

## بررسی کاربرد میکوریز بر صفات فیزیولوژیکی گیاه کتان (*Linum usitatissimum* L.) تحت تنش فرابنفش

شراره شیعتی<sup>۱\*</sup>، جلیل خارا<sup>۲</sup> و عبدالله حسنزاده قورت تپه<sup>۳</sup>

۱- نویسنده مسئول، دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران

پست الکترونیک: Sharare\_shiati@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۴

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۴

### چکیده

در بین انواع مختلف میکوریز، میکوریز آربوسکولار، رایج‌ترین نوع همزیستی مسالمت‌آمیز بین میکروارگانیسم‌های خاکزی و گیاهان می‌باشد که اهمیت اکولوژیکی و اقتصادی فراوانی دارد. پرتو UV به دلیل افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن به‌عنوان یک عامل ایجادکننده تنش‌های اکسایشی شناخته شده‌است. موضوع این تحقیق بررسی کاربرد میکوریز بر صفات فیزیولوژیکی گیاه کتان (*Linum usitatissimum* L.) تحت تنش فرابنفش بود. گیاهان کتان در دو گروه میکوریزی و غیرمیکوریزی در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای محیطی ۱۸ تا ۲۹ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. گیاهان میکوریزی با مایه تلقیح حاصل از کشت *Glomus etunicatum* و *Glomus versiforme* آغشته شدند. ۲۱ روز بعد از کشت، یک سری از گلدان‌ها به‌عنوان شاهد انتخاب شده و بقیه به مدت ۱۴ روز و هر روز به مدت ۱ ساعت تحت تنش UV-B (با طول موج ۳۱۲ نانومتر) قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل سه تیمار میکوریزی (*G. etunicatum*، *G. versiforme* و بدون میکوریز)، دو تیمار UV (با UV و بدون UV) و سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان قند محلول و میزان پروتئین محلول در گیاهان تحت تیمار UV-B نسبت به شاهد کاهش یافت و این کاهش در نمونه‌های میکوریزی کمتر از نمونه‌های غیرمیکوریزی بود. از سوی دیگر، فعالیت آنزیم‌های پاداکسایشی تحت تأثیر تابش فرابنفش افزایش یافت؛ به‌نحوی که این افزایش در گیاهان میکوریزی بیشتر از نمونه‌های غیرمیکوریزی بود. همچنین آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تحت تابش UV-B نسبت به شاهد افزایش یافت. این افزایش در نمونه‌های میکوریزی کمتر از نمونه‌های غیرمیکوریزی بود. بنابراین با بررسی مطالب فوق نتیجه‌گیری شد که پرتو UV-B اثرات زیان‌باری بر روی رقم شاهین‌دژ دارد و همزیستی میکوریزی با دو گونه قارچی فوق می‌تواند از برخی جهات این تنش را تا حدودی تخفیف دهد. همچنین مشاهده شد که تأثیر مثبت همزیستی در حضور گونه *Glomus versiforme* بهتر از گونه *Glomus etunicatum* می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: میکوریز آربوسکولار، گلموس، میزان مالون‌دی‌آلدئید، میزان قند محلول.

## مقدمه

واژه میکوریزا از دو کلمه myco به معنی قارچ و rhizo به معنی ریشه گرفته شده است. این واژه اولین بار در سال ۱۸۸۵ به وسیله یک گیاه‌شناس آلمانی به نام فرانک برای توصیف نوعی همکاری بین قارچ و ریشه گیاهان عالی استفاده شد (Al-Karaki *et al.*, 2001). تمام گیاهان مورد مطالعه در اکوسیستم‌های طبیعی به‌طور کامل (آندوفیت‌ها) و یا جزئی (میکوریزا) با قارچ‌ها همزیستی دارند. این همزیستی به نظر می‌رسد برای انطباق با تنش‌های زنده و غیرزنده و نیز برای بقای گیاه میزبان و قارچ مفید باشد (Rodriguez *et al.*, 2004). در بین انواع مختلف میکوریزا، میکوریزا آربوسکولار (AM) رایج‌ترین نوع همزیستی مسالمت‌آمیز بین میکروارگانیسم‌های خاکزی و گیاهان می‌باشد که اهمیت اکولوژیک و اقتصادی فراوانی دارد. قارچ‌های AM به دلیل اینکه می‌توانند ۴ تا ۲۰ درصد کربن تثبیت‌شده توسط گیاهان را مصرف کنند، به‌عنوان مهمترین تنظیم‌کننده‌های جریان کربن از گیاهان به خاک، به‌شمار می‌آیند (Zhu & Miller, 2003). از مهمترین مشخصات قارچ‌های AM همزیست اجباری بودن، تشکیل آربوسکول در ریشه گیاه، داشتن اسپوره‌های بزرگ چند هسته‌ای با دیواره یا دیواره‌های چند لایه‌ای و هیف‌های بدون دیواره عرضی (بجز در هیف‌های مسن و یا در محل اتصال هیف به اسپور) می‌باشد. انتقال مواد بین سلول‌های کورتکس ریشه کلنیزه شده با قارچ و آربوسکول‌های قارچ، مهمترین مشخصه همزیستی AM است (Helgason *et al.*, 1999).

اشعه UV به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر روی ارگانیسم‌ها اثر می‌گذارد و موجودات به‌طور طبیعی در برابر خسارت UV قرار دارند (Jordan, 2002). UV-B باعث کاهش رشد گیاهان، تولید برگ‌های کوچک، ساقه‌هایی با انشعابات کم و تغییرات بیوشیمیایی در رنگیزه‌ها می‌شود (Kovacs & Keresztes, 2002). اشعه UV سبب ایجاد پاسخ‌های حفاظتی در گیاهان می‌شود که این پاسخ‌ها موجب کاهش اثرات UV-B در داخل بافت‌های گیاهی، از طریق حذف رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Giordano *et al.*,

2003). آسیب‌های ناشی از تابش UV-B بر گیاهان به‌دلیل نیاز آنها به نور خورشید برای بقا و عدم توانایی گیاهان در حرکت باید بیشتر مورد توجه قرار گیرد (Mpoloka, 2008). مطالعات زیادی اثرات زیان‌بار UV-B را بر روی گیاهان از طریق کاهش فتوسنتز و بیوماس نشان می‌دهند (Milchunas *et al.*, 2004; Bianciotto *et al.*, 2003).

کتان با نام علمی (*Linum usitatissimum* L.) متعلق به تیره کتان (Linaceae) و جنس لینوم (Linum) می‌باشد. گیاهان این تیره به شکل‌های مختلف علفی یا درختچه مانند و دارای برگ‌هایی معمولاً متناوب یا ساده می‌باشند (Ghahreman, 1996).

با مطالعه اثر UV-B بر بذره‌های گلرنگ تسریع در جوانه‌زنی و تأخیر در رشد بعدی دانه‌رست‌ها مشاهده شده است (Farokh *et al.*, 2010). تنش UV-B در گیاه کتان واریته TN97-2 وزن تر ریشه و اندام هوایی و همچنین طول ساقه و ریشه را کاهش داده است. همچنین میزان قندهای محلول در برگ و ریشه گیاهان تحت تیمار در مقایسه با گیاهان شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (Khakpour *et al.*, 2011). در مطالعه انجام شده توسط Mahdavian و همکاران (۲۰۰۶) کاهش میزان پروتئین و قند در گیاه فلفل تحت تنش UV-B مشاهده شده است. تنش UV سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و نیز افزایش در میزان مالون دی آلدئید شده است (Hosseini Sarghein *et al.*, 2011).

در مطالعات انجام شده توسط Rahmatzadeh و Khara (۲۰۰۸) کاهش اثرات زیان‌بار اشعه فرابنفش در شرایط همزیستی میکوریز مشاهده شد. همچنین تخفیف تنش خشکی در گیاه مرزه تحت همزیستی با دو گونه از قارچ‌های میکوریز آربوسکولار مشاهده گردید (Esmailpour *et al.*, 2013).

هدف این پژوهش، ارزیابی تأثیر تابش فرابنفش بر گیاه کتان و بررسی تأثیر همزیستی میکوریزی در کاهش اثرات ناشی از این تابش بود.

## مواد و روش‌ها

یژوهش مورد نظر در شرایط گلخانه‌ای با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، دمای بیشینه و کمینه ۲۹ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد و نور مصنوعی حاصل از لامپ فلورسنت مهتابی و آفتابی و همچنین لامپ سدیمی انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل سه تیمار میکوریزی (*G. versiforme*, *G. etunicatum*) (دارای و بدون میکوریز)، دو تیمار UV (با UV و بدون UV) و سه تکرار انجام شد. داده‌ها توسط آنالیز واریانس با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹.۲ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال آماری ۵٪ انجام شد.

ابتدا بذره‌های سالم و هم اندازه گیاه کتان (*Linum usitatissimum* L.) رقم شاهین‌دژ که از مرکز تحقیقات کشاورزی آذربایجان غربی تهیه شده بودند، انتخاب و در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ ضدعفونی شده و بعد ۳ بار با آب مقطر شستشو داده شدند. تعداد ۳۶ گلدان پلاستیکی به قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر که قبلاً ضدعفونی شده بودند، انتخاب شدند. از این تعداد ۱۲ گلدان برای *Glomus etunicatum*، ۱۲ گلدان برای *Glomus versiforme* و ۱۲ گلدان برای شاهد در نظر گرفته شد. حدود ۱۰ تا ۱۵ بذر در هریک از گلدان‌ها در عمق ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متری خاک قرار داده شدند. این گلدان‌ها علاوه بر ۵۰ گرم مایه تلقیح، حاوی خاک و ماسه به نسبت ۱ به ۳ بودند که این خاک و ماسه‌ها قبلاً در دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۲ ساعت استریل شده بودند. به گلدان‌های شاهد نیز مایه تلقیح اضافه شد، با این تفاوت که مایه تلقیح نیز در اتوکلاو در دما و فشار فوق به مدت ۲ ساعت استریل شده بود. رشد گیاهان در اتاق کشت با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، دمای بیشینه و کمینه ۲۹ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد و نور مصنوعی حاصل از لامپ فلورسنت مهتابی و آفتابی و همچنین لامپ سدیمی انجام شد. به مدت ۳ روز پس از کشت، گلدان‌ها هر روز با آب آبیاری شدند و بعد از آن به مدت یک هفته به‌طور متناوب از آب و محلول نیم قدرت

هوگلدن حاوی نصف غلظت فسفر (حجم مواد مصرفی در ساخت این محلول، ۱/۲ حجم مواد مورد نیاز برای ساخت محلول هوگلدن می‌باشد) و در هفته‌های بعد از آب و محلول کامل هوگلدن (Hoagland & Arnon 1950) حاوی نصف غلظت فسفر به‌طور متناوب برای تغذیه گیاه استفاده شد (Rahmatzadeh & Khara., 2008). کاهش مقدار فسفر برای تحریک همزیستی میان قارچ‌های میکوریز و ریشه گیاه میزبان انجام گردید. با گذشت ۳ هفته از آغاز کشت، از ریشه گیاهان نمونه‌برداری شد و شروع آغشتگی میکوریزی در آنها بررسی گردید. پس از اطمینان از تلقیح ریشه‌ها، تیمار UV-B اعمال شد.

۲۱ روز بعد از رشد در شرایط محیطی یکنواخت، گلدان‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: ۱۸ گلدان برای تیمار UV-B و ۱۸ گلدان برای شاهد مورد استفاده قرار گرفتند. برای تیمار از لامپ UV (با مشخصات (UV-B=2(15W) (LF-215m. 312nm) به مدت ۲ هفته و هر روز به مدت ۱ ساعت (بین ساعت ۱۱ تا ۱۲) استفاده شد. لامپ‌ها در بالای گلدان‌ها به فاصله ۷۵ سانتی‌متری نصب شده بودند. در زمان اعمال تیمار نیز به‌طور متناوب از آب و محلول غذایی هوگلدن کامل حاوی نصف غلظت فسفر برای تغذیه گیاه استفاده شد. بعد از ۲ هفته تیمار، مرحله برداشت انجام شد. در این مرحله قسمت‌های مختلف گیاهان شاهد و تیمار از هم جدا شدند و پس از شستشو و خشک کردن نمونه‌ها، نمونه‌های مورد نیاز برای بررسی و مطالعه بیشتر در فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ریشه و اندام هوایی مربوط به یک گلدان جداسازی و با آب مقطر شستشو داده شد و بعد وزن تر آنها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری قند از روش فنل سولفوریک اسید استفاده شد (Fales, 1979).

برای تعیین پروتئین محلول از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) استفاده شد.

برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده گردید، در نهایت جذب نمونه‌ها در

اندازه‌گیری فعالیت گایاکول پراکسیداز در تمام تیمارها و تکرارها با استفاده از روش Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) انجام شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار برداشته و روی آن ۱ میلی‌لیتر  $H_2O_2$  ۱٪، ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۱٪ و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره آنزیم استخراجی اضافه شد. فعالیت این آنزیم در طی یک دقیقه با اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت که همراه با افزایش جذب بود. ضریب مولی ویژه تراگایاکول ۲۶/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر می‌باشد.

### نتایج

نتایج کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان مالون‌دی‌آلدئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده‌است. با توجه به این جدول‌ها مشاهده شد که تأثیر کاربرد میکوریزا و همچنین تیمار اشعه فرابنفش بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، از طرفی تأثیر متقابل کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح ۱٪ به‌صورت معنی‌دار بود.

با توجه به شکل‌های ۱ و ۲ مشخص شد که میزان مالون‌دی‌آلدئید تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته‌است. میزان این افزایش در اندام هوایی نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *G. etunicatum* و *G. versiforme* در مقایسه با نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۲۴/۰۸٪، ۱۸/۹۷٪ و ۱۶/۱۳٪ و در ریشه نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *G. etunicatum* و *G. versiforme* در مقایسه با نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۱۵/۱۹٪، ۱۰/۵۳٪ و ۱۱/۴۷٪ بوده‌است. البته افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در نمونه‌های تحت تابش UV-B در مقایسه با نمونه‌های شاهد در سطح آماری ۵٪ معنی‌دار بود (شکل‌های ۱ و ۲). بررسی نتایج نشان داد که نمونه‌های میکوریزایی در مقایسه با نمونه‌های غیرمیکوریزایی محتوای مالون‌دی‌آلدئید پایین‌تری را در حضور UV-B نشان دادند.

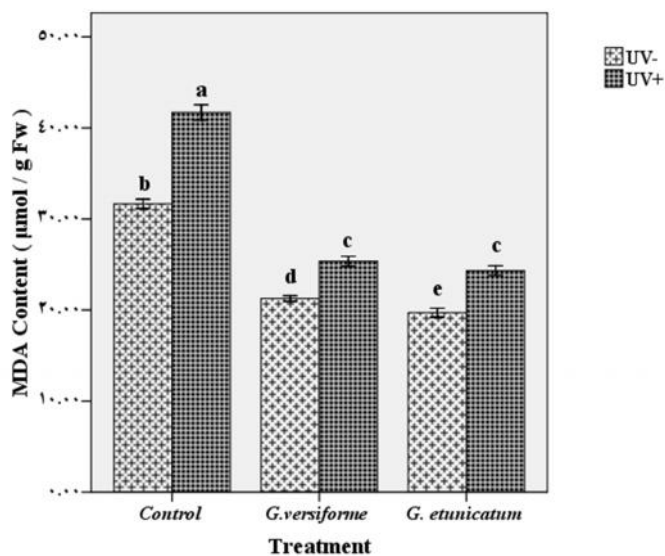
دو طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید از ضریب خاموشی  $155\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/g Fw}) = [\text{A}532 - \text{A}600/155] \times 1000$$

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیل از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۵) استفاده شد.

برای استخراج عصاره گیاهی به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز از روش Kang و Saltveit (۲۰۰۲) با اندکی تغییرات استفاده گردید. به این ترتیب که ۰/۵ گرم تر از بافت هر اندام ریشه و اندام هوایی به‌طور مجزا از کلیه تیمارها و تکرارها وزن و به داخل هاون سرد و داخل آب یخ انتقال داده شد. بافت در داخل هاون با ۳ میلی‌لیتر بافر شامل (بافر تریس HCl ۰/۰۵ مولار با pH ۷/۵  $MgCl_2$  ۳ میلی‌مولار و EDTA ۱ میلی‌مولار) ساییده شد. محلول استخراجی که برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز استفاده می‌شود، حاوی ۰/۲ میلی‌مولار آسکوربات نیز می‌باشد. سپس محلول همگن شده به‌مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفوژ با نیروی ۵۰۰۰g قرار گرفت. از محلول رویی حاصل به‌عنوان عصاره خام برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان استفاده شد.

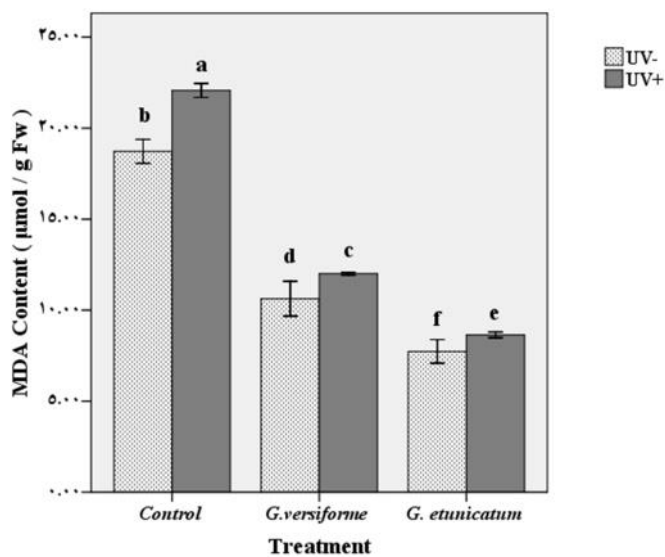
فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تمام تکرارها و تیمارها با استفاده از روش Asada (۱۹۹۲) با اندکی تغییرات مورد سنجش قرار گرفت. به این ترتیب که به ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ (شامل EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار)، ۰/۲ میلی‌لیتر  $H_2O_2$  ۱٪ و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیم استخراجی افزوده شد. فعالیت آنزیم از طریق اندازه‌گیری اکسید شدن آسکوربات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد که با کاهش جذب طی ۴۵ ثانیه همراه بود. ضریب مولی ویژه آسکوربات ۲/۸ میلی‌مولار بر سانتی‌متر می‌باشد.



شکل ۱- تغییرات میزان مالون دی آلدئید در اندام هوایی گیاه کتان (رقم شاهین دژ)

تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.



شکل ۲- تغییرات میزان مالون دی آلدئید در ریشه گیاه کتان (رقم شاهین دژ)

تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ را نشان می‌دهند.

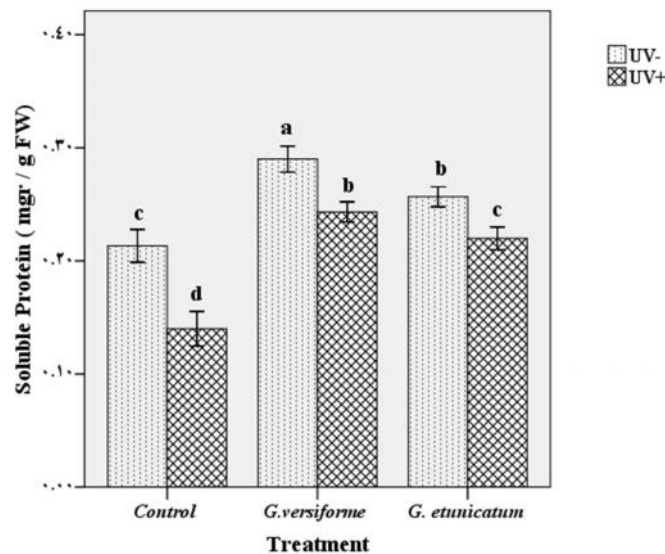
نتایج کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان پروتئین محلول

با توجه به جدول ۱ و ۲ مشاهده شد که تأثیر کاربرد میکوریزا و همچنین تیمار اشعه فرابنفش بر میزان پروتئین محلول در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، از طرفی تأثیر متقابل کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان پروتئین محلول در سطح ۵٪ به صورت معنی‌دار بود.

با توجه به شکل‌های ۳ و ۴ مشخص شد که میزان پروتئین محلول تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه کاهش یافته است. میزان این کاهش در اندام هوایی نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *Glomus etunicatum* و *Glomus versiforme* در مقایسه با نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۳۴/۶۲٪، ۱۷/۵۱٪ و ۱۸/۴۲٪ مشاهده شد و در ریشه نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *Glomus etunicatum* و

نتایج کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان قند محلول

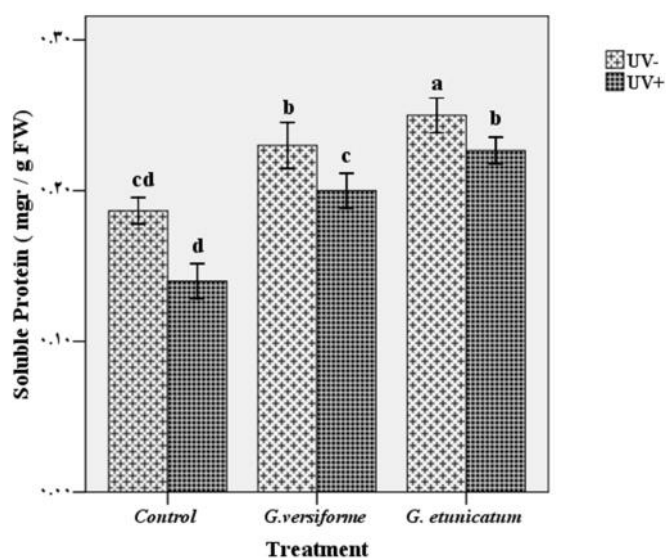
با توجه به جدول ۱ و ۲ مشاهده شد که تأثیر کاربرد میکوریزا و همچنین تیمار اشعه فرابنفش بر میزان قند محلول در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده است، از طرفی تأثیر متقابل کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان قند محلول در سطح ۱٪ به صورت معنی‌دار بود.



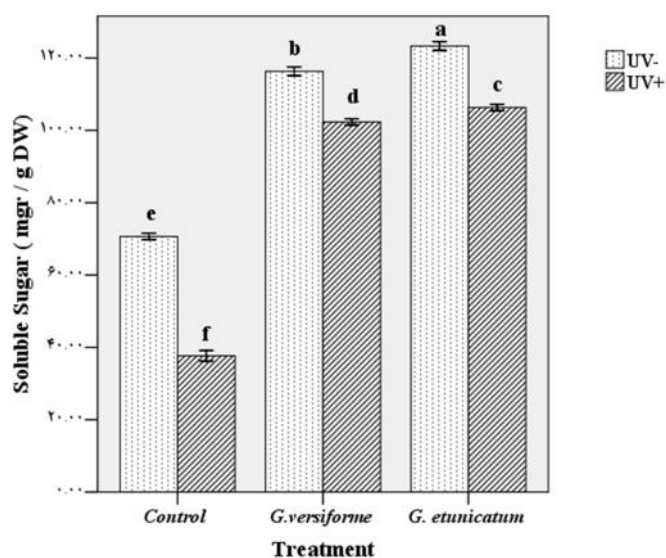
شکل ۳- تغییرات میزان پروتئین محلول در اندام هوایی گیاه کتان (رقم شاهین‌دژ)

تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریزا

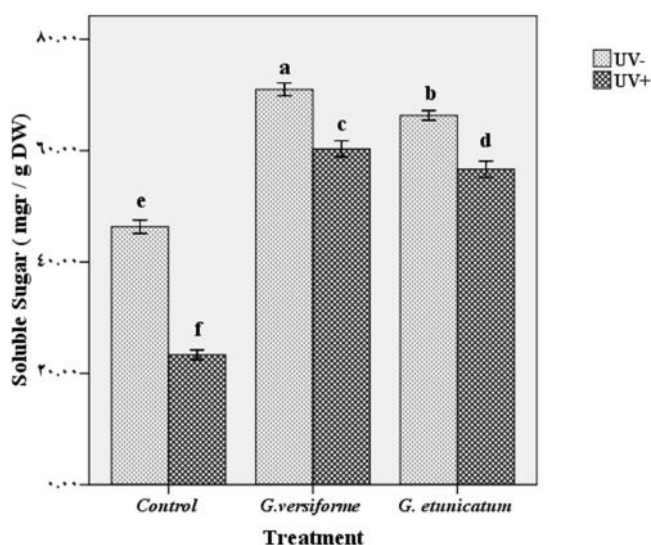
مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.



شکل ۴- تغییرات میزان پروتئین محلول در ریشه گیاه کتان (رقم شاهین دژ) تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.



شکل ۵- تغییرات میزان قند محلول در اندام هوایی گیاه کتان (رقم شاهین دژ) تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیر مشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.



شکل ۶- تغییرات میزان قند محلول در ریشه گیاه کتان (رقم شاهین دژ) تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیر مشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.

میکوریزا و همچنین تیمار اشعه فرابنفش بر محتوای کلروفیل a و b در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، از طرفی تأثیر متقابل کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر کلروفیل a و b در سطح ۱٪ به صورت معنی‌دار بود.

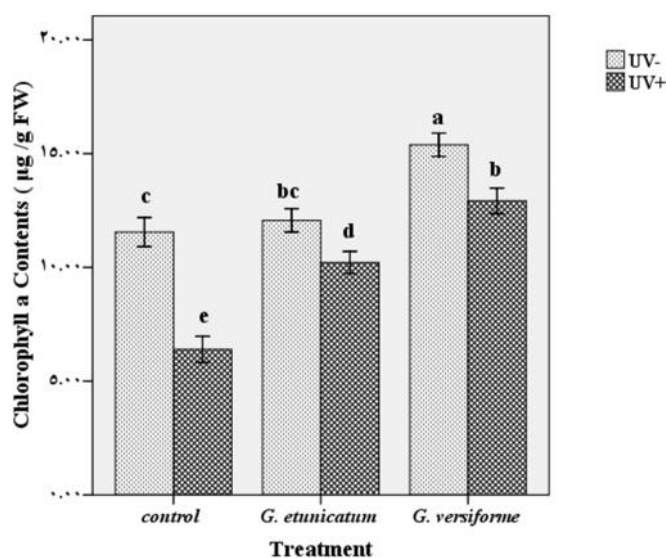
آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل a و b تحت تأثیر اشعه UV-B کاهش یافته است. درصد کاهش کلروفیل a در نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *G. versiforme* و *G. etunicatum* در مقایسه با نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۴۴/۶۴، ۱۵/۴۱ و ۱۵/۹۸ درصد (شکل ۷) و کاهش کلروفیل b در نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *G. etunicatum* و *G. versiforme* در مقایسه با نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۴۳/۱۸٪، ۱۶/۷۴٪ و ۲۰/۷۵٪ (شکل ۸) محاسبه شد. البته کاهش کلروفیل a و کلروفیل b در نمونه‌های تحت تابش UV-B در مقایسه با نمونه‌های شاهد در سطح آماری ۵٪ معنی‌دار بود (شکل‌های ۷ و ۸). بررسی نتایج نشان داد که میزان کلروفیل a و b در نمونه‌های میکوریزی بیشتر از نمونه‌های غیرمیکوریزی بود.

آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان قند محلول تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه کاهش یافته است. میزان این کاهش در اندام هوایی نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *Glomus versiforme* و *Glomus etunicatum* در مقایسه با نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۳۹/۶۹٪، ۲۲/۰۹٪ و ۱۵/۵۶٪ مشاهده شد و در ریشه نمونه‌های شاهد، همزیست با قارچ *Glomus etunicatum* و *Glomus versiforme* در مقایسه با نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۴۹/۰۶٪، ۱۳/۱۳٪ و ۱۸/۸٪ مشاهده شد (شکل‌های ۵ و ۶).

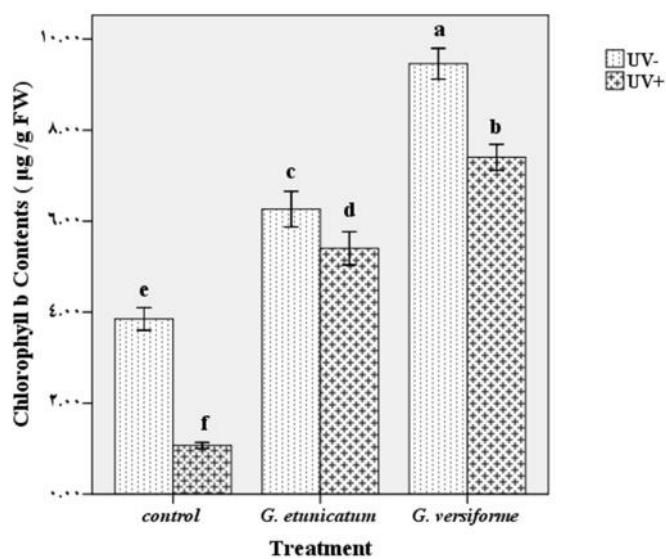
کاهش میزان قند محلول در ریشه و اندام هوایی در نمونه‌های تحت تابش UV-B در مقایسه با نمونه‌های شاهد در سطح آماری ۵٪ به صورت معنی‌دار بود (شکل‌های ۵ و ۶). بررسی نتایج نشان داد که نمونه‌های میکوریزی دارای محتوای قند محلول بالاتری نسبت به نمونه‌های غیرمیکوریزی بودند.

نتایج کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر محتوای کلروفیل a و b با توجه به جدول ۱ مشاهده شد که تأثیر کاربرد





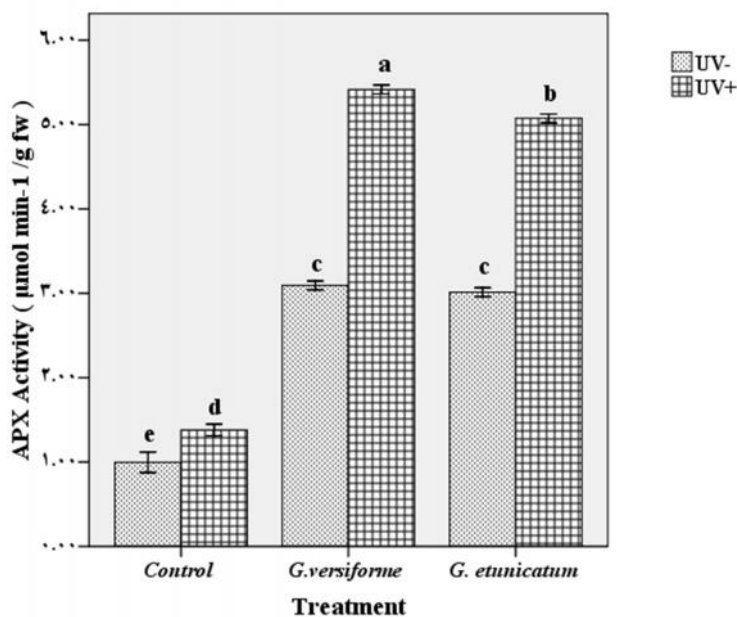
شکل ۷- تغییرات میزان کلروفیل a در گیاه کتان (رقم شاهین دژ) تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.



شکل ۸- تغییرات میزان کلروفیل b در گیاه کتان (رقم شاهین دژ) تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.

نتایج کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز با توجه به جدول ۱ و ۲ مشاهده شد که تأثیر کاربرد میکوریزا و همچنین تیمار اشعه فرابنفش بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، از طرفی تأثیر متقابل کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان فعالیت این دو آنزیم پاداکساینده در سطح ۱٪ به صورت معنی‌دار بود. آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته‌است. میزان این افزایش در اندام هوایی نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *Glomus*

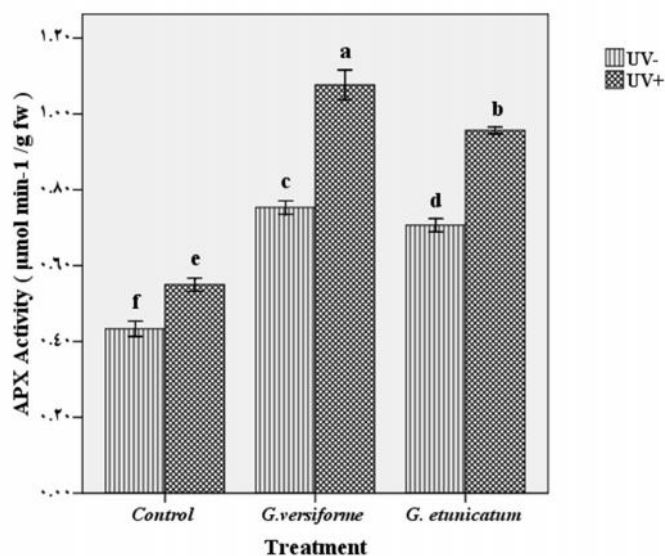
نتایج کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز با توجه به جدول ۱ و ۲ مشاهده شد که تأثیر کاربرد میکوریزا و همچنین تیمار اشعه فرابنفش بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، از طرفی تأثیر متقابل کاربرد میکوریزا و اشعه فرابنفش بر میزان فعالیت این دو آنزیم پاداکساینده در سطح ۱٪ به صورت معنی‌دار بود. آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته‌است. میزان این افزایش در اندام هوایی نمونه‌های فاقد میکوریزا، همزیست با قارچ *Glomus*



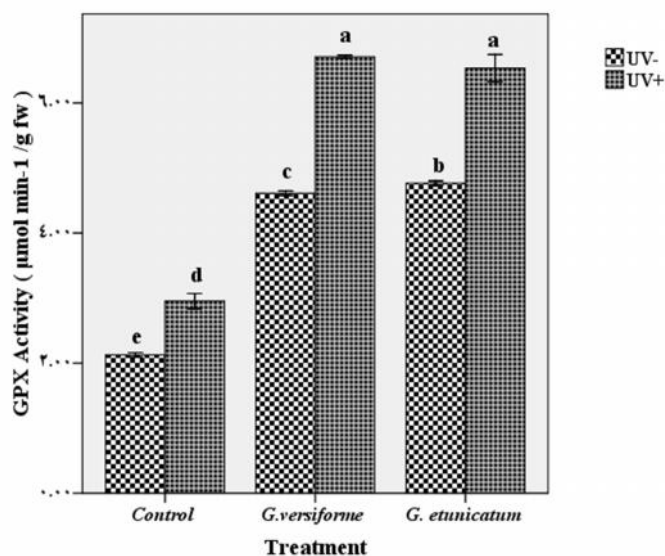
شکل ۹- تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در اندام هوایی گیاه کتان (رقم شاهین‌دژ)

تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریزا

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.



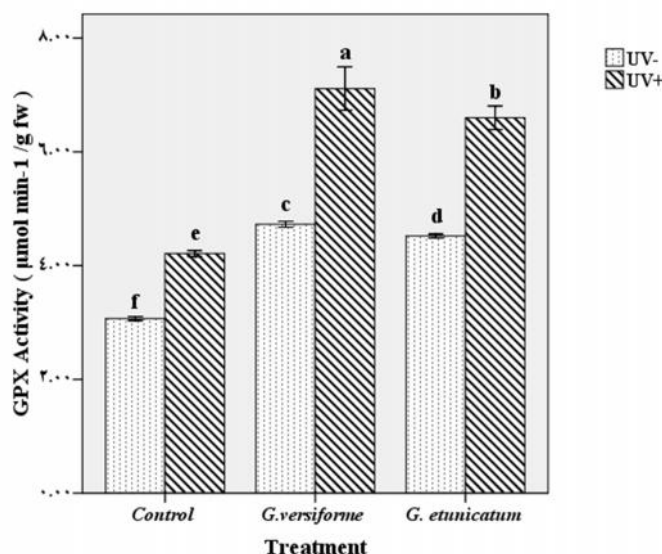
شکل ۱۰- تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در ریشه گیاه کتان (رقم شاهین دژ) تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیر مشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.



شکل ۱۱- تغییرات فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) در اندام هوایی گیاه کتان (رقم شاهین دژ) تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیر مشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.

نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۰.۸/۲۷٪، ۴۷/۳۳٪ و ۵۱/۳۱٪ مشاهده شد (شکل‌های ۱۱ و ۱۲). افزایش میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ریشه و اندام هوایی در نمونه‌های تحت تابش UV-B در مقایسه با نمونه‌های شاهد در سطح آماری ۵٪ به صورت معنی‌دار بود (شکل‌های ۱۱ و ۱۲). بررسی نتایج نشان داد که فعالیت این آنزیم در نمونه‌های میکوریزایی بیشتر از گیاهان غیر میکوریزایی بود.

آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته است. میزان این افزایش در اندام هوایی نمونه‌های فاقد میکوریز، همزیست با قارچ *Glomus etunicatum* و *Glomus versiforme* در مقایسه با نمونه‌های فاقد پرتو به ترتیب ۴۷/۲۴٪، ۳۰/۳۱٪ و ۰۶/۲۷٪ مشاهده شد و در ریشه نمونه‌های شاهد، همزیست با قارچ *Glomus etunicatum* و *Glomus versiforme* در مقایسه با



شکل ۱۲- تغییرات فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) در ریشه گیاه کتان (رقم شاهین‌دژ) تحت تابش UV-B در نمونه‌های شاهد و همزیست با قارچ‌های میکوریز مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیر مشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهند.

پراکسیداسیون لیپیدها منجر به تشکیل MDA می‌شود که این ترکیب به عنوان یک شاخص بیوشیمیایی برای تعیین آسیب‌های وارده به غشاء توسط رادیکال‌های آزاد می‌باشد. این ترکیب در نتیجه پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع به‌ویژه لینولئیک اسید تولید می‌شود (Smirnoff, 1995). پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را می‌توان به عنوان شاخص آسیب اکسیداتیو در نظر گرفت و اغلب از آن به عنوان شاخصی برای تعیین میزان آسیب وارده به غشاء تحت تنش استفاده می‌شود (Nasr Esfahani, 2012).

## بحث

با توجه به شکل‌های ۱ و ۲ مشخص شد که میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) تحت تأثیر اشعه UV-B در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته است که در تمام تیمارها این افزایش به صورت معنی‌دار بود.

مطالعات اخیر نشان داده‌است که اشعه UV سبب تغییراتی در غشای سلولی می‌شود، این تغییرات می‌تواند شامل افزایش میزان MDA، کاهش مونوگالاکتوزیل دی‌آسیل گلیسرول و همچنین افزایش اتیلن باشد.

بررسی کاربرد میکوریز بر صفات ...

۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی صفات در اندام هوایی گیاه کتان تلقیح شده با میکوریزا

در شرایط تنش اشعه فرابنفش

پروتئین محلول mgr/g FW	قند محلول mgr/g DW	مالون دی آلدئید μmol / g FW	آنزیم گایاکول پراکسیداز μmol min <sup>-1</sup> /g FW	آنزیم آسکوربات پراکسیداز μmol min <sup>-1</sup> /g FW	کلروفیل b μg/g FW	فیل a μg/g
۰/۰۱	۱/۰۵	۵/۲۷	۰/۰۰	۰/۰۲	۳/۱۵	۱/۶
۰/۰۴ **	۱۴۲۰/۵۵ **	۵۵۸/۶۷ **	۴۹/۰۵ **	۱۷/۴۱ **	۶۶/۱۸ **	۱۷۳/۲
۰/۰۳ **	۵۶۳/۶۸ **	۱۱۴/۷۵ **	۵۵/۸۲ **	۱۷/۳۱ **	۴۶/۷۳ **	۱۱۷/۴
۰/۰۱ *	۳۹۷/۰۵ **	۳۵/۰۵ **	۰/۹۵ **	۰/۷۹ **	۶/۱۰ **	۵/۸۳
۲۵	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵	۲۲	۲۲
۹/۰۹	۳/۰۰	۴/۹۲	۰/۸۶	۵/۲۶	۱۲/۳۳	۶/۱

ت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می باشد.

۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی صفات در ریشه گیاه کتان تلقیح شده با میکوریزا

در شرایط تنش اشعه فرابنفش

پروتئین محلول mgr/g FW	قند محلول mgr/g DW	مالون دی آلدئید μmol/g FW	آنزیم گایاکول پراکسیداز μmol min <sup>-1</sup> /g FW	آنزیم آسکوربات پراکسیداز μmol min <sup>-1</sup> /g FW	جه ادی
۰/۰۰	۰/۹۴	۳/۸۶	۰/۰۲	۰/۰۴	۲
۰/۰۲ **	۱۰۴۳/۱۶ **	۴۱۵/۳۵ **	۵۲/۱۲ **	۱۸/۷۳ **	۲
۰/۰۱ **	۳۸۵/۹۲ **	۸۸/۴۱ **	۵۷/۷۹ **	۱۸/۵۶ **	۱
۰/۰۰ *	۳۵۲/۱۱ **	۳۰/۱۹ **	۱/۱۴ **	۰/۸۶ **	۲
۲۳	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳	۱۰
۸/۵۴	۳/۲۸	۴/۳۶	۱/۰۶	۶/۱۳	

ت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می باشد.

کمپلکس ATP آاز و پروتئین 33KD کمپلکس شکست آب از مهمترین پروتئین‌هایی هستند که تحت تأثیر اشعه UV تخریب می‌شوند (An et al., 2000).

در گیاهانی مثل کدو، سویا، نخود و ذرت کاهش محتوای پروتئینی برگ به دلیل افزایش رادیکال‌های اکسیژن فعال تحت تأثیر اشعه UV گزارش شده است (Gao et al., 2004؛ Kovacs & Keresztes, 2002) و به علاوه اینکه کاهش در محتوای پروتئین محلول در برگ‌های گیاه سیب‌زمینی تحت تنش UV-B نشان داده شده است (Santhos et al., 2004).

بررسی نتایج نشان داد که نمونه‌های میکوریزایی دارای محتوای پروتئین محلول بالاتری نسبت به نمونه‌های شاهد غیر میکوریزایی بودند (شکل‌های ۳ و ۴). Subramanian و Chares (۱۹۹۸) گزارش کردند که در شرایط تنش، گیاهان میکوریزایی محتوای پروتئین بیشتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی دارند. همزیستی با این قارچ‌ها به گیاه میزبان کمک می‌کند تا غلظت بالایی از پروتئین را در ریشه و اندام هوایی حفظ کند. Rahmatzadeh و Khara (۲۰۰۸) بیان کردند که در شرایط تنش UV-C گیاهان گندم میکوریزایی، محتوای پروتئین بیشتری نسبت به گیاهان گندم غیرمیکوریزایی دارند که با نتایج تحقیق حاصل همخوانی دارد.

آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان قند محلول تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه گیاه کتان کاهش یافته است که این کاهش به صورت معنی‌دار است (شکل‌های ۵ و ۶). البته کاهش میزان فتوسنتز می‌تواند به علت کاهش قند باشد، زیرا اشعه UV با تأثیر بر PSII، غشاء تیلاکوئیدی، آنزیم روبیسکو و برخی از آنزیم‌های چرخه کلورین سنتز قند را کاهش می‌دهد (Lingakumar et al., 1999). علاوه بر این، گزارش شده که تنش اکسیداتیو القاء شده توسط اشعه UV منجر به تخریب ماکرومولکول‌های حیاتی مثل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کربوهیدرات‌ها می‌گردد (Costa et al., 2002). در برگ‌های ذرت تحت تأثیر اشعه UV-B کاهش در مقدار گلوکز دیده شده، در حالیکه

نتایج حاصل از بررسی تأثیر اشعه UV بر روی دانه‌رست Cassia (Agrawal, 2007)، لپه آفتابگردان (Costa et al., 2002) و دانه‌رست‌های بادام‌زمینی (Ke- (Tang et al., 2010) نشان داد که میزان پراکسیداسیون لیپیدها و تشکیل مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافته است. همچنین نتایج حاصل از مطالعات Wang و همکاران (۲۰۰۹) بر روی *Chlamydomonas* نشان داد که تنش اکسایشی ایجاد شده توسط اشعه UV میزان MDA را افزایش داده است. با توجه به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که میزان ROSها در گیاه کتان تحت تأثیر اشعه UV افزایش یافته است و سبب آسیب‌های وارده به غشای زیستی شده است.

بررسی نتایج در این مطالعه نشان داد که گیاهان میکوریزایی در مقایسه با گیاهان شاهد غیرمیکوریزایی محتوای MDA پایین‌تری دارند (شکل‌های ۱ و ۲). کاهش سطح MDA تحت تنش UV در این گیاهان احتمالاً مربوط به افزایش فعالیت انتقال الکترون در فتوسیستم II و همچنین بالاتر بودن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت تأثیر قارچ‌های میکوریز می‌باشد. Rahmatzadeh و Khara (۲۰۰۸) نشان دادند که محتوای MDA در گیاهان گندم میکوریزایی تحت استرس UV-C پایین‌تر از نمونه‌های شاهد بدون میکوریزا بوده است.

با توجه به شکل‌های ۳ و ۴ مشخص شد که میزان پروتئین محلول تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه گیاه کتان کاهش یافته است که در تمام تیمارها این کاهش به صورت معنی‌دار بود.

پروتئین‌هایی که دارای آمینو اسیدهای حلقوی فراوان هستند تحت تأثیر اشعه UV به شدت آسیب دیده و تخریب می‌شوند (Kovacs & Keresztes, 2002). تریپتوفان یکی از آمینو اسیدهای حلقوی است که جذب بالایی در ناحیه ماوراءبنفش دارد (Greenberg et al., 1996). بسیاری از پروتئین‌ها علاوه بر اینکه تحت تأثیر UV تخریب می‌شوند مسیر سنتز آنها نیز مختل می‌شود و سنتزشان کاهش می‌یابد (Costa et al., 2002). پروتئین‌های D1 و D2، روبیسکو،

آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل a و کلروفیل b تحت تأثیر اشعه UV-B کاهش یافته است که در تمام تیمارها میزان این کاهش معنی‌دار بود (شکل‌های ۷ و ۸). کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی یکی از پیامدهای افزایش UV می‌باشد. البته کاهش میزان کلروفیل به دلیل ممانعت از سنتز آنها یا تخریب پیش‌سازهای این رنگیزه‌ها اتفاق می‌افتد. همچنین گزارش شده‌است که UV-B باعث اکسیژناسیون نوری غیرآنزیمی کلروفیل می‌گردد (Agrawal, 1992). علاوه بر این، افزایش اتیلن در اثر واکنش‌های پراکسیداسیون لیپید یکی دیگر از دلایل کاهش کلروفیل است، زیرا اتیلن موجب تخریب کلروفیل می‌شود (Zhang & Kirkham, 1996). مطالعات دیگر نشان داده‌اند که UV-B بر مقدار پروتئین‌های کلروپلاستی و نفوذپذیری غشای کلروپلاست و پروتئین‌های جمع‌کننده نور در مرکز واکنش فتوسنتز دو و رویسکو تأثیر می‌گذارد (Enteshari et al., 2005). در انگوره‌های تیمار شده با UV-C نشان داده شده که این گیاهان محتوای کلروفیل پایین‌تری را نسبت به انگوره‌های شاهد داشته‌اند. این ممکن است نتیجه کاهش محتویات کلروفیلی در عصاره‌ها باشد (Canthos et al., 2002). به‌علاوه، در مطالعات Rahmatzadeh و Khara (۲۰۰۸) نیز کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثر تابش UV-C گزارش شده‌است.

نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که تیمارهای میکوریزی دارای کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بودند (شکل‌های ۷ و ۸). البته بالا بودن سطح کلروفیل در نمونه‌های میکوریزی را می‌توان به بالا بودن جذب فسفر به‌عنوان یک حامل انرژی در طی فرایند فتوسنتز نسبت داد. Demir (۲۰۰۴) نشان داده که محتوای کلروفیل گیاهان فلفل همزیست با قارچ *G. inrradices* در مقایسه با گیاهان شاهد غیرمیکوریزی بالاتر بوده‌است.

آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر اشعه UV-B افزایش یافته است. در تمام تیمارها میزان این

محتوای ساکارز کاهش نیافته است (Barsig & Malz, 2000). در گیاه *Pisum sativum* تحت تیمار UV-B قندهای محلول ابتدا تجمع می‌یابند و بعد کاهش نشان می‌دهند (Kovacs & Keresztes, 2002). علاوه بر این، گزارشی مبنی بر کاهش مقدار قند در برگ‌های بعضی از ارقام گندم و ذرت تحت تیمار با UV-B نیز وجود دارد (Zu et al., 2003; Gao et al., 2004; Quaggiotti et al., 2004). Khakpour و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که مقدار قند محلول در گیاه کتان واریته TN-97-2 تحت تیمار UV-B کاهش یافته است.

بررسی نتایج نشان داد که محتوای قند در اندام هوایی بالاتر از ریشه بود (شکل‌های ۵ و ۶). به‌طوری که بالاتر بودن محتوای قند اندام هوایی نسبت به ریشه احتمالاً به دو دلیل است: ۱- برگ‌ها محل اصلی بیوسنتز کربوهیدرات‌ها می‌باشند؛ ۲- از آنجا که اثرات تنش بیشتر بر روی اندام هوایی است، از این رو قندهای انتقالی بیشتر به سمت اندام هوایی کشیده می‌شوند.

در این تحقیق مشاهده شد که گیاهان کتان میکوریزی محتوای قند محلول بالاتری را در اندام هوایی و ریشه در مقایسه با نمونه‌های فاقد قارچ دارا هستند (شکل‌های ۵ و ۶). قارچ همزیست مواد کربوهیدراتی عمدتاً به شکل ساکارز را از گیاه دریافت می‌کند و در عوض آب، مواد غذایی (عمدتاً فسفر) و فاکتورهای رشد را در اختیار گیاه قرار می‌دهد. فسفر نقش مهمی را در شکستن کربوهیدرات‌ها و سنتز پلی‌ساکاریدها ایفا می‌کند. فسفر همچنین بر روی پارامترهای فیزیولوژیک در گیاهان تأثیر دارد که یکی از این اثرات افزایش در میزان فتوسنتز است. مشخص شده است که فسفر نقش مهمی را در انتقال انرژی در طول فتوسنتز ایفا می‌کند (Demir, 2004).

Demir (۲۰۰۴) نشان داد که میزان قندهای فروکتوز، گلوکز، گلوکز، ساکارز و همچنین محتوای قند کل در گیاهان فلفل همزیست با قارچ *G. inrradices* به‌صورت معنی‌داری بالاتر از گیاهان شاهد غیر میکوریزی بوده‌است.

افزایش معنی دار بود (شکل های ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲). زمانی که گیاهان تحت تنش های محیطی قرار می گیرند، گونه های فعال اکسیژن متنوعی مانند رادیکال های آنیونی سوپراکسید  $O_2$ ، هیدروکسیل OH و پراکسید هیدروژن  $H_2O_2$  تولید می شود (Jung, 2004). بنابراین در گیاهان سازوکارهای دفاعی شامل سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی تکامل یافته است که آنها را در مقابل این پرتو محافظت می کند (Hollösy, 2002). سازوکارهای آنزیمی شامل آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، گلوکاتیون، ردوکتاز و غیره است (Mittler, 2002). در حفاظت غیر آنزیمی تولید آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی مانند آسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها و آلکالوئیدها افزایش می یابد (Landry et al., 1995). آنزیم گایاکول پراکسیداز یکی از مهمترین پراکسیدازها می باشد، که می توان آن را براساس عملکرد فیزیولوژیکی و تفاوت در توالی، از آسکوربات پراکسیداز تشخیص داد. آنزیم گایاکول پراکسیداز در تجزیه ایندول استیک اسید (IAA)، بیوسنتز لیگنین و محافظت در برابر اثرات زیان بار  $H_2O_2$  نقش مهمی دارد. آنزیم گایاکول پراکسیداز به طور عمده از ترکیب های آروماتیک همانند گایاکول و پیراگالول الکترون می گیرد (Gill & Tuteja, 2010). افزایش در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نشان می دهد که گیاهان در معرض اشعه فرابنفش از طریق فعال کردن سیستم دفاعی آنتی اکسیدان، سطح گونه های فعال اکسیژن را کنترل کرده و سلول را از آسیب های ناشی از آن محافظت می کنند و باعث حفظ و پایداری تمامیت غشای سلولی و دیگر ساختارهای زیر سلولی می شود (Santhos et al., 2004).

افزایش معنی دار بود (شکل های ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲). زمانی که گیاهان تحت تنش های محیطی قرار می گیرند، گونه های فعال اکسیژن متنوعی مانند رادیکال های آنیونی سوپراکسید  $O_2$ ، هیدروکسیل OH و پراکسید هیدروژن  $H_2O_2$  تولید می شود (Jung, 2004). بنابراین در گیاهان سازوکارهای دفاعی شامل سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی تکامل یافته است که آنها را در مقابل این پرتو محافظت می کند (Hollösy, 2002). سازوکارهای آنزیمی شامل آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، گلوکاتیون، ردوکتاز و غیره است (Mittler, 2002). در حفاظت غیر آنزیمی تولید آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی مانند آسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها و آلکالوئیدها افزایش می یابد (Landry et al., 1995). آنزیم گایاکول پراکسیداز یکی از مهمترین پراکسیدازها می باشد، که می توان آن را براساس عملکرد فیزیولوژیکی و تفاوت در توالی، از آسکوربات پراکسیداز تشخیص داد. آنزیم گایاکول پراکسیداز در تجزیه ایندول استیک اسید (IAA)، بیوسنتز لیگنین و محافظت در برابر اثرات زیان بار  $H_2O_2$  نقش مهمی دارد. آنزیم گایاکول پراکسیداز به طور عمده از ترکیب های آروماتیک همانند گایاکول و پیراگالول الکترون می گیرد (Gill & Tuteja, 2010). افزایش در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نشان می دهد که گیاهان در معرض اشعه فرابنفش از طریق فعال کردن سیستم دفاعی آنتی اکسیدان، سطح گونه های فعال اکسیژن را کنترل کرده و سلول را از آسیب های ناشی از آن محافظت می کنند و باعث حفظ و پایداری تمامیت غشای سلولی و دیگر ساختارهای زیر سلولی می شود (Santhos et al., 2004).

افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اثر تابش UV در کلزا (Somner et al., 1994) و دانه رست های بادام زمینی (Ke-Tang et al., 2010) مشاهده شده است. بررسی تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی در برگ های گیاهان سیب زمینی رشد کرده در معرض پرتو UV-B نشان داد که قرارگیری در معرض این پرتو موجب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز شده است (Costa et al., 2002). افزایش فعالیت این آنزیم ها نشان می دهد که واکنش دفاعی گیاه در برابر اشعه UV با فعال شدن سیستم دفاعی آنتی اکسیدان برانگیخته می شود که برای کنترل میزان سوپراکسید و آب اکسیژنه درونی مورد نیاز بوده و باعث حفاظت سلول ها در برابر اثرات زیان بار گونه های فعال اکسیژن می شود (Santhos et al., 2004). آنالیز داده ها نشان داد که در نمونه های میکوریزی نسبت به نمونه های غیر میکوریزی، فعالیت آنزیم های پاداکسایشی آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز بالاتر است (شکل های ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲). البته سازوکار افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه توسط قارچ های میکوریزی هنوز مشخص نیست، اما مدارکی وجود دارد که بیان می کند افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز به دلیل افزایش جذب فسفر است. مطالعات Rahmatzadeh و Khara (۲۰۰۸) نشان داده که تحت تنش UV-C، فعالیت آنزیم های پاداکسایشی آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در گیاهان گندم میکوریزی بیشتر از گیاهان گندم غیر میکوریزی بوده است.

به عنوان نتیجه گیری کلی می توان بیان کرد همانگونه که این مطالعه نشان می دهد گیاه کتان از لحاظ ساختاری و فیزیولوژیکی تغییراتی را تحت تأثیر اشعه UV-B متحمل می شود. تغییرات ایجاد شده مانند افزایش در میزان فعالیت آنزیم های پاداکساینده می تواند راهکار دفاعی بسیار مهمی برای کاهش میزان اثرات تخریبی ناشی از اشعه UV-B در گیاه کتان باشد که میزان این افزایش در گیاهان همزیست با

با توجه به شکل های ۱۱ و ۱۲ مشخص شد که میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر اشعه UV در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته است که در تمام تیمارها این افزایش معنی دار بود. البته افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر تابش UV قبلاً در نخود (Katerova, 2009) و بادام زمینی (Ke-Tang et al., 2010) مشاهده شده است. بررسی تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی در برگ های گیاهان



- system in sunflower cotyledons. *Plant Science*, 162(6): 939-945.
- Demir, S., 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*, 28: 85-90.
  - Enteshari, Sh., Kalantari, Kh., Ghorbanli, M. and Torkzadeh, M., 2005. The effect of different bands of ultraviolet radiation on pigments content in *Glycine max* L. *Iranian Journal of Plant Biology*, 18(1): 77-84.
  - Esmailpour, B., Jalilvand, P. and Hadian, J., 2013. Effects of drought stress and arbuscular mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of savory (*Satureja hortensis* L.). *Journal of Agroecology*, 5(2): 169-177.
  - Fales, F., 1979. The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 113-124.
  - Farokh, P., Mahmoodzadeh, H. and Satari, T.N., 2010. Response of seed germination of safflower to UV-B radiation. *Research Journal of Environment Science*, 4: 70-74.
  - Gao, W., Zhena, Y., Slusser, J.R. and Gordon, M., 2003. Impact of enhanced ultraviolet-B irradiance on cotton growth, development, yield, and qualities under field conditions. *Agricultural and Forest Meteorology*, 120(5): 241-248.
  - Gao, W., Zheng, Y., Slusser, J.R., Heisler, G.M., Grant, R.H., Xu, J. and He, D., 2004. Effects of supplementary ultraviolet-B irradiance on maize yield and qualities: a field experiment. *Photochemistry and Photobiology*, 80: 127-131.
  - Ghahreman, A., 1996. *Plant Systematics*. Tehran University Press, Tehran, 856p.
  - Gill, S.S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12): 909-930.
  - Giordano, C.V., Mori, T., Sala, O.E., Scopel, A.L., Caldwell, M.M. and Ballare, C.L., 2003. Functional acclimation to solar UV-B radiation in *Gunnera magellanica*, a native plant species of southernmost Patagonia. *Plant, Cell and Environment*, 26(12): 2027-2036.
  - Greenberg, B.M., Wilson, M.I., Gerhardt, K.E. and Wilson, K.E., 1996. Morphological and physiological responses of *Brassica napus* to ultraviolet radiation: photomodification of ribulose 1-5-bis phosphate Carboxylase/oxygenase and potential acclimation processes. *Plant Physiology*, 148: 78-85.
  - Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolate chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry
- قارچ‌های میکوریز بیشتر از گیاهان غیرهمزیست بود. همچنین کاهش در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان قند محلول، میزان پروتئین محلول، کاهش بیوماس و کاهش رشد می‌تواند از اثرات مخرب اشعه UV-B بر روی این گیاه باشد که میزان این کاهش‌ها در گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز کمتر از گیاهان شاهد بود. به‌طور کلی همزیستی گیاه با قارچ‌های میکوریز سبب کاهش اثرات مضر این پرتو می‌شود.
- ### منابع مورد استفاده
- Agrawal, S.B., 1992. Effects of Supplemental UV-B radiation on photosynthetic pigment, protein and content in green algae. *Environmental and Experimental Botany*, 32(2): 137-143.
  - Agrawal, S.B., 2007. Increased antioxidant activity in Cassia seedlings under UV-B radiation. *Biologia Plantarum*, 51(1): 157-160.
  - Al-Karaki, G.N., Hammad, R. and Rusan, M., 2001. Response of two tomato cultivars differing in salt tolerance to inoculation with mycorrhizal fungi under salt stress. *Mycorrhiza*, 11: 43-47.
  - An, L., Feng, H., Tang, X. and Wang, X., 2000. Changes of microsomal membrane properties in spring wheat leaves (*Triticum aestivum* L.) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Photochemistry and Photobiology*, 57: 60-65.
  - Asada, K., 1992. Ascorbate peroxidase and hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Journal of Plant Physiology*, 85: 235-241.
  - Barsig, M. and Malz, R., 2000. Fine structure, carbohydrates and photosynthetic pigment of sugar maize leaves under UV-B radiation. *Environmental and Experimental Botany*, 43: 121-130.
  - Bianciotto, O.A., Pinedo, L.B., San Roman, N.A., Blessio, A.Y. and Collantes, M.B., 2003. The effect of natural UV-B radiation on a perennial Salicornia salt-marsh in Bahia San Sebastian, Tierra del Fuego, Argentina: a 3-year field study. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 70: 177-185.
  - Canthos, E., Espin, J.C. and Tomas-Barberan, F.A., 2002. Postharvest stilbene-enrichment of red and white table grape varieties using UV-C irradiation pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22): 6322-6329.
  - Costa, H., Gallego, S.M. and Tomaro, M.L., 2002. Effects of UV-B radiation on antioxidant defense

- and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591-592.
- Lingakumar, K., Amudha, P. and Kulandaivelu, G., 1999. Exclusion of solar UV-B (280-315 nm) radiation on vegetative growth and photosynthetic activities in *Vigna unguiculata* L. *Plant Science*, 34: 97-103.
  - Lowry, O.J., Rosebrough, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
  - Mahdavian, K., Ghorbanli, M., Kalantari, Kh.M. and Mohamadi, Gh., 2006. The effect of different bands of ultraviolet radiation on morphological and physiological parameters in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, 19(1): 43-53.
  - Milchunas, D.G., King, J.Y., Mosier, A.R., Moore, J.C., Morgan, J.A., Quirk, M.H. and Slusser, J.R., 2004. UV radiation effects on plant growth and forage quality in a shortgrass steppe ecosystem. *Photochemistry and Photobiology*, 79(5): 404-410.
  - Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sciences*, 7: 405-410.
  - Mpoloka, S.W., 2008. Effects of prolonged UVB exposure in plants. *African Journal of Biotechnology*, 7: 4874-4883.
  - Nasr Esfahani, M., 2012. Effect of drought stress on growth and antioxidant system in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Iranian Journal of Plant Biology*, 5(15): 111-114.
  - Quaggiotti, S., Trentin, A.R., Yecchia, F.D. and Ghisi, R., 2004. Response of maize (*Zea mays* L.) nitrate reductase to UV-B radiation. *Plant Science*, 167(1): 107-116.
  - Rahmatzadeh, S. and Khara, J., 2008. Effect of UV-C on growth and some morphological and physiological factors of colonized wheat plants by three species of mycorrhizal fungi. *Iranian Journal of Biology*, 21(1): 52-63.
  - Rodriguez, R.J., Redman, R.S. and Henson, J.M., 2004. The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 9: 261-272.
  - Santhos, I., Fidalgo, F., Almeida Jose, M. and Salema, R., 2004. Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Science*, 167: 925-935.
  - Smirnoff, N., 1995. Antioxidant systems and plant response to the environment: 217-243. In: Smirnoff, N., (Ed.). *Environment and Plant Metabolism: of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysics*, 125: 850-857.
  - Helgason, T., Fitter, A.H. and Young, J.P.W., 1999. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising *Hyacinthoides non-scripta* (bluebell) in a semi natural woodland. *Molecular Ecology*, 8: 659-666.
  - Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., 1950. The Water-Culture Method for Growing Plants Without Soil. *College of Agriculture, University of California*, 39p.
  - Hooseini Sarghein, S., Carapetian, Z. and Khara, J., 2011. The effect of ultraviolet radiation on some physiological parameters of pepper. *Journal of the Plant Production*, 34(2): 27-40.
  - Hollosy, F., 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, 33: 179-197.
  - Jordan, B.R., 2002. Molecular response of plant cells to UV-B stress. *Functional Plant Biology*, 29: 909-916.
  - Jung, S., 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Science*, 166: 459-466.
  - Kang, H.M. and Saltveit, M.E., 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling (leaves and roots) and differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*, 115: 576-577.
  - Katerova, Z., 2009. Prolonged influence of short pulses ultraviolet-C radiation on young pea plant does not alter important antioxidant defense enzyme activities in young leaves. *Journal of Plant Physiology*, 35(3-4): 134-139.
  - Ke-Tang, J., Zhan, H. and Yang, W.D.H., 2010. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during uv-induced plant defense response in peanut seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 167: 95-102.
  - Khakpour, O., Khara, J., Kargar-Khorami, S. and Hassanzadeh, A., 2011. The effect of UV-B radiation on some growth parameters and sugar solution in flax. *National Conference on Climate Change and its Impact on Agriculture and the Environment, Urmia, Agriculture and Natural Resources Research Center of West Azarbaijan, Urmia*, 28 July.
  - Kovacs, E. and Keresztes, A., 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. *Micron*, 33: 199-210.
  - Landry, L., Chapple, C. and Last, R., 1995. *Arabidopsis* mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant Physiology*, 109: 1159-1166.
  - Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R., 1985. Determination of total carotenoids and chlorophylls a

- Wang, Q.F., Hou, Y.H., Miao, J.I. and Li, G.Y., 2009. Effect of UV-B radiation on the growth and antioxidant enzymes of antarctic sea ice microalgae *Chlamydomonas* sp. ICE-L. *Journal of Acta Physiology Plant*, 31(6): 1097-1102.
- Zhang, J. and Kirkham, M.B., 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *Journal of New Phytology*, 132: 361-370.
- Zhu, Y.G. and Miller, R.M., 2003. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends in plant science*, 8(9): 407-509.
- Zu, Y., Li, Y., Chen, J. and Chen, H., 2004. Intraspecific responses in grain quality of 10 wheat cultivars to enhanced UV-B radiation under field conditions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 74(2-3): 95-100.
- Flexibility and Acclimation. Bios scientific Publishers, Oxford, 288p.
- Somner, A., Neiman, E., Steffens, J.C., Mayer, A.M. and Harel, E., 1994. Import targeting and processing of a plant polyphenol oxidase. *Journal of Plant Physiology*, 105: 1301-1311.
- Subramanian, K.S. and Chares, C., 1998. Arbuscular mycorrhizae and nitrogen assimilation in maize after drought and recovery. *Physiologia Plantarum*, 102: 285-296.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smidth, B.N., 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121: 453-461.

## Application effects of mycorrhiza on physiological traits of flax (*Linum usitatissimum* L.) under UV stress

S. Shiati<sup>1\*</sup>, J. Khara<sup>2</sup> and A. Hassanzade Ghort Tapeh<sup>3</sup>

1\*- Corresponding author, M.Sc. Graduate, Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran  
E-mail: sharare\_shiati@yahoo.com

2- Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

3- West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Urmia, Iran

Received: September 2015

Revised: January 2016

Accepted: January 2016

### Abstract

Among the different types of mycorrhizas, arbuscular mycorrhiza is the most common peaceful type of symbiosis between the land microorganisms and plants with a great economic and ecological importance. On the other hand, UV irradiation is known to cause oxidative damage to plants by triggering an increased level of production of reactive oxygen species (ROS). The objective of the present investigation was to study the effects of mycorrhiza on physiological traits of flax (*Linum usitatissimum* L.) under UV stress. The flax plants were grown in two mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) groups with a diurnal regime of 16 hour light and 8 hour dark at 18-29°C. Mycorrhizal plants were colonized by inoculum obtained from *Glomus versiforme* and *Glomus etunicatum* culture. They were divided after 21 days of growth. One set of pots served as the control, and the other set was treated with UV radiation (312nm) for 1 hour each day for 14 days. The study was conducted in a completely randomized design including three mycorrhizal treatments (with *G. etunicatum*, *G.versiforme* and without mycorrhiza), and two UV treatments (with UV and non-UV) in three replications. Results showed that chlorophyll a and chlorophyll b content was significantly reduced in treated plants in comparison with the control. This decrease was less obvious in mycorrhizal plants as compared with non-mycorrhizal samples; however, antioxidant enzymes activity increased when plants were irradiated with UV light. This increase was more dramatic in mycorrhizal plants samples than non-mycorrhizal ones. In addition, results showed that malondialdehyde content was increased when plants were irradiated with UV light. This increase was more dramatic in non-mycorrhizal samples than mycorrhizal ones. According to the obtained results, it is concluded that UV-B stress has serious effects on Shahin-dezh cultivar and mycorrhizal symbiosis with the two fungi species can somewhat reduce this stress. Furthermore, colonization with *Glomus versiforme* resulted in better ameliorative effects on plants in comparison with *Glomus etunicatum*.

**Keywords:** Arbuscular Mycorrhiza, *Glomus*, malondialdehyde content, soluble sugars content.