Archive of SID

بررسی سمیت مس بر رشد و تحمل گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم های سان-۳۳

حمید نورانی آزاد *[۱]، داریوش چوبینه [۲]، محمدرضاحاجی باقری [۳]، فرشید کفیل زاده [۴]

۱. مربی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۲. مربی زیست شناسی سلولی، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۳. کارشناس ارشد باغبانی، دانشگاه آزاداسلامی، استهبان، ایران
۴. استادیار زیست شناسی دریا، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

محل انجام تحقیق : گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی جهرم، ایران
***مسؤول مکاتبات:** حمید نورانی آزاد، جهرم، میدان شهید چمران، بلوار رضوان، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی، پست الکترونیکی: noorani@jia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۲۴ تاریخ پذیرش:۸۹/۴/۱۳

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد۲ - شماره۲
تابستان ۱۳۸۸

چکیده

مس که یکی از عناصر کم‌مصرف ضروری برای رشد و نمو طبیعی گیاهان محسوب می‌شود، یکی از فلزات سنگین است که مقدار زیاد آن در اکثر گیاهان ایجاد مسمومیت می‌کند. در این تحقیق، اثرات سمیت مس بر رشد و تحمل گیاه آفتابگردان رقم‌های سان ۳۳ بررسی شد. آزمایش در شرایط هیدروپونیک انجام شد. تیمارهای صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس با چهار تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی به مدت ۲۱ روز بر روی گیاهان اعمال گردید. تحت تنش سمیت مس، مقادیر وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه، کلروفیل‌های a و b و کارتنوئیدهای برگ، قندهای محلول و نشاسته در ریشه و اندام‌های هوایی، میزان مالون دی آلدهید و پراکسید از برگ‌ها و تجمع مس در ریشه و اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت مس، وزن خشک ریشه نسبت به شاهد، کاهش معنی‌دار یافت. کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد، معنی‌دار بود. کلروفیل a و b برگ‌ها به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار نسبت به شاهد، کاهش معنی‌دار داشت. کاهش کارتنوئید برگ‌ها در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود. قندهای محلول ریشه و اندام‌های هوایی نسبت به شاهد، افزایش معنی‌داری یافت. کاهش نشاسته در اندام‌های هوایی، متناسب با شدت تنش در محیط رشد، معنی‌دار بود. در حالی که کاهش آن در ریشه تنها در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود. میزان مس در ریشه و اندام‌های هوایی با افزایش غلظت آن در محیط، افزایش معنی‌دار یافت و تجمع آن در ریشه، بیشتر از اندام‌های هوایی بود. افزایش مالون دی آلدهید برگ‌ها، همراه با افزایش مس، معنی‌دار بود. افزایش فعالیت آنزیم پراکسید از برگ‌ها همراه با شدت تنش در محیط رشد به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار، نسبت به شاهد معنی‌دار بود. انباشتگی مس در ریشه‌ها، فعال‌شدن دفاع ضد اکسیدانی و افزایش قندهای محلول در اندام‌های گیاه می‌تواند از ساز و کارهای تحمل به سمیت مس باشد.

واژه‌های کلیدی: تحمل سمیت مس، کلروفیل، پراکسیداز، آفتابگردان

مقدمه

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) نقش مهمی در تامین روغن نباتی موردنیاز کشور دارد. این گیاه به‌دلیل سازگاری وسیع و دارا بودن بیشترین مقدار روغن دانه (۴۰ تا ۵۰ درصد) به عنوان مهم‌ترین

www.SID.ir

Archive of SID

محصول دانه روغنی مطرح است و کیفیت روغن دانه آن نیز بالاست (۱). فلزات سنگین، از جمله منابع آلاینده خاک هستند که در صورت تجمع در خاک و جذب به وسیله گیاه، به زنجیره غذایی وارد می‌شوند و مسمومیت‌هایی را در گیاهان و یا افراد تغذیه کننده از آن‌ها ایجاد می‌کنند (۲). مهم‌ترین منابع فلزات سنگین در خاک، سنگ‌های مادری یا رخنمون‌های سنگی مربوط به دوران‌های زمین‌شناسی است. از دیگر منابع آلودگی فلزات سنگین در خاک، فعالیت‌های صنعتی، مانند استخراج و تصفیه سنگ‌های معدنی، آبکاری فلزات، تولید سوخت و انرژی و کاربرد آفت‌کش‌ها و کودها است (۳). تعدادی از فلزات سنگین، از جمله مس برای رشد و نمو طبیعی گیاهان ضروری هستند. با این حال، غلظت بالای آن‌ها در خاک می‌تواند باعث ایجاد علایم سمیت و بازدارندگی رشد در گیاه گردد (۴). آثار سمی فلزات سنگین در گیاهان، ناشی از تولید انواع مختلف اکسیژن فعال، مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل است. این اشکال مختلف اکسیژن فعال معمولا با ایجاد و آسیب‌های غشایی، فرایندهای مختلف سلولی را دچار اختلال می‌کنند (۵). مس فلزی است که در غلظت-های بالا موجب بروز تنش اکسیداتیو می شود. یکی از علائم آثار سمی این فلز در گیاه، پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی است که موجب تغییر ساختار غشای سلولی و بازدارندگی رشد گیاه می‌شود. از نشانه‌های پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی، تشکیل مالون دی آلدهید (MDA) است که یکی از فراورده‌های حاصل از تجزیه اسیدهای چرب اشباع شده است (۶). سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل تنش‌های اکسیداتیو، مجهز به یک سیستم جاروب کننده رادیکال‌های آزادند که این آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز، را شامل می‌شود (۷). گزارش شده است که سمیت مس، موجب بازدارندگی تعداد زیادی از آنزیم‌ها شده و در فرایندهای حیاتی گیاه، از جمله فتوسنتز، ساخت رنگیزه‌های گیاهی و تمامیت غشا مداخله می‌کند. علاوه بر این، سمیت مس، معمولا رشد ریشه را بیشتر از اندام‌های هوایی متاثر می‌سازد؛ زیرا بخش زیادی از آن در ساختار دیواره سلولی یا در فضای بین غشا و دیواره سلولی ریشه تجمع می‌یابد و ایجاد سمیت می‌کند. مکانیسم‌های تحمل سمیت مس در گیاهان عالی، شامل اجتناب از مس و یا محدود کردن جذب آن، غیرمتحرک کردن در دیواره سلولی و نگهداری آن در مکان‌هایی، از سلول به‌صورت ترکیبات پیچیده محلول است (۴). مطالعات فیزیولوژیک زیادی به منظور یافتن گونه‌های گیاهی با ویژگی تحمل و انباشته‌گری عناصر فلزی سنگین و بررسی ساز و کارهای فیزیولوژیک تحمل این عناصر انجام شده است (۹،۸). احتمال می‌رود در بین ارقام مختلف گیاهی، نمونه‌های جالب‌توجهی از پاسخ گیاهان و روش‌های فیزیولوژیک به‌کار رفته به عنصر مس یافت شود. از این رو، بررسی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و میزان تحمل ناشی از افزایش این فلز سنگین حایز اهمیت است. بدین ترتیب، مطالعه حاضر، با هدف اثر سمیت افزایش مس بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک، تغییر در میزان برخی ترکیبات شیمیایی و میزان تحمل یک رقم از گیاهک‌های آفتابگردان در محیط کشت هیدروپونیک و در شرایط اتاق رشد، انجام شده است.

مواد و روش‌ها

کشت دانه‌ها

بذرهای سالم گیاه آفتابگردان (*Helianthns annuus* L.) رقم‌های سان ۳۳ (Hisun-33) از موسسه کشت و توسعه دانه‌های روغنی سازمان تحقیقات کشاورزی فارس تهیه گردید و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم تجاری ۲۰ درصد، به مدت ۵ دقیقه به کمک آب مقطر سترون شستشو داده شد. بذرهای ضدعفونی شده جهت کشت جوانه‌زنی، به محیط کشت ماسه‌ای سترون به مدت یک هفته منتقل گردید. آبیاری آن‌ها به کمک آب مقطر انجام شد. از هفته دوم به بعد، آبیاری به کمک محلول غذایی هوگلند ۰/۵ درجه به مدت دو هفته صورت گرفت. پس از این مدت، گیاهک‌های مشابه و یکسان، از محیط ماسه، جدا و به ظروف دارای

www.SID.ir

Archive of SID

محلول غذایی هوگلند منتقل شد. در هر ظرف، یک لیتر محلول غذایی و ۶ گیاه قرار داده شد.

تیمارهای مس

تیمارهای مس در مقادیر صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار با افزودن سولفات مس به محلول غذایی هوگلند ۰/۵ درجه اعمال گردید. برای هر تیمار، چهار تکرار در نظر گرفته شد. pH محلول غذایی روی ۷/۵ تنظیم گردید. تمام مطالعات، در شرایط اتاق رشد با دمای روز/شب ۱۸/۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰-۶۵ درصد، دوره روشنایی و تاریکی ۱۸ و ۶ ساعت و شدت نور ۷۰۰۰ لوکس انجام شد. هوادهی گیاهک‌ها روزانه به مدت ۲ ساعت و تجدید محلول‌های غذایی، هفته‌ای دوبار صورت گرفت. تبخیر روزانه آب محیط با افزودن آب مقطر به محیط کشت جبران گردید. پس از گذشت ۳ هفته از اعمال دوره تنش، گیاهک‌های باقی‌مانده از محلول‌های غذایی خارج شد. ریشه و اندام‌های هوایی کلیه نمونه‌ها از یکدیگر جدا و با آب مقطر بدون یون شسته شدند. نمونه‌های مورد استفاده برای تعیین رشد گیاهی، در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیدند و وزن خشک آن‌ها به کمک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ ± گرم اندازه‌گیری شد و مواد تازه گیاهی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پس از قرار گرفتن در نیتروژن مایع در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری مالون دی آلدهید (MDA)

میزان پراکسیداسیون لیپیدها با تعیین مقدار مالون دی آلدهید به وسیله تست TBA و با استفاده از ضریب تصحیح $155\ mM^{-1}CM^{-1}$ صورت گرفت (۱۰).

اندازه‌گیری قندهای محلول و نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه

میزان قندهای محلول و نشاسته، با استفاده از روش فنل اسیدسولفوریک (۱۱) اندازه‌گیری شد. در این روش، به ۰/۱ گرم از ماده خشک اندام‌های گیاهی به‌طور جداگانه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد تا قندهای محلول آن آزاد شود. سپس از محلول رویی برای اندام‌های هوایی به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر و برای ریشه، یک میلی‌لیتر برداشته و با آب مقطر، حجم آنها به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از اضافه‌کردن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، میزان جذب به کمک اسپکتروفتومتر Shimadzu-uv-160A در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد و در پایان آزمایش، میزان قند نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد. برای اندازه‌گیری نشاسته، محلول اتانول محتوی نمونه‌های گیاهی که در آزمایش قبل استفاده شده بود، صاف و از رسوب خشک شده آن برای اندازه‌گیری نشاسته استفاده گردید. در پایان این آزمایش به روش فنل-اسیدسولفوریک در طول موج ۴۸۵ نانومتر مقدار جذب را خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد و معادله به دست آمده برای قندهای محلول، قندهای نامحلول آن اندازه‌گیری شد.

استخراج و سنجش آنزیمی

از بافت‌های تازه گیاه جهت استخراج آنزیم استفاده شد. بافت‌ها در هاون و با بافر پتاسیم فسفات (pH7 100mM) دارای Na_2EDTA 0.1mM , 0.2mM اسکوربیک اسید و یک درصد پلی وینیل پلی پیرولیدون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد همگن گردید و سپس با سانتریفوژ مدل Hermle-Z200A-Germany در ۱۲۰۰۰g به مدت یک ساعت سانتریفوژ شدند (۱۲). سنجش‌های آنزیمی در مایع رویی به کمک اسپکتروفتومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. مقدار پروتئین نمونه‌ها با روش براد فورد، (۱۳) اندازه‌گیری شد.

برای سنجش آنزیم پراکسیداز، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندازه‌گیری شد. محیط واکنش آنزیم، شامل بافر فسفات پتاسیم (50mM pH7) ، Na_2 EDTA 0.1mM, 5mM پراکسید هیدروژن و 30mM گایاکول بود. واکنش با اضافه‌کردن مقدار مناسب عصاره آنزیمی در حجم

www.SID.ir

Archive of SID

نهایی سه میلی‌لیتر مخلوط آغاز گردید. افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد (۱۴).

سنجش میزان مس در اندامهای هوایی و ریشه

برای سنجش میزان مس در برگ و ریشه، از روش جذب اتمی استفاده شد. مقدار ۰/۵ گرم از ماده خشک گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و به خوبی هضم شد. سپس محلول اسیدی گرم شد تا بخارات آن خارج شود. در مرحله بعد، حجم محلول به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و به کمک کاغذ صافی، صاف گردید. میزان مس محلول، به کمک دستگاه جذب اتمی واریان مدل spectr AA 220 اندازه‌گیری شد. جهت تعیین غلظت یون، محلول استاندارد، قبل از سنجش نمونه به دستگاه تزریق گردید و نمودار استاندارد آن رسم شد و غلظت مجهول محلول به کمک نرم‌افزار دستگاه Spectr AA تعیین شد (۱۵).

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، شامل کلروفیل a، b و کارتنوئیدها، از برگ‌های تازه گیاهک‌ها پس از اعمال دوره تنش، استفاده شد. محاسبه غلظت کلروفیل‌های a , b و کاروتنوئیدها به کمک روش لیچ تنتالر (۱۶) صورت گرفت. در این روش، میزان جذب رنگیزه‌های فتوسنتزی در طول موج‌های ۶۶۳ ، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر خوانده شد و به کمک معادلات لیچ تنتالر (۱۶) که در زیر آمده است، اندازه‌گیری گردید:

$Chla = 12.21(A_{663}) - 2.81(A_{646})$

$Chlb = 20.13(A_{646}) - 5.03(A_{663})$

$Car. = (1000A_{470} - 3.27[Chla] - 104[Chlb]) / 227$

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها به کمک طرح آماری کاملا تصادفی و با استفاده از جدول تجزیه واریانس و آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، تجزیه و تحلیل شد. نتایج داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS Ver.9 بررسی گردید.

نتایج

در گیاهک‌های تحت تیمار سولفات مس، علائم سمیت به‌صورت کلروز در برگ‌ها، به ویژه در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار دیده شد. وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاهک‌ها همراه با افزایش مقادیر مس در محیط رشد، کاهش معنی‌دار نشان داد. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، میانگین کاهش رشد در اندام‌های هوایی را در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میکرومول مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود. متوسط کاهش وزن خشک ریشه نیز بین شاهد و کلیه تیمارها معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). نتایج حاصل از اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی پس از اعمال تیمارهای مختلف مس، کاهش آن ها را نشان داد. بر اساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این کاهش در تیمارهای مختلف، معنی دار بود. آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که متوسط کاهش کلروفیل‌های a و b در برگ، به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار سولفات مس، در تیمارهای دیگر در مقایسه با شاهد، معنی‌دار است. کاهش کاروتنوئیدهای برگ در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). قندهای محلول ریشه و اندام‌های هوایی، همراه با افزایش میزان مس در محیط رشد، افزایش یافت. بر اساس تجزیه واریانس، این افزایش در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است. آزمون دانکن نشان داد که متوسط افزایش قندهای محلول اندام‌های گیاه بین شاهد و کلیه تیمارها در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است (جدول‌های ۱ و ۲). میزان نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه گیاهک‌ها، همراه با افزایش میزان سولفات مس، کاهش یافت. این کاهش براساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است. آزمون دانکن، کاهش نشاسته را در اندام‌های هوایی بین شاهد و کلیه تیمارها در سطح احتمال

www.SID.ir

Archive of SID

یک درصد، معنی‌دار نشان داد. همچنین، کاهش نشاسته در ریشه‌ها در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود (جدول‌های۱ و ۲). افزایش تجمع مس در ریشه و اندام‌های هوایی گیاهک‌ها همراه با افزایش غلظت مس در محیط، دیده شد و تجمع آن در ریشه‌ها بیشتر از اندام‌های هوایی گیاه بود. تجزیه واریانس، تجمع مس در اندام‌های هوایی و ریشه را در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار نشان داد. با آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، میانگین این افزایش در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی بین شاهد و تیمارهای دیگر، معنی‌دار است (جدول‌های ۱ و ۲). مالون دی آلدهید برگ‌ها همراه با افزایش تیمارهای مس، افزایش یافت. تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این افزایش را معنی‌دار نشان داد. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، متوسط این افزایش بین شاهد و تیمارهای دیگر، معنی دار است (جدول‌های ۱ و ۲). فعالیت پراکسیداز برگ‌ها، همراه با افزایش غلظت سولفات مس در محیط رشد، افزایش شدید یافت. بر اساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این افزایش معنی‌دار است. آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، متوسط افزایش فعالیت پراکسیداز برگ‌ها را بین شاهد و کلیه تیمارها، به‌جز در تیمار ۲۵ میکرومولار سولفات مس، معنی‌دار نشان داد (جدول‌های۱ و ۲).

بحث

ساز و کارهای فیزیولوژیک تحمل سمیت عناصر فلزی در گیاهان، پیچیده است و به گونه گیاهی، نوع و غلظت عنصر و شرایط محیطی، مانند شدت نور و pH خاک بستگی دارد. با تعیین میزان تحمل یا حساسیت گونه‌های مختلف به غلظت مسموم‌کننده عنصر فلزی معینی در شرایط کنترل‌شده کشت، می‌توان پتانسیل‌های متفاوت گیاهان برای بردباری و تجمع مقادیر بالای فلزات سنگین را ارزیابی نمود (۸). نتایج این پژوهش نشان داد که آثار مسمومیت با مس، به‌صورت زردی در برگ‌ها و کاهش رشد به ویژه در غلظت‌های بالاست. فلزات سنگین به روش‌های مختلف، مانع رشد گیاهان می‌شوند. این فلزات با کاهش تورژسانس سلولی، باعث کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلول می‌شوند و از سوی دیگر، با تجمع در دیواره سلولی و ورود به سیتوپلاسم، در سوخت و ساز طبیعی سلول ایجاد اختلال کرده، باعث کاهش رشد می‌شوند (۶). فلزات سنگین با القای تولید انواع مختلف اکسیژن واکنش‌گر، آسیب‌های شدید به سلول وارد می‌کنند (۱۷). مطالعه حاضر، تولید مالون دی آلدهید در برگ‌ها و افزایش آن همراه با افزایش غلظت مس در محیط کشت، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو ناشی از مس را در رقم مورد مطالعه تائید می‌کند. نتایج مشابهی توسط محققین دیگر به دست آمده است (۱۸،۶). به نظر می‌رسد افزایش پراکسید هیدروژن در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین، با تحریک واکنش Haber- weiss و تولید OH^-، موجب پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب‌های غشایی می‌گردد که در نهایت، منجر به کاهش رشد گیاه نیز می‌شود (۱۹). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ‌ها با افزایش غلظت مس در محیط رشد، کاهش می‌یابد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار مس، به‌خصوص در غلظت‌های بالای این فلز، می‌تواند نشان‌دهنده وسعت آسیب‌های اکسیداتیو باشد. این کاهش می‌تواند به‌دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه‌های دیگر باشد. فلزات سنگین با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین‌های کمپلکس LHCII در سطح رونویسی، روند تشکیل این کمپلکس را مختل می‌سازند (۲۰). میزان کاروتنوئیدها نیز بر اثر تنش مس، کاهش یافت. کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو القا شده دارند و به همین دلیل از بین می‌روند. این رنگیزه‌ها در سمیت‌زدایی کلروفیل نقش دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۲۱). در این مطالعه، افزایش قندهای محلول همراه با افزایش غلظت مس، در اندام‌های هوایی و ریشه مشاهده شد. افزایش قندهای محلول

www.SID.ir

Archive of SID

در گیاهان، در شرایط تنش ناشی از شوری، سرما، خشکی و فلزات سنگین، گزارش شده است (۲۲). تجمع قندهای محلول در شرایط تنش، به تنظیم اسمزی درون سلول کمک می‌کند و موجب حفظ و نگهداری مولکول‌های زیستی و غشاها می‌شود. همچنین، گیاه با افزایش قندهای محلول در شرایط تنش، علاوه بر حفظ پتانسیل اسمزی قادر خواهد بود تا ذخیره کربوهیدراتی خود را برای متابولیسم پایه سلولی در حد بهینه نگه دارد (۲۳). تجمع بیشتر قندهای محلول در ریشه‌ها می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت تنظیم اسمزی در مکان‌های جذب باشد. کاهش نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه در اثر تنش مس می‌تواند به‌دلیل تجزیه‌شدن آن به قندهای ساده‌تر و در نتیجه، تجمع قندهای محلول در سلول باشد. همچنین ممکن است تنش حاصل از مقدار زیاد فلزات سنگین، فعالیت آنزیم‌هایی را که در ساخته‌شدن نشاسته نقش دارند، مختل و از سنتز نشاسته، جلوگیری کند (۲۴). نتایج نشان داد مس در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه انباشته می‌شود که بخش زیادی از این تجمع، در ریشه‌هاست. انباشتگی مس در ریشه، یکی از ساز و کارهای تحمل برخی گونه‌ها محسوب می‌شود. در این گیاهان، بخش زیادی از مس جذب شده، متصل به دیواره سلولی باقی می‌ماند. گزارش شده است که ۹۰ درصد کل مس در ریشه‌ها، در ساختار دیواره سلولی، یا در فضای بین دیواره و غشا متمرکز شده و ایجاد سمیت می‌کند؛ بدون آن که با مواد آلی، تشکیل ترکیبات پیچیده داده و یا به اندام هوایی منتقل شود (۴). نشان داده شده است که مقدار بالای اسید مالیک در ریشه‌های گیاه گون می‌تواند عاملی برای تحمل ریشه این گیاه به مقادیر بالای مس باشد (۲۵). احتمال دارد یکی از دلایل تحمل نسبی گیاه مورد مطالعه نسبت به غلظت‌های مسموم‌کننده مس، ممانعت از انتقال این عنصر به اندام‌های هوایی و بخش‌های دیگر گیاه باشد. علاوه بر این، نشان‌دهنده نقش ریشه‌ها در نگهداری مس اضافی است. در این مطالعه، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ‌ها همراه با افزایش غلظت مس در محیط مشاهده شد. فلزاتی چون مس، روی و سرب، عامل اصلی تولید انواع اکسیژن فعال بوده و پیامد اصلی سمیت آن‌ها، تولید تنش‌های اکسایشی است. جهت جلوگیری از تجمع مواد سمی نظیر پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپراکسید، بافت‌های گیاهی با سنتز آنتی‌اکسیدان‌های دربردارنده مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، به مبارزه با آن‌ها می‌پردازند. در بین این آنزیم‌ها، پراکسیدازها با انتقال هیدروژن از یک دهنده آنتی‌اکسیدان به پراکسیدهیدروژن، نقش عمده‌ای دارند (۲۶). افزایش فعالیت پراکسیداز در سلول ممکن است نقش کلیدی در مکانیسم دفاعی مربوط به سمیت فلزات داشته و به‌صورت بخشی از یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد در تنش‌های اکسیداتیو عمل کند (۷).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر صفات اندازه گیری شده.

میانگین مربعات								
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک اندام های هوایی	وزن خشک ریشه	مالون دی آلدهید برگ	کلروفیل a برگ	کلروفیل b برگ	کارتنوئید برگ	پراکسیداز برگ
تیمار	۴	۲۸/۲**	۱۲/۳۰**	۸/۸۳**	۵/۹۸**	۷/۱۳**	۴/۷۰**	۳/۱۳**
خطا	۱۵	۳/۰۸	۱/۲۳	۰/۲۹	۰/۰۹۱	۰/۲۵	۰/۳۰	/۰۷

میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	قندهای محلول ریشه	قندهای محلول اندام های هوایی	نشاسته ریشه	نشاسته اندام های هوایی	مس ریشه	مس اندام های هوایی
تیمار	۴	۵۴/۷۱**	۳۲/۱۲**	۲۹/۹**	۲۱/۷**	۲۰۱۶/۹۰**	۷۳۸/۴۰**
خطا	۱۵	۲/۸۸	۱/۱۳	۰/۱۵	۰/۱۱	۲۷/۱۴	۱۲/۱۷

**: معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- میانگین صفات اندازه گیری شده در تیمارهای مختلف مس.

تیمارهای مس (میکرومول) / صفات اندازه گیری شده	صفر (شاهد)	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰
وزن خشک اندم های هوایی (میلی گرم در بوته)	۲۴/۷a	۲۳/۷a	۲۱/۵a	۱۷/۹b	۱۳/۹b
وزن خشک ریشه (میلی گرم در بوته)	۱۲/۶ a	۱۰/۳b	۹/۴b	۸/۷bc	۷/۷c
کلروفیل a برگ (میلی گرم برگرم بر گرم وزن تر)	۷/۷۳a	۷/۳۰a	۵/۸۰b	۵/۶۳b	۳/۲۰c
کلروفیل b برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)	۵/۸۰a	۵/۲۰ab	۴/۵۶b	۳/۱۶c	۳/۰۱c
کارتنوئید برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)	۲/۸۶a	۲/۷۳a	۲/۲۳a	۰/۷۰b	۰/۲۱c
قندهای محلول ریشه (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	۵/۶۹a	۲۶/۸۰b	۴۱/۷۰c	۶۵/۶۹d	۶۹/۱۲e
قندهای محلول اندام های هوایی (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	۴/۱۴a	۵/۳۶b	۸/۴۰c	۱۰/۳۰d	۱۲/۰۴d
نشاسته اندام های هوایی (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	۶۶/۱۳a	۵۹/۱۷b	۴۴/۲۷c	۳۰/۹۴d	۲۴/۲۱e
نشاسته ریشه (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	۴۰/۱۹a	۳۹/۱۷a	۳۸/۱۲a	۲۲/۵۰b	۱۸/۴۶c
مس در ریشه ها (میکروگرم در گرم وزن خشک)	۸۵۲/۸a	۹۱۳/۱b	۱۰۲۴/۴c	۱۴۳۹/۱۰d	۱۴۸۸/۷e
مس در اندام های هوایی (میکروگرم در گرم وزن خشک)	۸۳/۹۰a	۱۰۷/۱۵b	۱۰۸/۴۹b	۱۱۳/۷۲b	۱۱۷/۲۷c
مالون دی آلدهید برگ (نانومول بر گرم وزن تر)	۷/۸۱a	۱۲/۹۲b	۱۶/۴۳c	۲۱/۱۳d	۲۵/۲۶e
پراکسیداز برگ ها (واحد میلی گرم پروتئین)	۰/۸a	۱/۲a	۲/۳b	۳/۷c	۴/۶d

اعداد دارای حروف غیر مشابه هر ردیف، در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، تنش ناشی از افزایش مس در محیط رشد، باعث بروز تنش اکسیداتیو، پراکسیده‌شدن لیپیدهای غشایی و تغییر در ساختار غشای سلول‌ها و در نتیجه، بازدارندگی رشد گیاه می‌شود. علاوه بر این، با توجه به مقادیر مس جذب‌شده و تجمع آن در ریشه‌ها به نظر می‌رسد که رقم مورد مطالعه، گیاهی با تحمل نسبی در مقابل تنش ناشی از افزایش این فلز باشد. افزایش قندهای محلول در اندام‌های هوایی، به‌ویژه در ریشه‌ها نشان‌دهنده سازش گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. همچنین کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ‌ها نشان از آثار سمیت مس و تولید رادیکال‌های آزاد دارد که آسیب‌های اکسیداتیو و کاهش رشد را موجب می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Scheiner, J. D., Lavado, R.S., 2002. Sunflower nitrogen requirement and N fertilizer recovery in Western pampas , Argentian. Eur J Agron 17: 73-79.
2. Antoniadis, N., Alloway, B. J., 2001. Availability of Cd, Ni, Hg and Zn to rye grass in sewage sludge treated soils at different temperatures. Water, Air and Soil Pollut 132: 201-204.
3. Raven, K. P., Loeppert, R. H., 1997. Trace element composition of fertilizers and soil amendments. J Environ Qual 26: 551-557.
4. Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higer plants. 2 nd edition, Academic press.
5. Pereira, J. G., Molina, S. M., Azevedo, R. A., 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to Cd in crotalaria juncea. Plant and Soil 239: 123-132.
6. Molassiotis, A., Tanoug, G., Patakas, A., 2005. Effects of 4–month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. J Plant Nutrition 25: 843-860.
7. Cho, V. H., Park, J. O., 2000. Mercury–induced oxidative stress in tomato seeding. Plant Science 126: 1-9.
8. Lasat, M. M., Baker, A. J. M., 1996. Physiological characterization of roots

www.SID.ir

Archive of SID

Zn2+absorption and translocation to shoot in Zn hyperaccmulator and nonaccumulator species of Thlaspi. Plant Physiol 112: 1715-1722.

9. Tolra, R. P., Poschenrieder. C. Barcelo, J., 1996. Zinc hypperaccumulation in Thlaspi caerulescence. II. Influence on organic acids. J Plant Nutr 19: 1541-1550.
10. Chaparzadeh, N., Amico, M. L. D., Khavari–nejad, R. A., 2004. Antioxidative responses of calenduld officinalis under salinity conditions. Plant physiology and Biochemistry 42: 695-701.
11. Kochert, G., 1978. Carbohydrate determination by the sulfuric acid method. In: L, Helebust , J. A., Craigie, J. S. (ed): Hand book of physiological methods. PP. 96-97. Cambridge Unir. press, Cambridge.
12. Kang, G., Wang, G., Sun, G., 2003. Salicylic acid changes activities of H2O2 metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Envi Exp Bot 50: 9-15.
13. Bradford, M. M., 1976. A rapid sensitive method for the quantition of micro program quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
14. Fielding, J. L., Hall, J., 1978. A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in roots of *Pisum sativum*. J Experimental Bot 29: 981-989.
15. Woodies, T. C., Hunter, G. B., Johnson, F., 1977. Statistical studies of matrix effects on the determination of Cu and Pb in fertilizer and material and plant tissue by flame atomic absorption spectrophotometry. Analytical Chemistry Acta 90: 127-136.
16. Lichtenthaler, H. K., Welburn, W. R., 1994. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem Soc Tran 11: 591-592.
17. Madhava Rao, K. V., Sresty, T. V. S., 2000. Antioxidative parameters in the pigeon pea in response to Zn and Ni stesses. Plant Science 157: 113-128.
18. Laspina, N. V., Groppa, M. D., 2003. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd–induced oxidative stress. Plant Science 238: 116-126.
19. Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Trende Plant Science 7: 405-410.
20. Tziveleka, L., Kaldis A., 1999. The effect of Cd on chlorophyll and light harvesting complx II biosynthesis in greening plant. Nature Forsch 54: 740-745.
21. Sanitata, L. Gabbriella, R., 1999. Response to Cd in higher plants–Review Envi Exp Bot 45: 105-130.
22. Dubey, R. S., 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. In: pesarakli, M. (ed) Hard book of photosynthesis. Dekker, NewYork, PP. 859-876.
23. Dubey, R. S., Singh, A. K., 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugars metabolizing enzyme in rice plants. Biol Plant 42: 233-239.
24. Badr, A., Patricia, G. M., 2003. Effect of Cu on growth in Cucumber plants and its relationship with carbohydrate accumulation and change in ion contents. Plant Science 166: 1213-1218.
25. Van Assche, F. V., Clijsters H., 1994. Effects of metals on enzyme activity in plants. Plant Cell Environment 13: 195-206.

۲۶. مظفری بازرگان، ع. ۱۳۸۳. جداسازی و شناسایی عوامل همبند کننده عناصر سنگین در تعدادی از گونه‌های انباشته‌گر این عناصر، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز .

www.SID.ir