Archive of SID

فصلنامه علمی-پژوهشی گیاه و زیست بوم
سال ۷، شماره ۲۷، تابستان ۱۳۹۰

مطالعه برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی یک رقم گلرنگ(*Carthamus tinctorius* L.) به سمیت سرب

حمید نورانی آزاد[۱] * ، محمد رضا حاجی باقری[۲] ، فرشید کفیل زاده[۱] ، محمود نجفیان[۱]

چکیده

هدف از این تحقیق مطالعه اثرات تنش ناشی از سمیت نیترات سرب بر روی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی رقم اصفهان گیاه گلرنگ بود. در نتیجه آزمایشی در کشت ماسه‌ای انجام شد. تیمارهای صفر(شاهد) ۲۰۰،۴۰۰،۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار نیترات سرب با چهار تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی بر روی گیاهان اعمال شد. نتایج نشان داد که جذب سرب با افزایش غلظت آن در محیط رشد افزایش می‌یابد و تجمع آن در ریشه‌ها بیش‌تر از اندام‌های هوائی است. با افزایش غلظت سرب در محیط مقادیر وزن خشک اندام‌های هوائی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. وزن خشک ریشه بجز در تیمار ۲۰۰ میکرو مولار سرب در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری یافت. افزایش پرولین در ریشه متناسب با شدت تنش در محیط رشد معنی‌دار بود. در حالی که افزایش آن در اندام‌های هوائی تنها در دو تیمار ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار سرب در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود. کلروفیل کل و پتاسیم برگ‌ها همراه با افزایش غلظت سرب در محیط کاهش معنی‌داری یافت. کلسیم برگ‌ها متناسب با شدت تنش کاهش یافت و به جز در تیمار ۲۰۰ میکرو مولار در تیمارهای دیگر در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود. فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ‌ها همراه با افزایش غلظت سرب افزایش یافت و به جز در تیمار ۲۰۰ میکرو مولار در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود. فعالیت آنزیم کاتالاز برگ‌ها همراه با افزایش سرب در محیط کاهش معنی‌داری یافت. انباشتگی سرب در ریشه‌ها، افزایش پرولین در گیاه و فعال شدن دفاع ضد اکسیدانی می‌تواند از ساز و کارهای تحمل به سمیت سرب باشد.

کلمات کلیدی: آنزیم‌ها، پرولین، سمیت سرب، کلروفیل، گلرنگ.

۱ دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد جهرم ، گروه زیست شناسی ، جهرم ، ایران. مسئول مکاتبه :hnooraniazad@yahoo.com
۲ دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد استهبان، گروه باغبانی، استهبان، ایران

تاریخ دریافت: تابستان ۸۸ تاریخ پذیرش : زمستان ۸۸

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سرب یکی از آلاینده‌های عمده محیط بوده و برای انسان بسیار سمی است. گرچه سرب را به عنوان یکی از عناصر کم‌تحرک شناخته‌اند اما در صورت وجود شکل‌های محلول در محیط، ریشه گیاه قادر خواهد بود مقادیر زیادی از آن را جذب کند. شدت جذب با افزایش غلظت سرب در محلول و با گذشت زمان افزایش می‌یابد. برخی عوامل خاکی مانند کاهش PH، غلظت کم فسفر خاک و فراوانی لیگاندهای آلی به عنوان عوامل افزایش‌دهنده جذب سرب توسط گیاه و انتقال سرب به اندام‌های هوایی گیاه شناخته شده‌اند (Kabata & 2000 ,Pendias). سرب یکی از فلزات سنگین، سمی و آلوده‌کننده محیط است که اعمال بیولوژیکی آن ناشناخته می‌باشد. این عنصر به سرعت در خاک‌های کشاورزی افزایش یافته و آن جا را آلوده می‌کند (Hamid et al, 2010) چنین شرایطی موجب مسمومیت گیاه، زردی برگ‌های جوان، کاهش جذب برخی عناصر ضروری، کاهش فتوسنتز و فعالیت‌های داخل سلول می‌گردد (Larbi & Abadia ,2003). مطالعات نشان داده است که گیاهان در برابر آلودگی ناشی از سرب واکنش‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهند. برخی از گونه‌های گیاهی حساس بوده و عده‌ای دیگر مقادیر زیادی از این فلز سنگین را جذب و تحمل می‌نمایند (Oliver & , 2003 Naidu). بعضی از فلزات سنگین از جمله سرب بر رشد و نمو و عملکرد گیاهان اثر می‌گذارند. آثار سمی فلزات سنگین بر گیاهان ناشی از تولید انواع اکسیژن فعال مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌باشد که این اشکال مختلف اکسیژن فعال معمولاً با ایجاد آسیب‌های غشایی فرآیندهای مختلف سلولی را دچار اختلال می‌نمایند (Pereira et al ،2002). سرب به عنوان یک فلز سنگین به ویژه در غلظت‌های بالا موجب بروز تنش اکسیداتیو می‌شود. اما سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل این شرایط مجهز به یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این سیستم شامل آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و نیز سیستم آنتی اکسیدان غیرآنزیمی می‌باشد (Cho& Park, 2000). سمیت سرب در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد گیاه به شکل‌های مختلف گزارش شده است که شامل کاهش پتانسیل آبی، اختلال در تغذیه معدنی گیاه، تغییر در تراوایی غشا سلولی، کاهش در مقادیر هورمونی گیاه و فعالیت‌های انتقال الکترون، بازدارندگی در رشد ریشه، ایجاد کلروز یا زردی، توقف رشد ساقه، بازدارندگی یا افزایش فعالیت آنزیمی، کاهش در سنتز DNA، RNA، پروتئین و جوانه‌زنی می‌باشد (Sharma & ,2005 Dubey). گزارش شده است که در اثر افزایش نیترات سرب به محیط رشد گیاهک‌های ذرت تثبیت Co_2 به شدت تحت تأثیر قرار گرفته است (Vojtechova & Leblova , 1991). گزارشات نشان داده است که از جمله پاسخ‌های عمومی گیاهان در برابر فلزات سنگین تغییرات سطحی پرولین و القاء فعالیت آنزیم‌های سیستم ضداکسیداسیون از جمله پراکسیداز می‌باشد (Van- Assache & Clijsters, 1990). گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius L.* یکی از گیاهان زراعی و با اهمیت در تأمین روغن خوراکی با کیفیت عالی است (Kaffka & Kearney ,1998). در حال حاضر شرایط آب و هوایی نیمه‌خشک بعضی از مناطق فارس و نیز ویژگی‌های گلرنگ باعث شده که در مناطقی از این استان به خصوص در خاک‌های شور، کم‌آب و آلوده، کشت این گیاه به وسیله کشاورزان مورد استقبال قرار گیرد. با توجه به استفاده بیش از اندازه از کودهای شیمیایی و لجن فاضلاب جهت حاصل‌خیز نمودن و به دنبال آن آلودگی خاک‌های این مناطق، بررسی ویژگی‌های فیزیولوژیک و تنش ناشی از افزایش فلزات سنگین در این خصوص حائز اهمیت است. از این رو تحقیق جاری با هدف اثر سمیت سرب برروی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک، تغییر در میزان برخی ترکیبات شیمیایی و میزان تحمل یک رقم از گیاهک‌های گلرنگ انجام شده است.

مواد و روش‌ها

۱. مواد گیاهی و شرایط کشت

بذرهای سالم گیاه گلرنگ رقم محلی اصفهان از مؤسسه کشت و توسعه دانه‌های روغنی تهیه گردید و پس از سترون‌سازی با محلول سدیم هیپوکلریت ۲۰ درصد به مدت ۵ دقیقه به کمک

www.SID.ir

Archive of SID

آب مقطر سترون فراوان شستشو داده شد. بذرهای ضدعفونی شده جهت کشت جوانه‌زنی به محیط ماسه کاملاً سترون منتقل گردید. آبیاری دانه‌های کشت شده به کمک آب مقطر به مدت یک هفته انجام شد. از هفته دوم به بعد آبیاری آن‌ها به وسیله محلول هوگلند رقیق سترون به مدت دو هفته صورت گرفت. سپس دانه‌رست‌های جوان به محیط کشت ماسه‌ای سترون که به صورت گلدان‌های یک کیلوگرمی پلاستیکی بودند انتقال یافتند. در هر گلدان ۶ گیاه قرار داده شد.

۲. تیمارهای سرب و شرایط محیط رشد

تیمارهای سرب با افزودن نیترات سرب در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار به محلول غذایی هوگلند اعمال گردید و آبیاری گیاهک‌های موجود در گلدان‌های حاوی ماسه کاملاً استریل به طور منظم هفته‌ای سه‌بار در غلظت‌های یادشده صورت گرفت. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. PH محلول غذایی حاوی نیترات سرب بر روی ۶/۵-۶ تنظیم گردید. تمام بررسی‌های انجام شده در شرایط اتاق رشد با دمای ۲۶/۲۲ درجه سانتی‌گراد (شب/ روز) با طول روز ۱۶ ساعت، رطوبت ۶۵ درصد و شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس انجام شد. مدت زمان تیمار ۲ هفته بود و سپس برداشت گیاهان انجام 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 شدند و وزن خشک آن‌ها به کمک ترازوی دیجیتال مدل BP315 اندازه‌گیری شد و مواد تازه گیاهی به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی پس از قرار گرفتن در نیتروژن مایع در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۳. استخراج و سنجش‌های آنزیمی

از بافت‌های تازه گیاه جهت استخراج آنزیم‌ها استفاده شد. بافت‌ها در هاون و با بافر پتاسیم فسفات (۱۰۰mM، PH7) دارای ۰/۱mM $MnCl_2$ ، ۰/۲mM EDTA اسکوربیک اسید و یک درصد پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد همگن گردید و سپس با سانتریفوژ مدل Hermle-Z200A- Germany در ۱۲۰۰۰g به مدت یک ساعت سانتریفوژ شدند (Kang et al ، 2003). سنجش‌های آنزیمی در مایع رویی به کمک اسپکتروفتومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. مقدار پروتئین نمونه‌ها با روش (Bradford ،1976) اندازه‌گیری شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از طریق کاهش مقدار پراکسید هیدروژن استفاده شد. مخلوطی شامل بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ mM، PH7) و ۲۵mM پراکسید هیدروژن تهیه شد. سپس با اضافه کردن مقدار مناسب عصاره آنزیمی در حجم نهایی سه میلی‌لیتر فرایند شروع گردید. (Pereira et al ، 2002). برای سنجش آنزیم پراکسید از فعالیت آنزیم گایاکول پراکسداز اندازه‌گیری شد. محیط واکنش آنزیم شامل بافر فسفات پتاسیم (۵ mM، PH=۷)، ۰/۱mM EDTA $MnCl_2$ و ۵mM پراکسید هیدروژن و ۳۰mM گایاکول بود. واکنش با اضافه کردن مقدار مناسب عصاره آنزیمی در حجم نهایی سه میلی‌لیتر مخلوط آغاز گردید. افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد (Fielding & Hall ،1978).

۴. اندازه‌گیری پرولین اندام‌های هوایی و ریشه و کلروفیل کل برگ‌ها

سنجش پرولین با استفاده از روش (Bates et al , 1973) صورت گرفت. در این روش ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی (ریشه و اندام‌های هوایی جدا از یکدیگر) با ۱۰ml محلول ۳٪ اسید سولفوسالیسیلیک سائیده شد. از مخلوط همگن حاصل پس از صاف کردن، ۲ml برداشته و پس از افزودن ۲ml معرف اسید نین هیدرین و ۲ml اسید استیک خالص در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد. سپس آن‌ها را در حمام آب یخ گذاشته و پس از افزودن ۴ml تولوئن مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر شیمادزو UV-160A-Japan خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن به دست آمد. اندازه‌گیری کلروفیل برگ‌ها نیز پس از واکنش بافت تازه برگی با استون ۸۰ درصد و به روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۶۳۴ و ۶۴۵ نانومتر انجام شد (Strain & Svec ، 1966).

www.SID.ir

Archive of SID

۵. سنجش میزان سرب در ریشه و اندامهای هوائی
برای سنجش میزان سرب 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 را گرم کرده تا بخارات آن خارج شود. در مرحله بعد محلول به ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد و به کمک کاغذ صافی صاف گردید. میزان سرب محلول به کمک دستگاه جذب اتمی واریان مدل Spectr AA220 اندازه‌گیری شد. جهت تعیین غلظت یون، محلول استاندارد قبل از سنجش نمونه به دستگاه تزریق شد و نمودار استاندارد آن رسم گردید و غلظت مجهول محلول به کمک نرم‌افزار دستگاه (Spectr AA) تعیین شد (Woodies et al ،1977).

۶. اندازه‌گیری میزان کلسیم و پتاسیم برگ‌ها
میزان کلسیم برگ‌ها به روش تیتراسیون (Johnson ،1975 & Ulrich) و برای اندازه‌گیری پتاسیم برگ‌ها از روش هضم سوزاندن نمونه خشک گیاهی درکوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت و واکنش با اسید کلریدریک ۲ مولار استفاده شد. سپس به کمک روش فلیم فتومتری میزان آن‌ها محاسبه گردید (Qadar ،1995).

۷. تجزیه و تحلیل آماری
تجزیه و تحلیل آماری تمام داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار .SAS 9 for win صورت گرفت. میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال خطای یک درصد انجام شد.

نتایج

در گیاهانی که تحت تیمار نیترات سرب بودند علایم سمیت به صورت زردی و ایجاد لکه‌های قهوه‌ای تیره در سطح برگ‌ها به ویژه در تیمار ۸۰۰ میکرومولار دیده شد. وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه همراه با افزایش مقادیر سرب کاهش یافت. تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد این کاهش را معنی‌دار نشان داد. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد میانگین کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی بین شاهد و کلیه تیمارها معنی‌دار است و متوسط کاهش وزن خشک ریشه به جز در تیمار ۲۰۰ میکرومولار نیترات سرب بین شاهد و کلیه تیمارها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). کلروفیل کل برگ‌ها همراه با افزایش میزان نیترات سرب در محیط کاهش یافت. تجزیه واریانس در سطح احتمال یک در صد این کاهش را معنی‌دار نشان داد. همچنین بر اساس آزمون دانکن میانگین کاهش کلروفیل کل برگ‌ها بین شاهد و کلیه تیمارها در سطح احتمال یک درصد معنی دار است(جدول۱و۲). پتاسیم و کلسیم برگ‌ها همراه با افزایش غلظت نیترات سرب در محیط کاهش یافت. تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد کاهش این دو عنصر غذایی را معنی‌دار نشان داد. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد میانگین کاهش پتاسیم برگ‌ها بین شاهد و تیمارهای دیگر معنی‌دار است و میانگین کاهش کلسیم برگ‌ها بین شاهد و تیمارهای دیگر به جز ۲۰۰ میکرومولار معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). افزایش انباشتگی میزان سرب در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه همراه با افزایش غلظت سرب در محیط دیده شد و تجمع آن در ریشه‌ها به طور معنی‌دار بیشتر از اندام‌های هوایی گیاه بود. تجزیه واریانس تجمع سرب در اندام‌های هوایی و ریشه را معنی‌دار نشان داد. با آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد میانگین این افزایش در ریشه و اندام‌های هوائی بین شاهد و تیمارهای دیگر معنی‌دار است(جدول ۱و۲). اندازه‌گیری پرولین در اندام‌های هوایی و ریشه‌های گیاهک‌ها نشان داد که همراه با افزایش میزان نیترات سرب، میزان پرولین به طور معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد افزایش می‌یابد و این افزایش در ریشه‌ها بیشتر از اندام‌های هوایی است. آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که این افزایش در اندام‌های هوائی بین شاهد و تیمارهای دیگر به جز تیمار ۲۰۰ میکرومولار معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱ و ۲).

فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ‌ها همراه با افزایش غلظت نیترات سرب در محیط کشت، افزایش یافت. بر اساس تجزیه واریانس این افزایش در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار است. آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد این افزایش را بین شاهد و تیمارهای دیگر به جز تیمار۲۰۰ میکرومولار معنی‌دار نشان داد (جدول۱و۲). فعالیت آنزیم کاتالاز برگ‌ها همراه با

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش میزان سرب کاهش یافت که بر اساس تجزیه واریانس درسطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. آزمون دانکن این کاهش را بین شاهد و تیمارهای دیگر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار نشان داد (جدول۱ و۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات										
		وزن خشک اندام‌های هوایی	وزن خشک ریشه	کلروفیل کل برگ‌ها	پتاسیم برگ‌ها	کلسیم برگ‌ها	سرب اندام‌های هوایی	سرب ریشه	پرولین در ریشه	پرولین در اندام‌های هوایی	پراکسیداز برگ‌ها	کاتالاز برگ‌ها
تیمار	۴	۳۰/۲۶**	۱۷/۴۰**	۰/۰۳۹**	۲۹/۶۹**	۷۱/۲۳**	۳۸۷/۷۲**	۳۰۶۴/۹۰**	۴۵/۷۱**	۳۲/۲۱**	۳/۴۳**	۲/۹۱**
خطا	۱۵	۲/۱۸	۱/۸۱	۰/۰۰۴	۰/۰۶۷	۱/۹۱	۱۴/۲۱	۳۱/۱۴	۲/۸۸	۱/۱۳	۰/۰۷	۰/۰۴
ضریب تغییرات	---	۷/۰۶	۱۱/۹۰	۱۲/۱۸	۸/۶۲	۱۳/۷۰	۳/۴۲	۵/۹۹	۱۷/۱۱	۱۲/۱۸	۱۱/۰۶	۱۳/۷۰

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

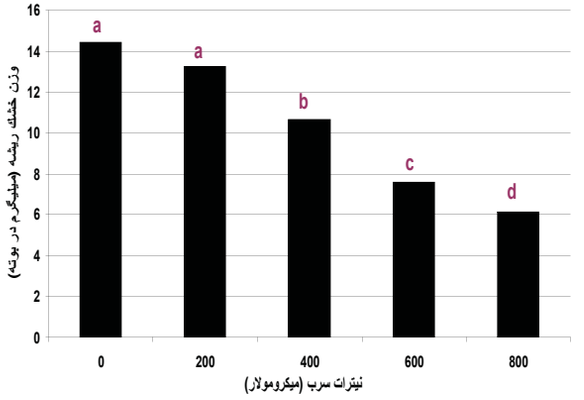
جدول ۲- متوسط صفات اندازه‌گیری شده در سطوح تیمارهای مختلف سرب

تیمارهای مختلف سرب (میکرومولار) / صفات اندازه‌گیری شده	صفر (شاهد)	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰
وزن خشک اندام‌های هوایی (میلی‌گرم در بوته)	۳۰/a۱	۲۷/b۲	۲۵/bc۶	۲۲/cd۸	۱۷/۳ d
وزن خشک ریشه (میلی‌گرم در بوته)	۱۴/۴۳ a	۱۳/۲۶ a	۱۰/b۶۶	۷/c۶۰	۶/d۱۲
کلروفیل کل برگ‌ها (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	۰/۴۸ a	۰/۴۴ b	۰/c۳۵	۰/۲۹ d	۰/۲۲ e
پتاسیم برگ‌ها (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)	۱۸/۲۹ a	۱۲/۸۶ b	۱۰/c۳۷	۵/۴۰ d	۴/۲۱ d
کلسیم برگ‌ها (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)	۱۵/۴۶ a	۱۴/ a ۲۱	۱۰/۰۷ b	۶/c۵۹	۳/۰۸ d
سرب اندام‌های هوایی (میکروگرم در گرم وزن خشک)	۸۵/۷۰ a	۱۰۹/۱۵ b	۱۱۱/b۴۹	۱۱۵/۷۲ b	۱۲۱/c۲۷
سرب ریشه‌ها (میکروگرم در گرم وزن خشک)	۸۵۲/۸۰ a	۹۸۱ b	۱۹۲۱/c۶	۲۷۱۱/۵ d	۳۱۱۶/۴ e
پرولین ریشه‌ها (میلی‌مول بر گرم وزن تر)	۷/۱۴۰ a	۹/۹۱۰ b	۱۴/c۴۲۰	۳۱/۰۶۰ d	۳۷/۵۶۰ e
پرولین اندام‌های هوایی (میلی‌مول بر گرم وزن تر)	۳/۴۰۱ a	۳/۹۵۲ a	۴/a۴۲۹	۹/۳۱۲ b	۱۲/c۰۳۱
پراکسیداز برگ‌ها (واحد میلی‌گرم پروتئین)	۰/۲ a	۰/۴ a	۱/۲ b	۱/c۷	۲/۲ d
کاتالاز برگ‌ها (واحد میلی‌گرم پروتئین)	۵/۱ a	۳/۵ b	۱/c۸	۱/c۰۶	۰/d۴

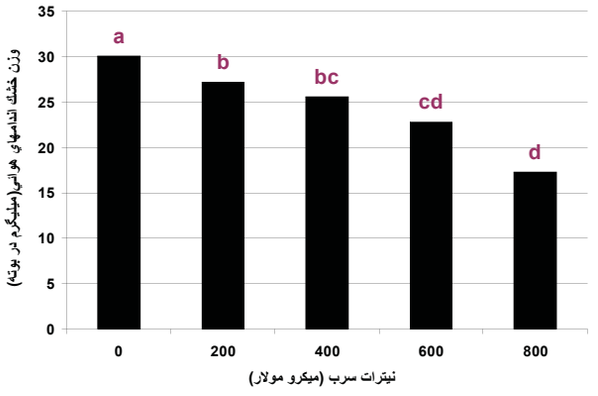
اعداد دارای حروف غیرمشابه هر ردیف در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار است.

www.SID.ir

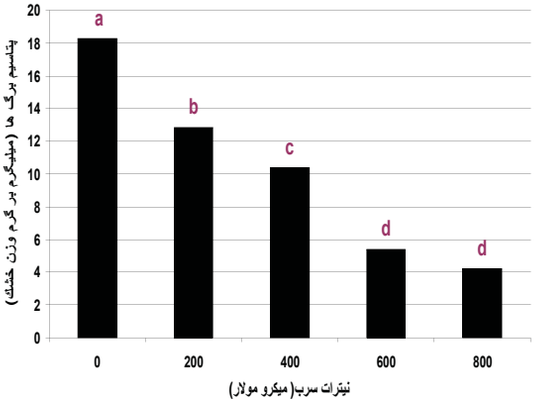
Archive of SID



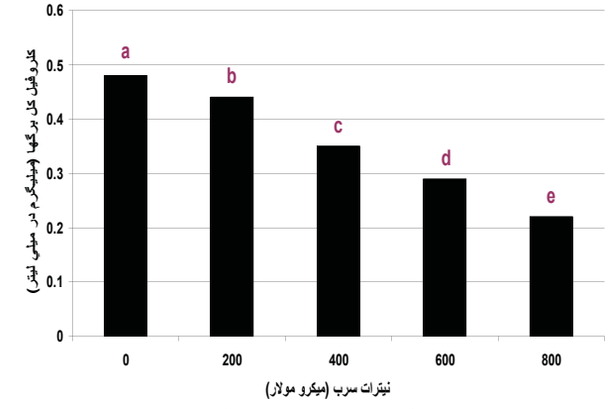
شکل۲:اثر نیترات سرب بر وزن خشک ریشه



شکل۱:اثر نیترات سرب بر وزن خشک اندامهای هوائی

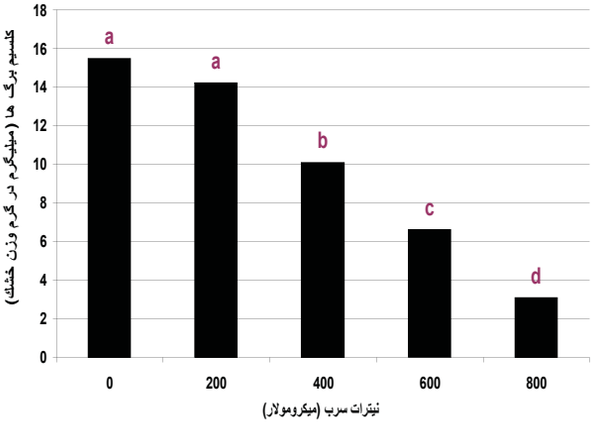


شکل۴:اثر نیترات سرب بر پتاسیم برگ ها



شکل۳:اثر نیترات سرب بر کلروفیل کل برگ ها

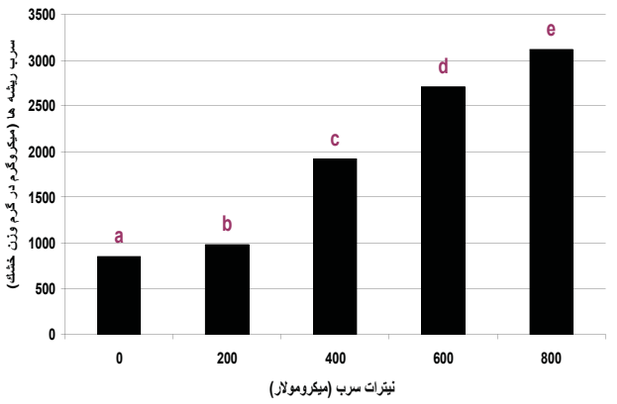
شکل۶:انباشتگی سرب در اندام های هوائی



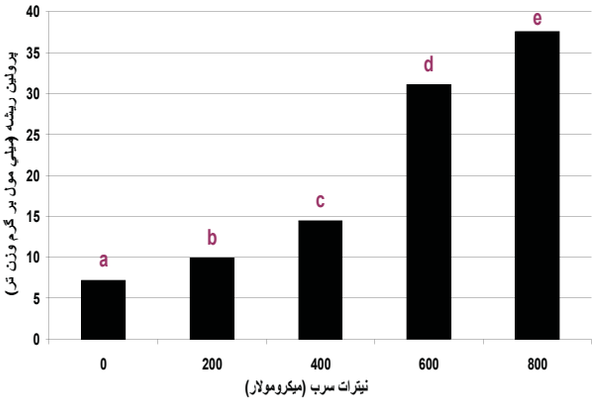
شکل۵:اثر نیترات سرب بر کلسیم برگ ها

www.SID.ir

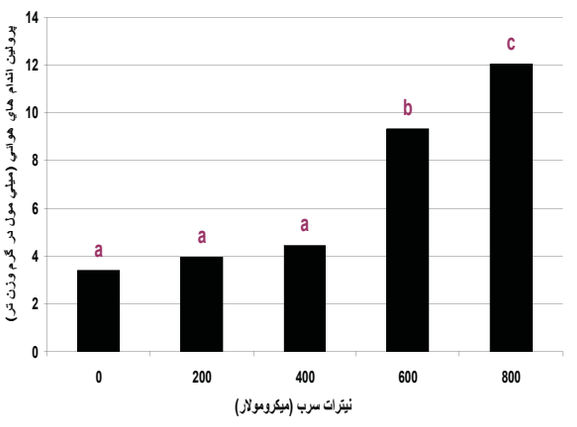
Archive of SID



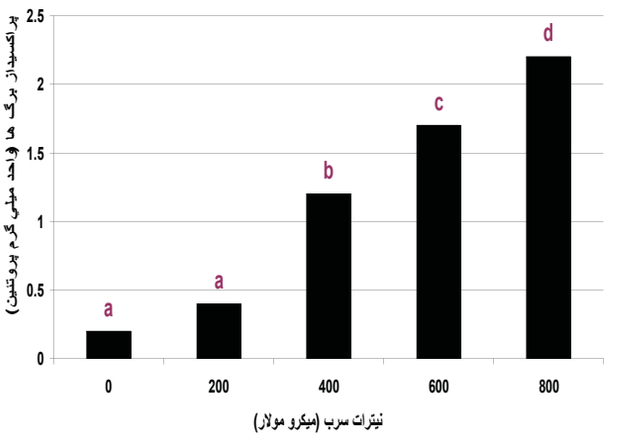
شکل ۷-انباشتگی سرب در ریشه ها



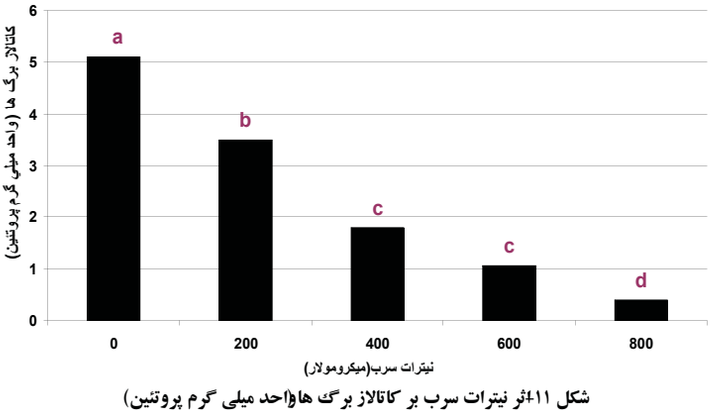
شکل ۸-اثر نیترات سرب بر پرولین ریشه



شکل ۹-اثر نیترات سرب بر پرولین اندام های هوائی



شکل ۱۰-اثر نیترات سرب بر پراکسیداز برگ ها



شکل ۱۱-اثر نیترات سرب بر کاتالاز برگ ها(واحد میلی گرم پروتئین)

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل نشان داد که آثار مسمومیت با سرب به صورت زردی در برگ‌ها و کاهش رشد به ویژه در غلظت‌های بالا می‌باشد. از علایم سمیت ناشی از سرب توقف سریع رشد ریشه‌ها، کلروز و کاهش رشد گیاه است (Burton & Roiga, 1984). گزارش شده است که سرب در غلظت‌های بالا رشد دانه‌رست‌های برنج را به میزان ۴۵ درصد کاهش داده است (Verma & Dubey, 2003). فلزات سنگینی به روش‌های مختلف مانع رشد گیاهان می‌شوند. این فلزات با کاهش تورژسانس سلولی موجبات کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلولی را فراهم می‌آورند و از طرف دیگر با تجمع در دیواره سلولی و ورود به سیتوپلاسم در متابولیسم طبیعی سلول اختلال ایجاد کرده و باعث کاهش رشد می‌گردند (Molassiotis et al, 2005). سمیت سرب میزان پروتئین‌های بافت گیاهی را کاهش داده و ترکیبات لیپیدی غشاء و تراوایی آن را به طور قابل ملاحظه تغییر می‌دهد. علاوه بر این گزارش شده است که سنتز DNA ، RNA و پروتئین نیز در گیاهک‌های برنج در اثر افزایش میزان نمک‌های سرب به شدت کاهش یافته و به دنبال آن میزان وزن خشک گیاه نیز کم شده است (Maitra & Mukherji, 1977). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلروفیل کل برگ‌ها همراه با افزایش غلظت نیترات سرب در محیط کاهش معنی‌داری یافت. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار سرب می‌تواند به دلیل آسیب‌های اکسیداتیو باشد. این کاهش می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه‌های دیگر باشد. تجزیه زیستی کلروفیل نیز در حضور فلزات سنگین از عوامل مهم کاهش کلروفیل محسوب می‌شود (Hegedus et al, 2001). گزارش شده است که فعالیت آنزیم کلیدی بیوسنتز کلروفیل یعنی اسید دلتا- آمینولوولینیک دهیدروژناز در اثر یون‌های سرب در محیط به شدت متوقف شده و از میزان کلروفیل و رشد کاسته می‌شود (Prassad & Prassad, 1987). همچنین سرب ساخته شدن کلروفیل را از طریق کاهش جذب عناصر ضروری نظیر منیزیم و آهن متوقف (Burzynski, 1987) و تجزیه کلروفیل را با افزایش دادن فعالیت آنزیم کلروفیلاز افزایش می‌دهد (Darzkiewicz, 1994). در این مطالعه کاهش عناصر غذایی پتاسیم و کلسیم همراه با افزایش میزان سرب مشاهده شد. سرب باعث عدم تعادل در تغذیه بافت‌های گیاهی می‌شود. در اغلب موارد سرب ورود کاتیون‌هایی نظیر پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن و روی را به درون سیستم ریشه‌ای متوقف می‌سازد (Kabatapendias & Pendias, 1992). این فلز سنگین موجب تغییراتی در فعالیت‌های آنزیمی و ساختار غشایی سلول می‌شود. همچنین از طریق فیزیکی دسترسی جایگاه‌های جذب ریشه به یون‌های ضروری را به شدت محدود می‌کند (Sharma & Dubey, 2005). نشان داده شده است که در ذرت جذب کلسیم، پتاسیم، منیزیم و فسفر در حضور سرب کاهش می‌یابد (Walker et al, 1997). که با نتایج ما در مورد پتاسیم و کلسیم هم‌خوانی دارد.

نتایج نشان داد که سرب در ریشه و اندام‌های هوایی گلرنگ انباشته می‌شود و بخش زیادی از این عنصر در ریشه‌ها تجمع می‌یابند. گزارشات نشان داده است که یکی از تیره‌های گیاهی که میزان تجمع فلزات سنگین در آن‌ها بالاست تیره آستراسه است که مانع جذب فلزات نشده و ساز و کارهایی را برای از بین بردن سمیت فلزات سنگین به کار می‌برند. این ساز و کارها تجمع زیستی مقادیر بالای فلزات سنگین را ممکن می‌سازند (Brooks, 1998). نتایج ما نشان داد که تجمع سرب همانند مطالعات (Marry et al, 1976) در ریشه گیاه تحت تیمار، با افزایش غلظت آن در محیط رشد افزایش یافته و در ریشه بیشتر از اندام هوایی است و این نشان‌دهنده‌ی تحرک کم این فلز بوده و انتقال ناچیز آن را به اندام‌های هوایی نشان می‌دهد (Zimdahl, 1975). انباشتگی سرب در ریشه یکی از ساز و کارهای تحمل برخی گونه‌ها محسوب می‌شود. در این گیاهان بخش اعظم سرب جذب شده متصل به دیواره سلولی باقی می‌ماند (Marschner, 1995). بیان شده است که فرایند اصلی مسئول برای تجمع سرب در ریشه، ته نشینی سرب خصوصا به صورت پیروفسفات در طول دیواره‌های سلولی می‌باشد(Chaney & Ryan, 1993). به نظر می‌رسد یکی

www.SID.ir

Archive of SID

از دلایل تحمل نسبی گیاه مورد مطالعه نسبت به غلظت‌های مسموم کننده سرب ممانعت از انتقال این عنصر به اندام‌های هوایی و بخشهای دیگر است و نشان‌دهنده‌ی نقش ریشه‌ها در نگه‌داری سرب اضافی می‌باشد.

در این مطالعه افزایش پرولین همراه با افزایش غلظت سرب در اندام‌های هوایی و ریشه مشاهده شد. در گیاهان انباشته‌شدن پرولین در اثر قرار گرفتن در برابر فلزات سنگین بسیار شایع است (Costa & Morel , 1994). افزایش پرولین در گیاهان یک نوع ساز و کار دفاعی است. پرولین با چندین ساز و کار مانند پاک‌کردن رادیکال‌های هیدروکسیل، تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و حفظ سنتز پروتئین، بردباری و تحمل گیاه را در برابر تنش‌ها بالا می‌برد (Kuznetsov & Shevyakova , 1997). گزارش شده است که از جمله ساز و کارهای دفاعی در مقابل سرب سنتز و انباشته شدن آمینواسیدهایی نظیر پرولین است که تنظیم‌کننده اسمزی و کاهش‌دهنده‌ی سمیت ناشی از فلزات سنگین می‌باشد (Alia & Matysiki ,1991). تجمع بیشتر پرولین در ریشه‌های گیاه موردمطالعه می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت تنظیم اسمزی در مکان‌های جذب باشد. در مطالعه حاضر، همراه با افزایش غلظت سرب از میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌ها کاسته و بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ افزوده شد. نشان داده شده است که سرب می‌تواند باعث تنش اکسیداتیو در گیاهان شود (Verma & Dubey , 2003). سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو مجهز به یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشند. بخشی از این سیستم شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و گایاکول پراکسیداز می‌باشد (Cho & Park , 2000). گزارش شده است که فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه برنج در اثر افزایش تنش ناشی از سرب کاهش یافته است (Verma & Dubey ،2003) که با نتایج ما هم‌خوانی دارد. این کاهش می‌تواند در اثر کاهش سنتز آنزیم یا تغییر در اجتماع زیر واحدهای این آنزیم در اثر سمیت سرب باشد (Hertwig ،1992). رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در شرایط تنش فلزات سنگین به وجود آمده‌اند با حمله به برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدان موجب مهار آن‌ها می‌شود (Gallego et al , 1996) گزارش شده است دو شکل ایزوزیمی آنزیم کاتالاز در برگ‌های گیاهک‌های تحت تیمار سرب شدیداً کاهش یافته است کـه این باعث کاهش فعالیت آنزیم فـــــوق شده است (Verma & Dubey , 2003). افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ‌ها تحت تنش سرب می‌تواند مربوط به رهاشدن این آنزیم از دیواره سلولی باشد (Gaspar , 1982). نشان داده شده است که سرب باعث افزایش فعالیت پراکسیداز در گیاهک‌های سویا و برنج شده است (Sharma & Dubey , 2005) که با نتایج ما هم‌خوانی دارد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که اولاً تنش ناشی از سرب باعث کاهش رشد و تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاه گلرنگ می‌شود. ثانیاً با توجه به مقادیر سرب جذب شده و تجمع آن در ریشه‌ها به نظر می‌رسد گلرنگ یک گیاه متحمل به تنش سرب باشد. علاوه بر این به علت توان خوب این گیاه در توسعه ریشه مستقیم خود در اعماق خاک می‌توان از آن برای پاکسازی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین نیز استفاده کرد. همچنین می‌توان با انتقال عوامل مقاومت آن به گیاهان غیراقتصادی با زیست توده زیاد، گیاهان تراریخته ایجاد و در پاکسازی خاک‌های آلوده از آن‌ها استفاده برد. با توجه به برخی اثرات مفید لجن در زمین‌های زراعی، کاربرد آن با رعایت استانداردهای زیست محیطی می‌تواند ترویج یابد. اما به دلیل تقریباً ناممکن بودن حذف فلزات سنگین از این کود، بایستی اخطارهای لازم به مراجع مربوط داده شود تا راه‌های جلوگیری از ورود این فلزات به فاضلاب ها مورد بررسی قرار گیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع:

Alia , P, and J.Matysik. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. J. Plant Physiol. 138: 554-558.

Bates, L. S., S.P.Waldren, and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water- stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Bradford, M.M. 1976. A rapid sensitive method for the quantitaion of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding Analytical Biochemistry. 72: 248- 254.

Brooks, R.P. 1998. Geobotany and hyperaccumulators. IN: R.R.Brooks (ed) plants that hyperaccumulate heavy metals, PP. 55-94. CAB Internatural, U.S.A .

Burton, K.W, and A. Rogia . 1984. The influence of heavy metal on the growth of sitka- spruce in south wales forests. II greenhouse experiment. Plant Soil. 36: 301-313

Burzynski, M. 1987. The influence of lead calcium on absorption and reduction of K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} and Fe^{2+} in cucumber seedlings. Acta soc. Bot . Pol. 53: 77-86

Chaney, R.L, and J. A. Ryan. 1993. Heavy metal and toxic organic pollutants in MSW- compost: Research results on phytoavail ability, bioavailability, fate, etc. PP 451-506. Renaissance Pub. Worthington, Ohio.

Cho, U.H, and J. O. Park 2000. Mercury- induced oxidative stress in tomato seedlings. Plant Sci . 156:1-9

Costa, G, and L. Morel. 1994. Water relation gas exchange and amino acid content in cd-treated lettuce. Plant Physiol and Bioch. 32: 561-570.

Drazkiewicz, M. 1994. Chlorophyll- occurrence, functions, mechanism of action effects of internal and external factors. Photosynthetica, 30: 321-331.

Fielding, J.L, and J. Hall. 1978. A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in root Pea. J. of Exp. Bot. 29: 98-112.

Galleco, S.M., M.P. Benavides, and M.L. Tomaro. 1996. Effect of heavy metal. Jon excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. Plant Sci. |2| : 151-159.

Gaspar, T. 1982. A survey of their biochemical and physiological roles in higher plants, PP. 324-330. Univ. of Genera Press.

Hegedus, A., S. Erdel, and G. Horvath. 2001. Comparative studies of H_2o_2 detoxifying enzymes in green and greening barely seedling under lead stress. Plant Sci 160: 1085-1093.

Hamid, N., N. Bukhari, and F. Jawaid, 2010. Physiological responses of Phaseolus vulgaris to different lead concentrations. Pak. J. Bot., 42(1): 239- 246.

Hertwig. B. 1992. Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves
and the influence of interfering stress conditions. Plant Physiol. 100: 1547-1553.

Johnson, J, and M. Ulrich. 1975. Analytical methods for use in plant analysis Bulletin 766. Berkeley: university of California. Agric. Exp. station. PP. 26-78.

Kabata - Pendis, A, and H. Pendias. 1992. Trace elements in soils and Plant. 2nd edn. CRC. Press, Boca Raton,

www.SID.ir

Archive of SID

London.

Kabata - Pendias, A, and H. Pendias. 2000. Trace elements in soils and plant. CRC press, Bocaraton, New York.

Kaffka, R.S, and T.E. Kearney. 1998.Safflower production in California. University of California, Agriculture and natural Resource Pub. , USA.

Kang, G., C.Wang., Z. Wang, and G. sun. 2003, salicylic acid changes activities of H_2o_2 – metabolization enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Environ and Exp. Bot. 50: 9-15

Kuzentsov, W, and N.L. shevyakova. 1997. Stress responses two tobacco cells to high temprature and salinity, proline accumulation and phosphorylation of polypeptids. Physiologia Plantarum. |0|: 477-482.

Larbi, A., F. Morales, and A. Abadia. 2003. Effect of Cd and Pb in sugar beat Plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition. Functional plant Biology, 20 (12) 1453- 1464.

Maitra, P, and S. Mukherji. 1977. Effect of Pb on nucleic acid and protein contents of rice seedlings and its interaction with IAA and GA_3 in different plants systems. Ind. J. Exp. Biol. 17: 29-31.

Marry, R., H. Tiller, and M. Alston. 1986. The effects of contamination of soil with Cu, Pb, and Al on the growth and composition of plants. Effects of season, genotype and fertilizer. Plant and Soil, 91:115-128.

Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd Edition. Academic press.

Molassiotis, A., G, Tanouc., G. Diamantidis, and A. Patakas. 2005. Effects of 4- month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism. Photosynthetic gas exchange chlorophyll fluorecence and antioxidant defense in two peach rootstock different in Fe deficiency tolerance. J. of Plant Nut. 25: 843- 860.

Oliver, D, and R. Naidu. 2003. Uptake of Cu, Pb, Cd, As and DDT by vegetables grown in urban environments. Environmental protection and Heritage council. P: 151-161.

Pereira, G. J., G. Molina, and R.A. Zevedo. 2002. Activity of antioxidant enzymes in responses to pb in *Crotalaria juncea*. Plant and Soil. 239: 123-132.

Prassad, D.D.K, and A.R.K. Prassad. 1987. Altered aminolaevulinic acid metabolism by Pb and Hg in germinating seedling of Bajra. J. Plant Physiol . 127: 241-249.

Qadar, A. 1995 Potassium and sodium contents of shoot and laminae of rice cultivars and their sodicity tolerance. J. Plant Nut. 18: 2281- 2286.

Sharma, P.R, and S. Dubey. 2005. Lead toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol 17(1): 35-52.

Strain, H. H, and W.A. Svec. 1966. Extraction, separation, estimination and isolation of chlorophylls. In: L.P.V Vernon and G. R. sleey, (eds), the chlorophylls academic press. New York. PP. 199- 244.

Van Assche, F, and H. Clijsters. 1990. A biological test system for the evaluation of the phytotoxicity of metal-contaminated soils. Environmental Pollution. 66: 157-172

Verma, S, and R.S. Dubey. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Sci. 164: 645-655.

Vojtechova, M, and S. Leblove. 1991, Uptake of lead and cadmium by maize seedlings and the effect of heavy metals on the activity of P.E.Pcase isolated from maize . Biol. Plant. 33: 386- 394.

www.SID.ir

Archive of SID

Walker, W. M., J.E. Miller, and J.J. Hassett. 1977. Effect of Pb and Cd upon the Ca, Mg , K and P concentration in corn Plants. Soil Sci. 124: 145-151.

Woodies, T.C., G.B. Hunter, and F.J. Johnson. 1977. statistical studied of matrix effects on the determination of Pb and Cd in fertilizer and material and plant tissue by flame atomic absorption specterophotometry. Analytical chemistry Acta. 90: 127-136.

Zimdahl. R.L. 1975. Entry and movement in vegetation of lead derived from air and soil sources, paper presented at 68th aAnnu. Meeting of air pollution control association. Boston M.A., June, 5, 2.

www.SID.ir