروتئین بالاترین و پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم SOD را به خود اختصاص دادند (جدول‌های ۳ و ۴). با توجه به جدول ۴، به‌طورکلی میزان آنزیم SOD گونه‌های گیاهی تلقیح شده با قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده S_2 و S_3 در مقایسه با تیمار عدم مصرف میکوریزا بیش‌تر شد (شکل ۱). در تیمار خاک طبیعی S_1، میزان

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]
[DOR: 20.1001.1.20084403.1393.6.24.6.2]

این آنزیم در هر دو گونه‌های گیاهی یونجه و خلر مشابه و کم‌تر از گونه ماشک گل خوشه‌ای بود (شکل ۱). نتایج آزمایش نشان داد که دو فلز سنگین سرب (Pb) و روی (Zn) سبب القای فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در دو گونه‌های گیاهی به‌ویژه یونجه و ماشک گل خوشه‌ای شدند (جدول ۴). گونه گیاهی ماشک تلقیح شده با قارچ میکوریزا از فعالیت آنزیم SOD بالاتری نسبت به گونه دیگر برخوردار بود (شکل ۱). این نشان داد که گیاه ماشک گل خوشه‌ای احتمالاً توانسته است با فعالیت آنزیمی بالای خود کم‌ترین تخریب سلولی را در گیاه موجب شود. وجود قارچ میکوریزا در خاک طبیعی تفاوت قابل توجهی در میزان فعالیت آنزیم‌ها آنتی‌اکسیدانتی نسبت به شرایط عدم حضور میکوریزا ایجاد نکرد. اما در خاک آلوده با اضافه کردن قارچ میکوریزا مشاهده گردید که جذب فلز سنگین بیش‌تر شد که این عمل افزایش سطح آنزیم آنتی‌اکسیدانت را موجب گردید. در تحقیقی که Golshan و همکاران (۲۰۱۱) انجام دادند، نتایج مشابهی را مشاهده کردند. با توجه به اینکه آنزیم سوپراکسیددیسموتاز برای مقابله با اکسیژن‌های رادیکال آزاد تولیدی در شرایط تنش در گیاهان تولید می‌شود می‌توان نتیجه گرفت که گونه گیاهی ماشک احتمالاً با تولید بیش‌تری از این آنزیم توانسته است باعث حذف تعداد زیادی از اکسیژن‌های رادیکال آزاد تولیدی نسبت به سایر گونه‌ها گیاهی شود. به عبارت دیگر این گونه تا حدودی قادر بوده است از طریق افزایش فعالیت آنزیمی از فرایند حاصل از اکسیداسیون سلولی مصون شده باشد.

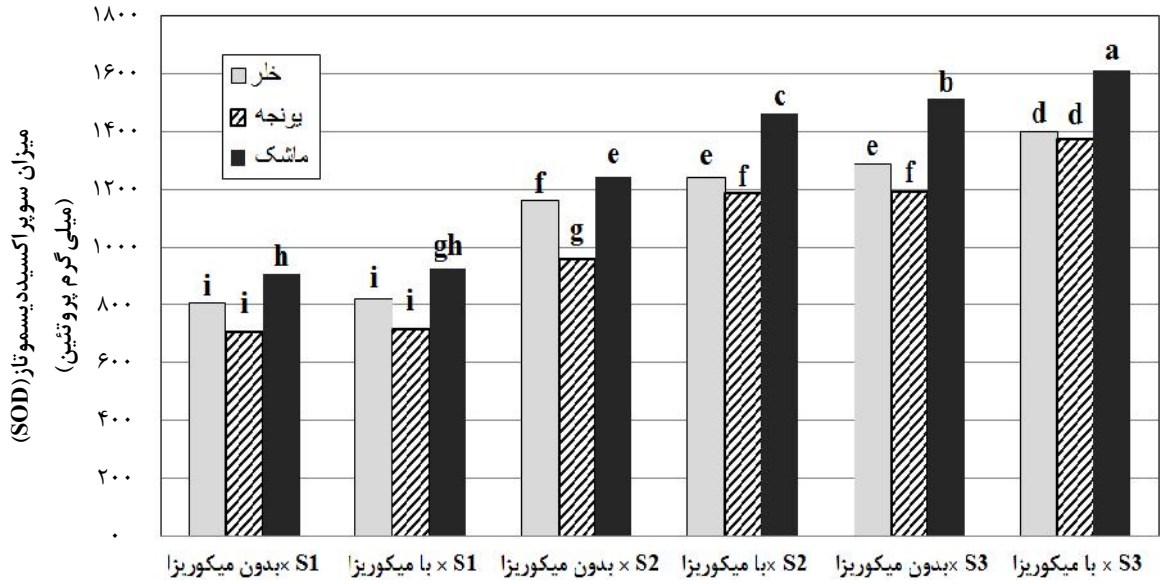
جدول ۴: برهمکنش سه گانه نوع گیاه، نوع خاک و قارچ میکوریزا بر صفات آزمایشی مورد مطالعه

تیمارهای آزمایشی			سوپراکسید دیسموتاز (SOD) (میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز (CAT) (میلی‌گرم پروتئین)	گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) (میلی‌گرم پروتئین)	مالون‌دی‌آلدئید (MDA) (میکرومول به گرم وزن تازه‌بافت)	دی‌تیروزین (D-T) (میکرومول به گرم وزن تازه‌بافت)	دی‌هیدرواکسی گوآنوزین (8-OH-dG) (نانومول به گرم وزن تازه‌بافت)
نوع گیاه	نوع خاک	میکوریزا						
خلر	شاهد (S_1)	عدم مصرف	۸۰۴/۵ i*	۵۲/۰۵ j	۱۶/۵۵ k	۱۵/۸۰ g	۶/۱۵۸ g	۸۰/۸۵ de
		مصرف	۸۱۹/۳ i	۵۴/۰۳ j	۱۸/۸۳ jk	۱۵/۹۰ g	۶/۱۶۰ g	۸۵/۲۰ de
	شرکت سرب و روی (S_2)	عدم مصرف	۱۱۶۱ f	۷۷/۹۵ h	۲۷/۱۳ h	۱۵/۹۰ g	۶/۱۳۰ g	۸۲/۶۵ de
		مصرف	۱۲۳۹ e	۹۱/۰۷ f	۳۱/۵۲ g	۲۲/۲۷ d	۸/۵۴۷ fg	۶۷/۳۵ e
	شرکت کنسانتره روی (S_3)	عدم مصرف	۱۲۸۸ e	۹۱/۸۵ f	۳۳/۴۲ g	۲۲/۵۰ d	۸/۵۵۷ fg	۶۷/۳۲ e
		مصرف	۱۴۰۱ d	۱۰۴/۴ d	۴۰/۵۰ ef	۲۹/۷۸ c	۱۴/۷۳ de	۴۹/۰۰ ef
یونجه	شاهد (S_1)	عدم مصرف	۷۰۵/۳ j	۷۹/۵۷ h	۴۱/۰۸ ef	۱۰/۹۳ h	۱۲/۶۳ e	۱۲۹/۹ bc
		مصرف	۷۱۴/۸ j	۸۰/۹۵ h	۴۲/۹۷ e	۱۱/۰۲ h	۱۲/۴۳ e	۱۶۷/۱ a
	شرکت سرب و روی (S_2)	عدم مصرف	۹۵۹/۳ g	۱۱۴/۸ c	۵۸/۱۵ c	۱۰/۷۰ h	۱۲/۵۷ e	۱۳۶/۰ ab
		مصرف	۱۱۸۳ f	۱۳۲/۶ b	۶۶/۷۵ b	۱۴/۴۵ g	۱۸/۰۸ bc	۹۴/۶۳ cd
	شرکت کنسانتره روی (S_3)	عدم مصرف	۱۱۸۹ f	۱۳۵/۹ b	۶۸/۳۵ b	۱۴/۵۷ g	۱۵/۹۹ cd	۱۲۸/۳ bc
		مصرف	۱۳۷۲ d	۱۵۴/۱ a	۸۱/۳۰ a	۱۷/۶۳ f	۲۸/۰۸ a	۹۱/۲۸ d
ماشک	شاهد (S_1)	عدم مصرف	۹۰۸/۸ h	۴۳/۹۲ k	۱۹/۹۲ j	۲۰/۳۰ e	۹/۷۳۸ f	۲۶/۳۰ f
		مصرف	۹۳۰/۰ gh	۴۶/۲۲ k	۲۲/۷۷ i	۲۰/۱۷ e	۹/۸۲۰ f	۲۶/۶۰ f
	شرکت سرب و روی (S_2)	عدم مصرف	۱۲۴۷ e	۶۱/۳۵ i	۳۲/۴۵ g	۱۹/۵۸ e	۹/۴۴۳ f	۲۸/۱۰ f
		مصرف	۱۴۶۴ c	۸۶/۲۰ g	۳۹/۰۰ f	۳۱/۶۷ b	۱۳/۲۳ e	۱۹/۷۳ f
	شرکت کنسانتره روی (S_3)	عدم مصرف	۱۵۱۶ b	۸۸/۳۵ fg	۴۱/۰۳ ef	۳۰/۳۰ bc	۱۲/۸۰ e	۱۹/۲۵ f
		مصرف	۱۶۱۴ a	۹۹/۳۵ e	۴۸/۸۸ d	۴۲/۲۵ a	۱۸/۸۰ b	۱۵/۱۳ f

حروف مشابه در هر ستون به منزله عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

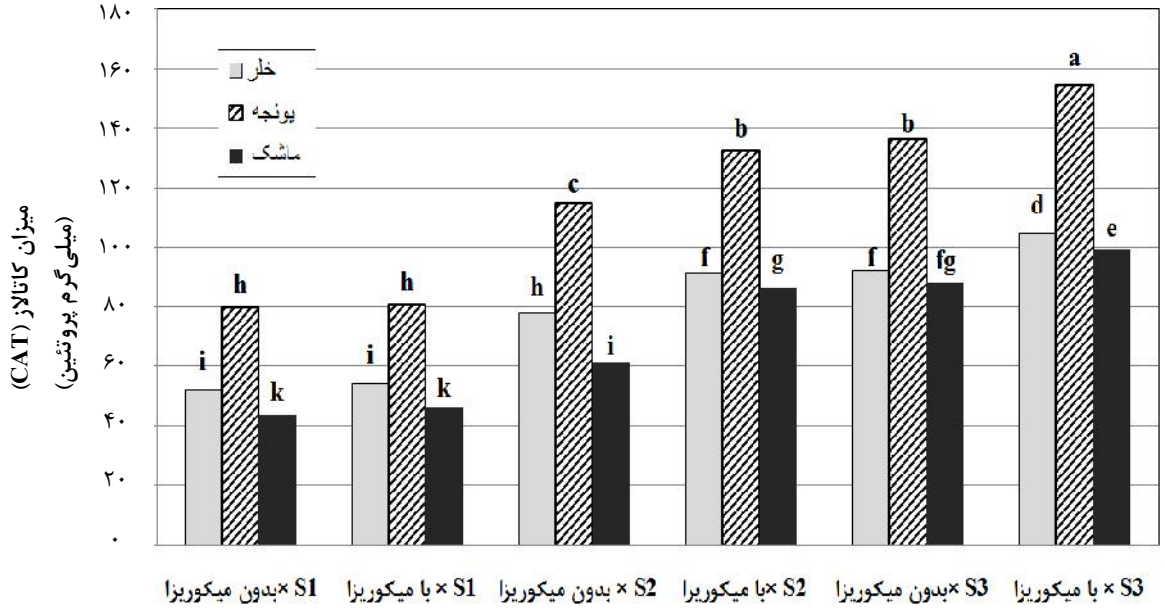
[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]



شکل ۱: برهمکنش گونه گیاهی، میکوریزا و نوع خاک بر میزان آنزیم SOD

آنزیم کاتالاز (CAT)

با توجه به جدول ۴، ترکیب تیماری یونجه × مصرف میکوریزا × خاک آلوده S_3 و ماشک × عدم مصرف میکوریزا × خاک طبیعی S_1 به‌ترتیب با ۱۵۴/۱ و ۴۳/۹۲ واحد به میلی‌گرم پروتئین (U/g.protien) بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم CAT را به خود اختصاص دادند (شکل ۲). به‌طورکلی، میزان آنزیم CAT گونه‌های گیاهی تلقیح شده با قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده S_2 و S_3 در مقایسه با تیمار عدم مصرف میکوریزا بیش‌تر شد (شکل ۲). با افزایش مقدار فلز سرب و روی در خاک‌های مورد مطالعه حداکثر فعالیت آنزیمی کاتالاز (CAT) مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲: برهمکنش گونه گیاهی، میکوریزا و نوع خاک بر میزان آنزیم CAT

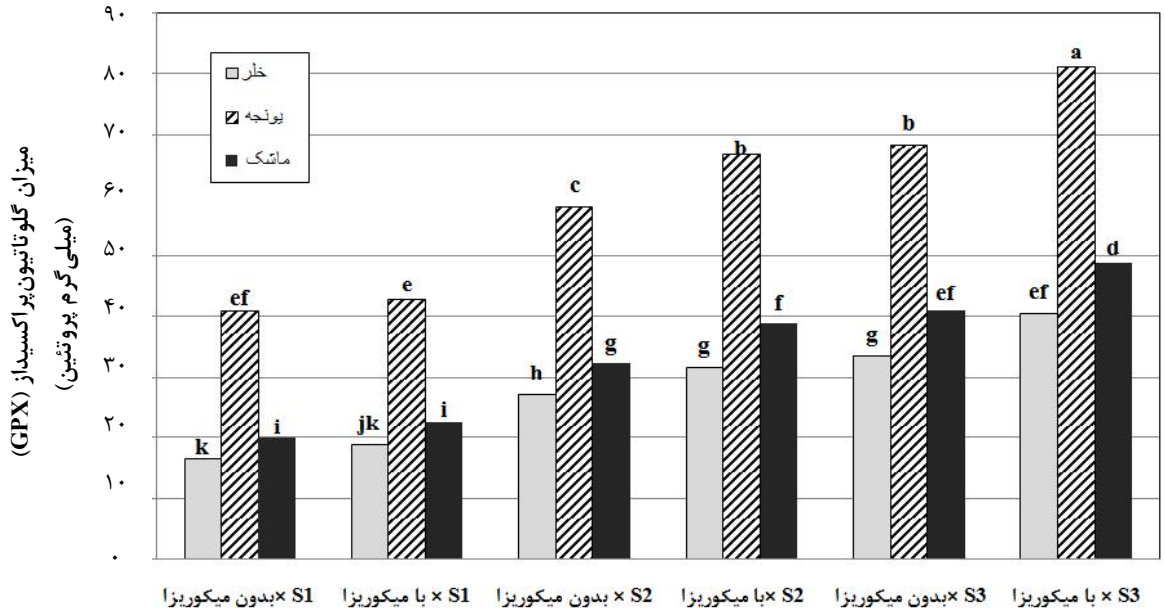
[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.20084403.1393.6.24.6.2]

حداکثر فعالیت آنزیمی CAT در گیاه یونجه تلقیح شده با میکوریزا بود و حداقل فعالیت آن در گیاه ماشک در نبود میکوریزا بود. گونه ماشک کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم را دارا بود. احتمالاً به دلیل میزان کم‌تر این آنزیم در این گونه پروتئین بیش‌تر تحت تأثیر سمیت ناشی از عناصر سرب و روی قرار گرفته است و از طرفی یونجه احتمالاً به دلیل فعالیت زیاد این آنزیم تحت تنش ناشی از سرب و روی کم‌ترین اکسیداسیون در پروتئین گیاهی صورت پذیرفته است. آنزیم آنتی‌اکسیدانت کاتالاز (CAT)، آنزیم مهمی است که در شرایط تنش اکسیداتیوی فعال می‌شود این آنزیم قادر به هضم و حذف H_2O_2 است. گیاه یونجه از بیش‌ترین فعالیت CAT برخوردار است و گیاه ماشک کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم را دارد و اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنزیم CAT در دو گونه گیاهی دیده شد.

آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX)

با توجه به جدول ۴، ترکیب تیماری یونجه × مصرف میکوریزا × خاک آلوده S_3 و خلر × عدم مصرف میکوریزا × خاک طبیعی S_1 به‌ترتیب با ۸۱/۳ و ۱۶/۵۵واحد به میلی‌گرم پروتئین (U/g.protien) بالاترین و پایین‌ترین میزان آنزیم GPX را به خود اختصاص دادند (شکل ۳). به‌طورکلی، میزان آنزیم GPX گونه‌های گیاهی تلقیح شده با قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده S_2 و S_3 در مقایسه با تیمار عدم مصرف میکوریزا بیش‌تر شد (شکل ۳). اگر چه با افزایش میزان سرب و روی در خاک‌های مورد مطالعه، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در مقایسه با شاهد افزایش داشت (شکل ۳). اما این افزایش برای هر سه گونه گیاهی به یک اندازه نبود به‌طوری‌که گونه گیاهی یونجه بیش‌ترین فعالیت آنزیمی را دارا بود و به‌ترتیب گونه گیاهی ماشک و خلر به‌ترتیب رتبه‌های دوم و سوم را به خود اختصاص دادند (شکل ۳).



شکل ۳: برهمکنش گونه گیاهی، میکوریزا و نوع خاک بر میزان آنزیم GPX

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

مصرف میکوریزا نیز در افزایش فعالیت این آنزیم اثر زیادی داشت. همان‌طور که بیان شد وجود میکوریزا در خاک طبیعی تفاوت قابل توجه در سطح آنزیم‌ها نسبت به شرایط عدم حضور میکوریزا ایجاد نکرد اما با اضافه کردن میکوریزا در خاک‌های آلوده دیده شد که جذب فلز سنگین بیش‌تر شده که این عمل باعث افزایش سطح آنزیم آنتی‌اکسیدانت گردید.

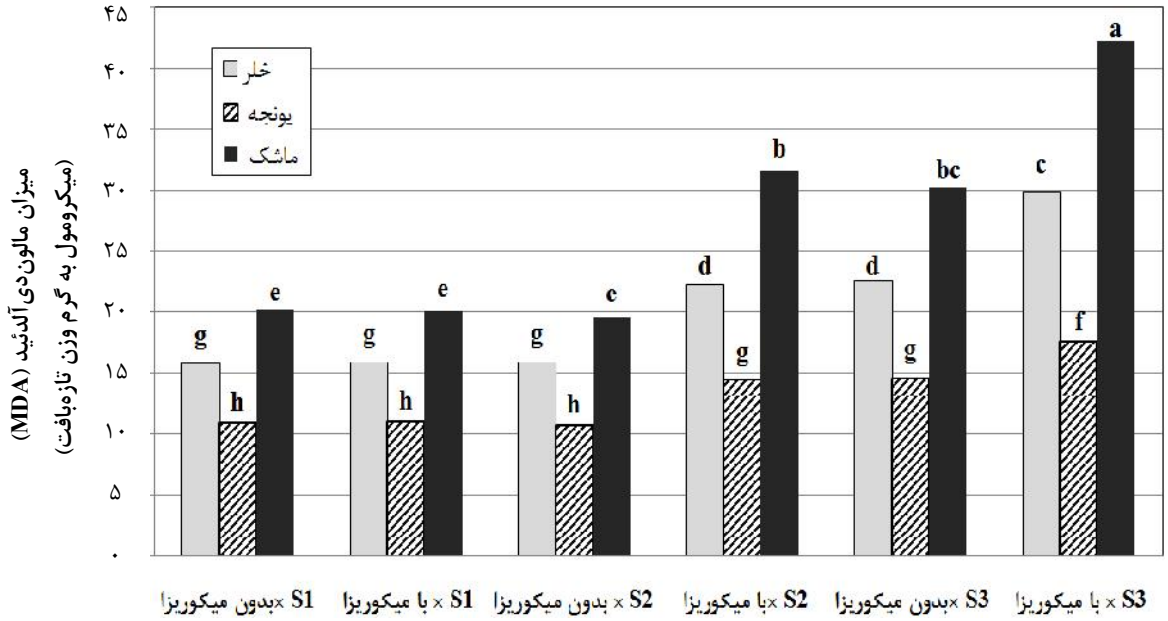
بیومارکر مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

با توجه به نتایج حاصل از جدول ۴، ترکیب تیماری ماشک × مصرف میکوریزا × خاک آلوده S_3 و یونجه × عدم مصرف میکوریزا × خاک طبیعی S_1 به‌ترتیب با ۴۲/۲۵ و ۱۰/۹۳ میکرومول به گرم وزن تازه‌بافت (µMol/g.Fw) بالاترین و پایین‌ترین میزان بیومارکرMDA را به خود اختصاص دادند (شکل ۴). مقدار بیش‌تر سرب و روی در خاک‌های آلوده به‌ویژه در خاک شرکت کنسانتره روی S_3 نیز بر میزان ظرفیت بیومارکر مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در هر سه گیاه افزود. به‌طورکلی، میزان بیومارکر MDA گونه‌های گیاهی تلقیح شده با قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده S_2 و S_3 در مقایسه با تیمار عدم مصرف میکوریزا بیش‌تر شد (شکل ۴). اگر چه با افزایش میزان سرب و روی در خاک‌های مورد مطالعه، میزان بیومارکر MDA در مقایسه با شاهد افزایش داشت، اما این افزایش برای هر سه گونه گیاهی به یک اندازه نبود (شکل ۴). به‌طوری‌که گونه گیاهی ماشک گل خوشه‌ای بیش‌ترین میزان بیومارکر MDA را دارا بود و گونه گیاهی خلر و یونجه به‌ترتیب رتبه‌های دوم و سوم را به خود اختصاص دادند (شکل ۴). مصرف میکوریزا نیز در افزایش میزان بیومارکر MDA اثر زیادی داشت، همان‌طور که بیان شد وجود میکوریزا در خاک طبیعی تفاوت قابل توجهی در سطح بیومارکر MDA نسبت به شرایط عدم حضور میکوریزا ایجاد نکرد. اما در خاک‌های آلوده به فلز سنگین با اضافه کردن میکوریزا جذب فلز سنگین بالا رفت که این عمل باعث افزایش میزان بیومارکر MDA شد. حداکثر افزایش ظرفیت MDA در گونه ماشک همراه با مصرف میکوریزا مشاهده شد که اثر میکوریزا در این مورد هم قابل تأمل است (شکل ۴). بعد از گونه ماشک گیاه یونجه حداکثر افزایش ظرفیت MDA را دارا بود، نتیجه آن که گونه گیاهی ماشک به دلیل فرایند تولید اکسیژن‌های رادیکال آزاد بیش‌تر در مقایسه با دو گونه گیاهی دیگر مورد تجزیه لیپیدی بیش‌تری قرار گرفت. در بین گونه‌های، گیاه یونجه از کم‌ترین میزان بیومارکر بیوشیمیایی مالون‌دی‌آلدئید را به خود اختصاص داد که این موضوع نشان‌دهنده کم‌تر بودن تجزیه لیپیدی این گونه نسبت به سایر گونه‌های گیاهی مورد مطالعه می‌باشد. مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء بوده و به عنوان نشانگر تولید رادیکال‌های آزاد و خسارت غشاء در تنش‌های غیرزنده است. با توجه به نتایج آزمایش، ظرفیت بیومارکر مالون‌دی‌آلدئید در گونه گیاهی ماشک گل خوشه‌ای بیش‌تر از گونه‌های دیگر بود، که این موضوع احتمالاً ناشی از کافی نبودن ترشح آنزیمی (ضعیف بودن سیستم دفاع آنزیمی) در این گونه برای مقابله با سمیت عناصر سنگین سرب و روی بوده است (شکل ۴). برعکس در بین گونه‌های گیاهی، گونه گیاهی یونجه هم از

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

فعالیت آنزیمی و هم ظرفیت MDA کم‌تری برخوردار بود، احتمالاً این مسئله به خاطر کافی بودن این میزان از فعالیت آنزیمی گیاه یونجه برای مقابله با افزایش ظرفیت مالون‌دی‌آلدئید بوده باشد و یا اینکه گیاه با مکانیسم دیگری توانسته ROS تولیدی را هضم و حذف کند.



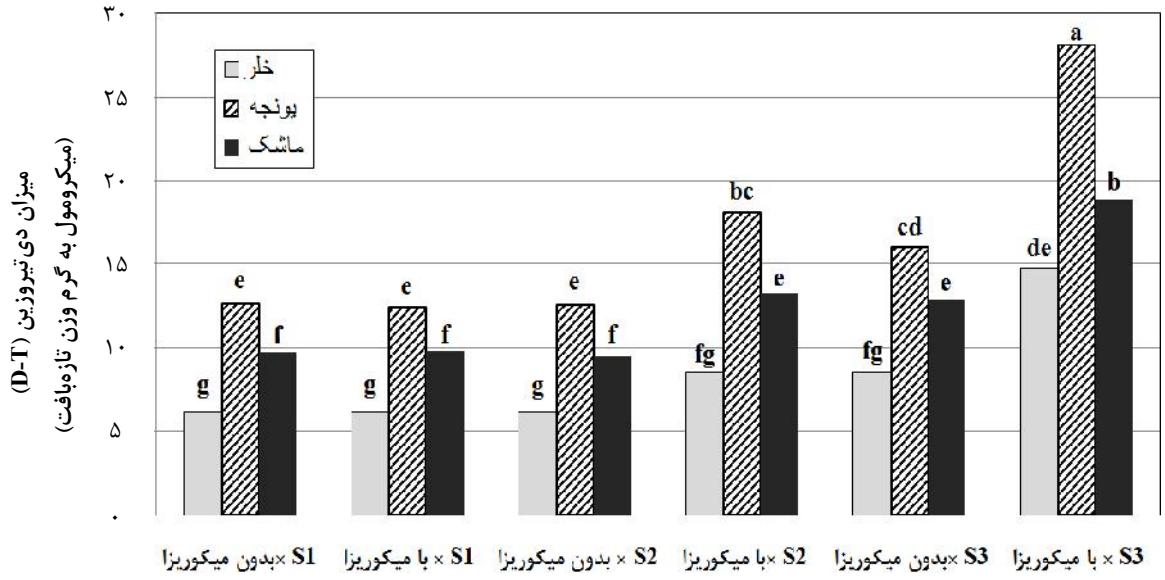
شکل ۴: برهمکنش گونه گیاهی، میکوریزا و نوع خاک بر بیومارکر MDA

بیومارکر دی‌تیروزین (D-T)

با توجه به نتایج حاصل از جدول ۴، ترکیب تیماری یونجه × مصرف میکوریزا × خاک آلوده S_3 و خلر × عدم مصرف میکوریزا × خاک طبیعی S_1 به‌ترتیب با ۲۸/۰۸ و ۶/۱۵۸ میکرومول به گرم وزن تازه‌بافت (µMol/g.Fw) بالاترین و پایین‌ترین میزان بیومارکر دی‌تیروزین (D-T) را به خود اختصاص دادند (شکل ۵). مقدار بیش‌تر سرب و روی در خاک‌های آلوده به‌ویژه در خاک شرکت کنسانتره روی S_3 نیز بر میزان ظرفیت بیومارکردی‌تیروزین (D-T) در هر سه گیاه افزود. به‌طورکلی، میزان بیومارکر D-T گونه‌های گیاهی تلقیح شده با قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده S_2 و S_3 در مقایسه با تیمار عدم مصرف میکوریزا بیش‌تر شد (شکل ۵). اگر چه با افزایش میزان سرب و روی در خاک‌های مورد مطالعه، میزان بیومارکر D-T در مقایسه با شاهد افزایش داشت، اما این افزایش برای هر سه گونه گیاهی به یک اندازه نبود به‌طوری‌که گونه گیاهی یونجه بیش‌ترین میزان بیومارکر D-T را دارا بود و به‌ترتیب گونه گیاهی ماشک و خلر به‌ترتیب رتبه‌های دوم و سوم را به خود اختصاص دادند (شکل ۵). افزایش میزان بیومارکر D-T گونه گیاهی یونجه همراه با مصرف میکوریزا چشم‌گیرتر از دو گونه گیاهی دیگر بود که به نظر می‌رسد مقدار زیاد سرب و روی با یکدیگر توانسته ظرفیت دی‌تیروزین در گونه گیاهی یونجه را بیش از دو گونه دیگر تحت تأثیر قرار دهد.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

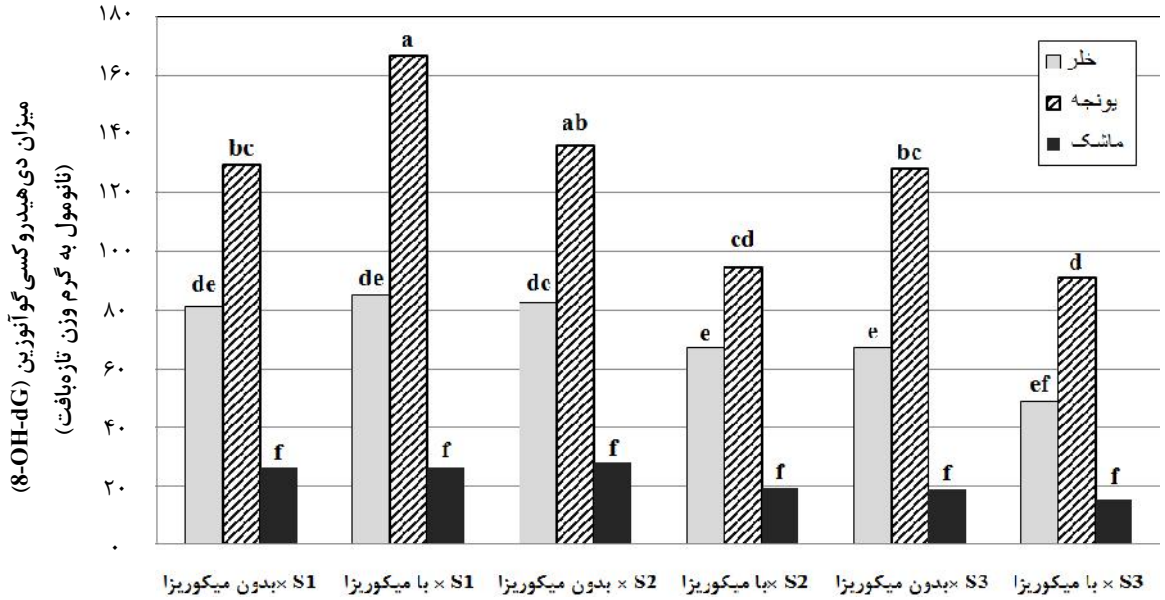
[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]



شکل ۵: برهمکنش گونه گیاهی، میکوریزا و نوع خاک بر بیومارکر D-T

بیومارکر دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین (8-OH-dG)

خاک‌های آلوده به دو فلز سنگین سرب و روی، ظرفیت بیومارکر دی‌هیدروکسی‌گوانوزین (8-OH-dG) را که یک نشانگر زیستی برای پراکسیداسیون یا تخریب DNA است را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. با توجه به جدول ۴، ترکیب تیماری یونجه × مصرف میکوریزا × خاک طبیعی S_1 و ماشک × مصرف میکوریزا × خاک آلوده S_3 به‌ترتیب با ۱۶۷/۱ و ۱۵/۱۳ نانومول به گرم وزن تازه‌بافت ((NanoMol/g.Fw) بالاترین و پایین‌ترین میزان بیومارکر دی‌هیدروکسی گوآنوزین (8-OH-dG) را به خود اختصاص دادند (شکل ۶).



شکل ۶: برهمکنش گونه گیاهی، میکوریزا و نوع خاک بر بیومارکر 8-OH-dG

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]
[DOR: 20.1001.1.20084403.1393.6.24.6.2]

در اینجا بر عکس، مقدار بیش‌تر سرب و روی در خاک‌های آلوده به‌ویژه در خاک شرکت کنسانتره روی S_3 بر میزان ظرفیت بیومارکر 8-OH-dG در هر سه گیاه نیافزود. به‌طورکلی، میزان بیومارکر 8-OH-dG گونه‌های گیاهی تلقیح شده با قارچ میکوریزا در خاک‌های آلوده S_2و S_3در مقایسه با تیمار عدم مصرف میکوریزا کم‌تر شد (شکل ۶). گونه گیاهی یونجه بیش‌ترین میزان بیومارکر 8-OH-dG را دارا بود و گونه گیاهی خلر و ماشک به‌ترتیب رتبه‌های دوم و سوم را به خود اختصاص دادند (شکل ۶).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، گیاه یونجه با تولید آنزیم CAT و GPX بیش‌تر و ماشک گل خوشه‌ای با تولید آنزیم SOD بالاتر نسبت به گونه گیاهی خلر احتمالاً توانسته است در مقابل تنش اکسیدی ناشی از فلزات سنگین سرب و روی که تولید رادیکال آزاد می‌کنند، مقابله کند و این مقدار از سطح آنزیم کمک مؤثری به حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در این دو گونه گیاهی کرده است. با توجه به اینکه گیاه ماشک از میزان بیومارکر 8-OH-Dg برخوردار بود، بنابراین هسته سلول و اسیدهای هسته‌ای (DNA) در این گونه گیاهی نسبت به بقیه گونه‌ها مورد مطالعه کم‌تر مورد تخریب قرار گرفت. اگرچه گیاه یونجه از میزان تولید بیومارکر دی‌تیروزین (D-T) و دی هیدرواکسی گوآنوزین (8-OH-dG) بیش‌تری برخوردار بود، اما در مقابل از میزان بیومارکرMDA و فعالیت آنزیم CAT و GPX به مراتب بالاتر نیز برخوردار بود. بنابراین گیاه یونجه کم‌تر مورد تجزیه لیپیدی قرار گرفته است، احتمالاً تولید آنزیم کاتالاز از تخریب و پراکسیداسیون پروتئین در گیاه یونجه جلوگیری کرده است. گونه گیاهی ماشک با تولید بالای SOD مقابله بهتری در مقابل تنش‌های اکسیداتیو داشته و از تجزیه DNA (که محصول آن تولید 8-OH-dG است) نسبتاً جلوگیری کرده است. مصرف قارچ میکوریزا توانست میزان تمامی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را در خاک‌های آلوده (S_2 و S_3) در مقایسه با خاک طبیعی (S_1) در تمامی گونه‌های زراعی مورد مطالعه افزایش دهد. علاوه بر این، مصرف قارچ میکوریزا به دلیل جذب بیش‌تر فلزات سنگین به استثناء بیومارکر 8-OH-dG باعث افزایش بیومارکرهای MDA و D-T گونه‌های گیاهی در خاک‌های آلوده شد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس به خاطر حمایت‌های مادی و معنوی اجرای این طرح پژوهشی تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

زارع، م.ج.، قلاوند، ا.، رجالی، ف. و خلوتی، م.ع. ۱۳۸۵. پاک‌سازی آلاینده‌های خاک توسط کرم خاکی، قارچ میکوریزا آربسکولار و گیاه. مجموعه چکیده مقالات اولین همایش تخصصی محیط زیست. دانشگاه تهران، دانشکده محیط زیست. ص: ۴۸۳۸.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

مظفری. ا ، حبیبی . د ، ملکی . ع. و بابایی، ف . ۱۳۹۱. ارزیابی توان چند گونه زراعی در کاهش آلودگی خاک به فلز سنگین کادمیوم. مجله زراعت و اصلاح نباتات ۸ (۳): ۱۴-۱.

Beladi, M., Habibi, D., Kashani, A., Paknejad, F. and Nooralvandi, T. 2011. Phytoremediation of Lead and Copper by Sainfoin *(Onobrychisvicifolia)*: Role of Antioxidant Enzymes and Biochemical Biomarkers. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environtal Science 10 (3): 440-449.

Bogdanov, M.B., Flint Beal, M., Mccabe, D.R., Griffin, R.M. and Matson, W.R. 1999. A carbon column-based Liquid Chromatography Electrochemical Approach to Routine approach to routine 8-hydroxy-2-deoxyguanosine measurements in urine and other biological matrices.Free Radical Biology and Medicine 27: 647-666.

Golshan, M., Habibi, H., Beladi, S.M. and Maleki, M.J. 2011. Copper and Lead Tolerance Strategies in Mustards (Sinapis arvensis) Egyptian Clover (Trifolium alexandrinum) and Hairy Vetch(Vicia villosa):Role of Some Antioxidant Enzymes. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environtal Science 11:122-128.

Joner, E. J. and Leyval, C. 2001. Time course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. Biology Fertilization Soils 33: 351-357.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenolreagents. The Journal of Biological Chemistry 193: 265-275.

Maysa, M. and Abdel-Aal, E. 2008. Oxidative Stress and Antioxidant Defense Mechanisms in Response to Cadmium Treatments. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environtal Science 4: 655-669.

Mittler, R. and Zilinskas, B.A. 1994. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. Plant Journal 5: 397-405.

Misra, H.P. and Fridovich, I. 1972. The generation of superoxide radical during auto oxidation. The Journal of Biological Chemistry 247: 6960-6966.

Paglia, D.E. and Valentine, W.N. 1987. Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione proxidase. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 70: 158-165.

Sharma P. and Dubey, R.S. 2005a. Lead toxicity in plants. Plant Physiology 17: 35-52.

Steven, H and M.H. Sidney. 1987.Lipid peroxidase in samples as measured by liquid chromatography. Separeathion or malondialdehydetiobarbituric acid.Elin. Chem. 32: 214-220.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]

Weissenhorn, I., Leyval, C., Belgy, G. and Berthelin, J. 1995. Arbuscularmycorrhizal contribution to heavy metaluptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. Mycorrhiza 5: 245–252.

Wenger, K., Gupta, S.K.,Furrer, G. and Schulin, R. 2002. Zinc extraction potential of two common crop plants*, Nicotianatabacum* and *Zea mays*. Plant Soil 242: 217-225.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

[DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.24.6.2]