مقایسه‌ی اثر کاربرد کبالت موجود در خاک بر ساخت کلروفیل a، b و کلروفیل کل در دو رقم لوبیاچیتی خمین و تلاش

مهری شرفی*[۱]، ابوالفضل رنجبر[۲] و حبیب‌الله بیگی هرچگانی[۳]

۱) دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲) استادیار گروه زراعت دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳) استادیار گروه علوم خاک دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

این مقاله با پایان‌نامه کارشناسی ارشد مرتبط است.
***نویسنده مسئول مکاتبات:** mehrisharafi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۵/۳۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۹/۱۱**

چکیده

به منظور بررسی تأثیر کبالت خاک بر محتوی کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل در گیاه لوبیا چیتی آزمایشی گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و پنج تیمار (۰، ۲۰، ۷۰، ۱۵۰ و۲۲۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک خشک) در گلخانه دانشگاه شهرکرد در سال ۹۰-۸۹ به صورت جداگانه برای دو رقم لوبیاچیتی خمین و تلاش اجرا شد. در پایان مرحله بلوغ فیزیولوژیکی کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل در برگ‌های میانی هر بوته و کلروفیل کل از مجموع دو کلروفیل a و b به دست آمد. نتایج نشان داد یک روند افزایشی (تا ۲۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک) و سپس یک روند کاهشی (بیش‌تر از ۷۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک به بعد) در میزان کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل دیده شد. به طور کلی غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۲۰ میلی‌گرم کلریدکبالت خاک باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل نسبت به شاهد شد ($p<۰/۰۵$). به نظر می‌رسد علی‌رغم تأثیر منفی و معنی‌دار در غلظت‌های زیاد کبالت خاک بیش‌تر از ۱۰۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم، غلظت‌های کم کبالت خاک (کم‌تر از ۲۰ میلی‌گرم) برای رقم خمین و کم‌تر از ۷۰ میلی‌گرم کبالت برای رقم تلاش تأثیر مثبت بر تراکم کلروفیل‌های برگ لوبیا چیتی داشته باشد. حد تحمل کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل در لوبیاچیتی خمین به ترتیب ۳۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک به دست آمد. و برای لوبیاچیتی رقم تلاش حد تحمل کلروفیل b و کل به ترتیب ۹۰ و ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلریدکبالت خاک به دست آمد. در شرایط زیادی کبالت خاک سنتز کلروفیل b در برگ لوبیاچیتی در هر دو رقم خمین و تلاش نسبت به سنتز کلروفیلa حساس‌تر بود.

واژه‌های کلیدی: کبالت، لوبیا، کلروفیل.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

لوبیا چیتی (Pinto bean) با نام علمی *Phaselous vulgaris* یکی از مطلوب‌ترین و پر مصرف‌ترین انواع لوبیا است که به علت قابلیت هضم خوب، خوش‌خوراکی و زودپزی حائز اهمیت است. بهترین نوع لوبیا چیتی در ایران لوبیاهایی هستند دانه درشت، گرد یا بیضوی شکل، دارای زمینه کرم با خطوط قرمز رنگ که در هنگام پخت لعاب فراوان تولید می‌کنند. عوامل محیطی در اندازه دانه، درصد پروتئین و خوش‌خوراکی نقش مهمی دارد. چون لوبیا چیتی به عوامل محیطی حساس است برای تولید آن باید مناطقی با شرایط مطلوب انتخاب شود (مجنون حسینی، ۱۳۸۷).

یکی از عوامل محیطی تنش‌زا وجود عناصر سنگین در خاک است. عناصری را که دارای چگالی بیش‌تر از ۵ g/cm^3 باشند عناصر سنگین می‌گویند (Gabrielli and Mattioni, 1991). فلزهای سنگین از طریق فعالیت بشر مانند (احتراق سوخت‌های فسیلی، استخراج معادن، تصفیه سنگ‌های حاوی فلز، فاضلاب شهری، آفت‌کش‌ها، مواد رنگی و باتری‌ها) و فرسایش طبیعی سنگ‌ها می‌توانند به بیوسفر وارد شوند (حاتمیان، ۱۳۷۹). هنگامی فلزات سنگین توسط گیاه جذب شده و در بافت‌های آن‌ها تجمع می‌یابند اغلب به دو صورت مستقیم و غیر مستقیم باعث مسمومیت می‌شوند. در روش مستقیم فلز سنگین با تخریب ساختار سلول عمل می‌کند. در روش غیر مستقیم فلز سنگین از طریق رقابت با عناصر غذایی ضروری و قرار گرفتن به جای آن‌ها در ساختمان کلروفیل یا آنزیم‌ها و تخریب عملکرد آن‌ها نقش ایفا می‌کند. جایگزینی سرب، روی، نیکل، کادمیوم، مس و جیوه در کلروفیل به جای منیزیم منجر به کاهش چشم‌گیر فتوسنتز می‌شود (Kupper, 1996). حضور فلزات سنگین باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که به نوبه‌ی خود باعث ایجاد اثرات سمی مختلف در گیاهان نظیر کاهش رشد، کاهش محتویات کلروفیل و فتوسنتز، مهار فعالیت‌های آنزیمی، آسیب به مولکول‌های زیستی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها به خصوص DNA می‌شود (Mishra *et al.*, 2006)

طبق تعریف قبلی کبالت نیز یک عنصر سنگین است. ضروری بودن این عنصر برای گیاهان کاملاً به اثبات نرسیده (Rajurkar and Damame, 1998). ولی تأثیر مفید آن بر گیاه مشاهده شده است: کبالت مقاومت گیاه و دانه‌ها را در مقابل خشکی به شدت تقویت می‌کند و موجب سنتز قند و چربی در گیاهان می‌شود(Kandil, 2007). کبالت، بر خلاف برخی دیگر از عناصر سنگین، برای سلامتی انسان نه تنها مضر نیست بلکه مقدار کم آن لازم می‌باشد. به طوری که مقدار ۸۰ میلی‌گرم آن به صورت روزانه بدون تهدید سلامتی می‌تواند، مصرف شود. گفته می‌شود کبالت برای لگوم‌ها یک عنصر ضروری است زیرا باعث تأثیر مثبت بر فعالیت باکتری رایزوبیوم در تثبیت نیتروژن جو می‌شود. کبالت همچنین باعث تشدید فرآیندهای نمو در گیاهان از جمله طویل شدن هیپوکوتیل و گسترش سطح برگ می‌شود (Ibrahim *et al.*, 1989). با این حال، غلظت‌های بالای این عنصر باعث ایجاد سمیت و حتی تداخل در فعالیت فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه می‌شود (El-

Archive of SID

www.SID.ir

sheekh et al., 2000, Parmar and Chanda, 2005, Jayakumar *et al.*, 2009). افزایش زیاد کبالت به خاک باعث کاهش عملکرد و بازدارندگی تولید در برگ‌ها شده و در نهایت می‌تواند از انتقال مواد غذایی به ریشه و دیگر مخزن‌های نگهداری مواد غذایی ممانعت کند (Samaryoon and Rauser, 1979).

با افزایش کبالت (به شکل سولفات‌کبالت) به خاک تراکم هر دو کلروفیلa وb در لوبیا سبز کاهش معنی‌داری یافت و به دلیل حساس بودن کلروفیل a در مقایسه با کلروفیلb تراکم کلروفیل a کاهش بیش‌تری داشت (Chatterjee *et al.*, 2006). آزمایش گل‌خانه‌ای با باقلا نشان داد که کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کامل با افزایش غلظت کبالت (به شکل کلریدکبالت) در خاک کاهش می‌یابد (Hallova *et al.*, 2009). غلظت‌های مختلف کبالت (کلریدکبالت) خاک، بر کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل در برگ‌های سویا مورد بررسی قرار گرفت و با افزایش غلظت کبالت خاک میزان کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل کاهش یافت (Jayakumar *et al.*, 2009).

بررسی غلظت‌های مختلف کبالت (به شکل کلریدکبالت) خاک بر گیاه (*Vigna radiate L.*)نشان داد که با افزایش غلظت کبالت در خاک میزان کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل و کاروتنوئید کاهش یافت (Jaleel *et al.*, 2009). تأثیر غلظت‌های مختلف کبالت (به شکل کلریدکبالت) خاک، بر گیاه (*Raphanus sativa* L.) نشان داد که غلظت‌های بالای کبالت خاک باعث کاهش تراکم کلروفیل a و b و کلروفیل کل می‌شود (Jayakumar et al., 2007).

برخی پژوهش‌ها به اثر مفید کبالت خاک بر محتوی کلروفیل گیاهان اشاره دارند. تأثیر کلریدکبالت خاک بر محتوی کلروفیل در گیاهان خانواده حبوبات مانند لوبیا سبز مورد بررسی قرار گرفته و غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم کلریدکبالت خاک برای تحریک تراکم کلروفیل مفید اعلام شده و غلظت ۰/۱ میلی‌گرم کلریدکبالت خاک برای تثبیت نیتروژن مفید بوده است (Hallova *et al.*, 2009). در گیاه سویا ۵۰ میلی‌گرم کلریدکبالت خاک به عنوان غلظت مناسب و تحریک کننده محتوی کلروفیل بیان شده است (Jayakumar *et al.*, 2009). غلظت ۵۰ میلی‌گرم کلریدکبالت خاک را به عنوان غلظت مناسب برای تحریک تجمع محتوای کلروفیل در(*Vigna radiate* L.) پیشنهاد کرده‌اند (Jaleel *et al.*, 2009). برای گیاه نخود که یکی دیگر از گیاهان خانواده حبوبات می‌باشد غلظت ۱۰ میلی‌گرم کلریدکبالت به عنوان مناسب‌ترین غلظت تحریک کننده کلروفیل معرفی شده است (Rahman Khan and Mahmud Khan., 2010).

برخی از مطالعات نشان دادند در گروهی از گیاهان محتوی کلروفیل a بیش‌تر از تراکم کلروفیل b بوده است. در غلظت‌های کم کبالت خاک محتوی کلروفیل a در گیاه لوبیا سبز ۲/۵ برابر کلروفیل b بوده و در عین حال با افزایش غلظت کبالت خاک محتوی دو کلروفیل یکی می‌شود (Chatterjee *et al.*, 2006). در غلظت‌های مختلف کبالت خاک محتوی کلروفیل aدر گیاه سویا ۱/۲ برابر بیش‌تر از محتوی کلروفیل b بوده است (Jayakumar *et al.*, 2009). محتوی کلروفیل b

Archive of SID

www.SID.ir

نسبت به محتوی کلروفیل a در غلظت‌های کم کبالت خاک در(*Vigna radiate L.*) حدود ۲ برابر بیش‌تر است ولی در غلظت‌های بالاتر این تراکم به ۱/۳ می‌رسد (Jaleel *et al.*, 2009). تمام غلظت‌های مختلف کبالت خاک محتوی کلروفیل b در(*Raphanus sativa* L.) بیش از ۲/۵ برابر کلروفیل a است.

به طور کلی، تنش‌های محیطی از جمله غلظت زیاد فلزات سنگین در خاک باعث ایجاد مشکلاتی جدی در رشد و بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه می‌شوند و گونه‌های گیاهی از نظر توانایی برخورد با این تنش‌ها بسیار متفاوت هستند. با وجود این که اثر غلظت کبالت خاک بر دیگر لوبیاها بررسی و اثر منفی آن در غلظت‌های بالا به ویژه بر کلروفیل‌های آن‌ها نشان داده شده است، به نظر می‌رسد تاکنون تأثیر غلظت کبالت خاک بر محتوی کلروفیل‌های گیاه لوبیا چیتی مطالعه نشده است. هدف از این مطالعه، (۱) بررسی اثر غلظت‌های مختلف کبالت خاک بر محتوی کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل در گیاه لوبیا چیتی رقم خمین و تلاش؛ (۲) تخمین حد تحمل این گیاه نسبت به کبالت و (۳) مقایسه حساسیت کلروفیل a با کلروفیل b نسبت به اثر سمی کبالت خاک است.

مواد و روش‌ها

برای این پژوهش از بذر لوبیا چیتی که از توده‌های بومی خمین و تلاش تهیه شده، بود استفاده شد. دانه‌های درشت لوبیا که دارای رنگ مشابه و شاخص لوبیا چیتی بودند انتخاب شدند. این آزمایش به صورت گلدانی در گل‌خانه دانشگاه شهرکرد در سال ۹۰-۸۹ اجرا شد. بستر کشت حاوی ۵۰ درصد کود گاوی، ۳۵ درصد خاک زراعی و ۱۵ درصد ماسه بود. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و پنج سطح (۰، ۲۰، ۷۰، ۱۵۰ و ۲۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک کلریدکبالت) برای رقم تلاش و رقم خمین در گل‌خانه دانشگاه شهرکرد در سال ۹۰-۸۹ اجرا شد. در مجموع ۴۰ گلدان شماره ۷ (ارتفاع و قطر دهانه به ترتیب ۲۵ و۲۰ سانتی متر) به کار برده شد، ۲۰ سطح آزمایشی برای رقم خمین و ۲۰ سطح آزمایشی دیگر برای رقم تلاش استفاده شد. در هنگام آماده سازی بستر بذر مخلوطی (خاک، کود و ماسه) تهیه شد و خصوصیات خاک گلدان به صورت زیر تعیین شد: اندازه‌گیری نیتروژن کل به روش کجلدال (Bremner and Mulvaney, 1982)، فسفر قابل جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر به روش اولسن (Olsen and Sommers, 1982)، و پتاسیم قابل جذب با استفاده از فلیم‌فتومتر به روش استات آمونیوم انجام گرفت (Simard, 1993). برای تعیین میزان کبالت و عناصر کم مصرف خاک عصاره‌گیری نمونه‌ها با DTPA صورت گرفت (Lindsay and Norvell, 1978) و میزان کبالت با دستگاه جذب اتمی و میزان عناصر کم مصرف با ICP قرائت شدند. pH و هدایت الکتریکی خاک در عصاره اشباع با الکترود (Janzen, 1993) تو بافت خاک به روش هیدرومتری تعیین شد (Bouyoucos, 1962).

Archive of SID

www.SID.ir

در هر گلدان چهار عدد بذر که از قبل در ظرف آزمایشگاهی جوانه‌زده بودند در عمق ۱۰ سانتی‌متری قرار داده شدند. یک هفته بعد از کاشت اکثر بذرهای جوانه‌زده کاشته شده در هر گلدان سبز شدند. مراقبت‌های روزانه تا مرحله تیماردهی ادامه داشت. وقتی تمامی لوبیاهای کاشته شده در هر گلدان به مرحله سه برگی رسیدند بوته‌های داخل هر گلدان تنک شدند و دو بوته در هر گلدان باقی ماند. با توجه به وزن خاک خشک هر گلدان (۲/۴۶۰ کیلوگرم) مقدار کبالت لازم برای هر سطح تیمار از کلریدکبالت($CoCl_2.6H_2o$) استفاده شد. ابتدا مقدار کبالت مورد نیاز هر سطح در آب مقطر حل و سپس به گلدان‌های مربوطه اضافه شد. عملیات داشت از قبیل آبیاری، مبارزه با آفات و بیماری‌ها بر طبق نیاز گیاه و به صورت مطلوب انجام شد.

در پایان مرحله بلوغ فیزیولوژیکی، (ازبرگ‌های میانی هر بوته) در هر گلدان نمونه تهیه شد. برای تعیین محتوای کلروفیل ۰/۳گرم برگ تازه در هاون چینی ریخته و ازت مایع به آن اضافه شد. سپس مقداری استن ۸۰ درصد به آن اضافه گردید تا خمیری نرم به دست آید. سپس خمیر به وسیله قیف بوخنر صاف شد، عصاره حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۶۰۰۰ سانتریفوژ شد. در پایان عصاره‌های صاف شده با استن ۸۰ درصد به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شدند. جذب نوری این عصاره‌ها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۶ نانومتر قرائت گردید. برای این کار از یک اسپکتروفتومتر مدل ام ۳۵۰، ساخت شرکت کام اسپکت استفاده شد. تراکم کلروفیل‌های a و b در نمونه‌ها از روابط [۱و ۲] محاسبه گردید (Lichtenthaler and Wellburn, 1983)

$$Ch.a\ (\mu g/ml) = 12.21(A663) - 2.81\ (A646) \qquad [۱]$$

$$Ch.b\ (\mu g/ml) = 20.13\ (A646) - 5.03\ (A663) \qquad [۲]$$

در این دو رابطه : Ch.a = تراکم کلروفیل a، Ch.b = تراکم کلروفیل b، (هردو بر میکروگرم بر میلی‌لیتر (Lichtenthaler and Wellburn, 1983)، A663 = جذب در طول موج ۶۶۳ نانومتر و A646 =جذب در طول موج ۶۴۶ نانومتر است. تراکم کلروفیل کل از جمع تراکم کلروفیل‌های a و b به دست آمد. نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-وکس و اثر کاربرد کلریدکبالت خاک بر تراکم کلروفیل‌ها با استفاده از تجزیه واریانس بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح ۵ درصد انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار STATISTICA 8 استفاده شد. واکنش خاک (pH)، هدایت الکتریکی (EC) و غلظت برخی عناصر در خاک گلدان در جدول ۱ داده شده است خاک بستر آزمایش حاوی کبالت نبود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: واکنش، هدایت الکتریکی وغلظت برخی عناصر در خاک گلدان

مشخصه	pH	EC dS/m	کلN	P قابل جذب	K قابل جذب mg/kg	کبالت*
مقدار	۶/۷۲	۰/۵۴	۰/۰۸	۴/۵	۲/۳	۰۰/۰

*کبالت استخراج شده با DTPA

نتایج و بحث

توزیع داده‌های کلروفیل نرمال بود. کاربرد کلریدکبالت خاک، بر تراکم کلروفیلa و کل در رقم خمین و تلاش موثر بود ($p <$ ۰/۰۵). تأثیر کلریدکبالت خاک بر کلروفیل b در دو رقم لوبیاچیتی خمین و تلاش مؤثر نبود. نتایج مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف کلریدکبالت خاک بر کلروفیل‌های a و b در جدول ۲ داده شده است.

جدول ۲: تجزیه واریانس کاربرد کبالت خاک بر کلروفیلa ، کلروفیل b و کلروفیل کل در لوبیاچیتی رقم خمین و تلاش

تیمار	میانگین مربعات	F	P
کلروفیل a	۴۹/۰۹	۴/۰۰۹	۰.۰۲۱*
کلروفیلb	۱۹۲/۲	۲/۸۸	۰.۰۵۹ns
کلروفیل کل	۴۳۳/۱	۳/۳۱۲	۰.۰۳۹*
تیمار	**میانگین مربعات**	**F**	**P**
کلروفیل a	۴۹/۰۹	۴/۰۰۹	۰.۰۲۱*
کلروفیلb	۱۹۲/۲	۲/۸۸	۰.۰۵۹ns
کلروفیل کل	۴۳۳/۱	۳/۳۱۲	۰.۰۳۹*

ns,**,* به ترتیب نشان دهنده بی اثر، معنی دار بودن در سطح ۵ درصد و معنی دار بودن در سطح ۱ درصد cv=±15.34 رقم خمین، cv=±16.23 رقم تلاش

تیمارهای ۴ و ۵ آزمایش (غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۲۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک) تراکم کلروفیل‌های a و کلروفیل کل را در دو رقم لوبیاچیتی خمین و تلاش نسبت به شاهد کاهش داده است ($p <$ ۰/۰۵). علت کاهش تراکم کلروفیل در غلظت‌های بالای کلریدکبالت خاک، احتمالاً بازدارندگی بیوسنتز کلروفیل تحت تأثیر فلزات سنگین و از جمله

Archive of SID

www.SID.ir

کبالت و یا جانشینی منیزیم موجود در ساختار کلروفیل به وسیله عناصر سنگین است(Stobart *et al.*, 1985, Dubey, 1997).

از علل دیگر کاهش کلروفیل در شرایط تنش فلزات سنگین، تغییر مسیر متابولیسمی به سمت تولید پرولین است، زیرا گلوتامات که پیش‌ساز سنتز کلروفیل و پرولین است به سمت تولید پرولین بیش‌تر می‌رود (Prasad, 1995). ممکن است کاهش تراکم کلروفیل با افزایش غلظت کبالت خاک به دلیل آنتاگونیستی آن بر جذب روی، منگنز و آهن باشد (Baker, 1981). مکانیسم عمل عناصر سنگین بر تراکم کلروفیل متفاوت می‌باشد: عناصر سنگین وارد کلروپلاست شده و در آن‌جا جمع شده و باعث خسارت به غشاهای کلروپلاست می‌شوند (Clemens, 2002). عناصر سنگین می‌توانند به صورت مستقیم از طریق پیوند با آنزیم‌ها باعث تخریب ساختمان و عمل کلروپلاست شوند (Cobbett, 2000).

در این مطالعه، در هر سطح تیمار و در دو رقم لوبیاچیتی خمین و تلاش میانگین تراکم کلروفیل b حدود ۲ برابر تراکم کلروفیل a به دست آمده است (جدول۳). در برخی مطالعات دیگر هم دیده شده است که تراکم کلروفیل b بیش‌تر از تراکم کلروفیل a است (Jayakumar, *et al.*, 2007 , Jaleel *et al.*, 2009).

جدول ۳: مقایسه‌ی میانگین کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل برگ لوبیاچیتی رقم خمین و رقم تلاش در تیمارسطوح مصرف کبالت

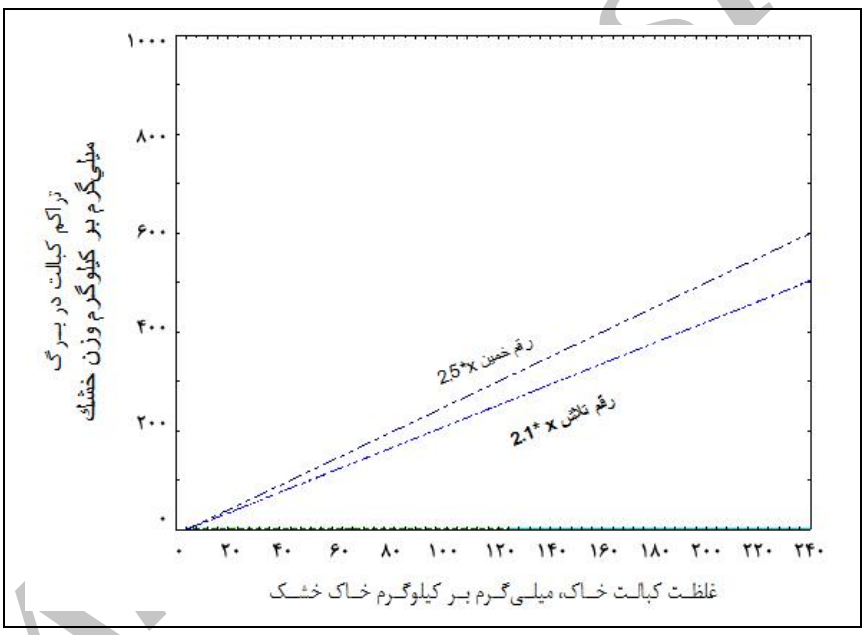
تیمار	کلریدکبال (mg/kgت)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل رقم خمین
		(µg/ml)		
۱، شاهد	۰	۱۵/۵۴ a	۳۰/۷۹ a	۴۶/۳۵ a
۲	۲۰	۱۸/۵۰ a	۳۶/۶۴ a	۵۴/۴۲ a
۳	۷۰	۱۵/۲۴ a	۲۷/۹۱ a	۴۳/۱۶ a
۴	۱۵۰	۱۱/۶۲ b	۲۳/۶۴ b	۳۵/۲۶ b
۵	۲۲۰	۹/۶۱ b	۱۸/۰۴ b	۲۷/۶۵ b
۱، شاهد	۰	۱۵/۹۶ a	۲۸/۳۷ a	۴۴/۳۴ a
۲	۲۰	۱۵/۵۴ a	۲۹/۹۴ a	۴۴/۹۹ a
۳	۷۰	۱۸/۵۰ a	۳۶/۲۷ a	۵۷/۷۸ a
۴	۱۵۰	۱۱/۲۵ b	۲۳ b	۳۴/۲۵ b
۵	۲۲۰	۹/۲۵ b	۱۷/۵ b	۲۶/۷۵ b

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ است.

Archive of SID

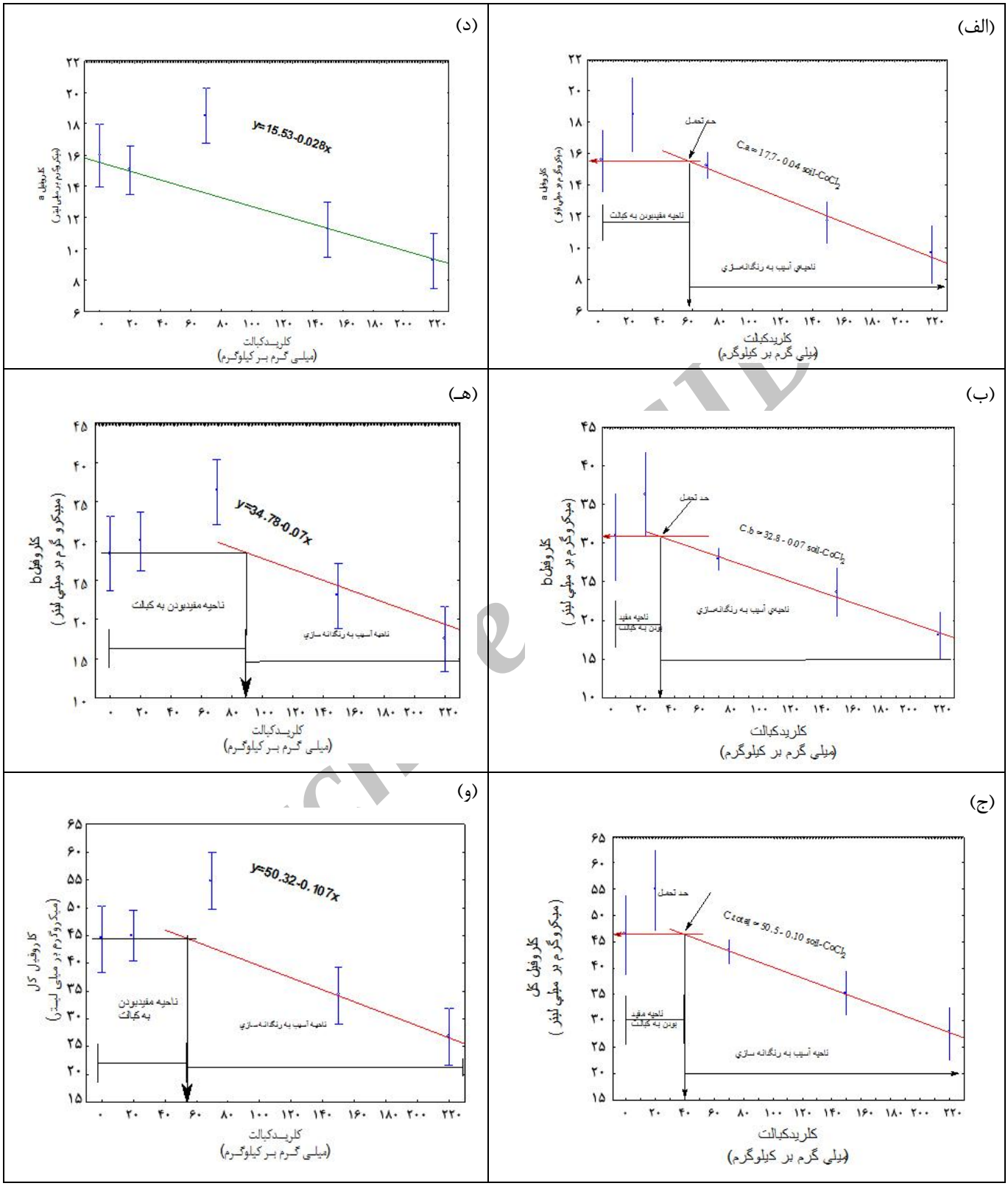
www.SID.ir

شکل ۱ رابطه‌ی خطی بین تراکم کبالت در برگ لوبیاچیتی خمین و تلاش را در برابر کبالت خاک نشان می‌دهد. با افزایش غلظت کبالت تراکم کبالت در برگ ارقام لوبیاچیتی بالا رفته است. تراکم بیش‌تر کبالت در غلظت‌های بالا در برگ لوبیاچیتی در واقع یکی از دلایل کاهش در تراکم کلروفیل می‌باشد. این بدان مفهوم است که کبالت در غلظت‌های بالا نظیر دیگر عناصر سنگین سمی بوده و سبب کاهش در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی می‌شود. تراکم کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل در برگ لوبیاچیتی رقم خمین و تلاش در برابر کلریدکبالت خاک در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۲ مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت کلریدکبالت خاک ابتدا تراکم کلروفیل‌ها کمی بالا رفته (اگر چه این افزایش در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار نیست) و سپس کاهش می‌یابد.



شکل ۱: رابطه‌ی خطی بین کبالت خاک و تراکم کبالت در برگ لوبیا چیتی رقم خمین و تلاش

www.SID.ir



شکل ۲: تأثیر غلظت‌های مختلف کلریدکبالت خاک بر تراکم کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب) و کلروفیل کل (ج) رقم خمین (سمت راست)، کلروفیل a (د)،کلروفیل b (هـ) و کلروفیل کل (و) رقم تلاش (سمت چپ). کلریدکبالت (میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کلروفیل (میکروگرم بر میلی‌لیتر). میله‌های خطا ± خطای معیار را نشان می‌دهند.

www.SID.ir

از آن جایی که این روند برای کلروفیل‌های a و b مشابه است به نظر می‌رسد که غلظت کم کلریدکبالت در خاک اثر مثبت و غلظت زیاد آن اثر منفی بر تراکم کلروفیل‌ها داشته است. به منظور جداسازی مرز این دو ناحیه، محل تقاطع بهترین خط عبوری از میانگین تیمارهای ۳ تا ۵ با خط افقی عبوری از میانگین تیمار ۲ مشخص شده و به عنوان مرز دو ناحیه غیر مضر (حداقل مفید) و ناحیه آسیب کبالت خاک پیشنهاد شد (شکل ۲).

با توجه به شکل ۲ به نظر می‌رسد که غلظت‌های حدود ۶۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حد تحمل کلریدکبالت خاک به ترتیب برای کلروفیل‌های a و b در لوبیا چیتی رقم خمین هستند. غلظت‌های بیش‌تر از این حدود به ساخت کلروفیل‌های a و b آسیب می‌زند و محصول را کاهش می‌دهد. در غلظت‌های کم‌تر از این حدود، کبالت خاک آسیبی به رنگ‌دانه‌سازی و تولید در لوبیا چیتی نمی‌زند و حتی احتمال می‌رود اثر مثبتی بر رنگ‌دانه‌سازی بگذارد. برای کلروفیل کل مرز بین دو ناحیه مفید (یا غیر مضر) و مضر بودن کبالت (حد تحمل) حدود ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک تخمین زده می‌شود.

جدول تجزیه واریانس ۲ نشان داد که غلظت ۷۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک در مقایسه با شاهد اثر معنی‌داری بر رنگ‌دانه‌سازی نگذاشته است و کاهش معنی‌دار از غلظت‌های بیش‌تر کلریدکبالت به ویژه از ۱۵۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک شروع می‌شود. با این حال تجزیه واریانس قادر به تشخیص حد تحمل و نقطه‌ی شروع اثر منفی نیست مگر آن که تعداد سطوح تیمارهای آزمایشی زیاد بوده و در بازه‌ی تیمارهای آزمایشی به خوبی پراکنده باشند. استفاده از تجزیه و تحلیل نموداری تا حدی این مشکل را برطرف می‌سازد. همان طور که از شکل ۲ استنباط می‌شود تأثیر منفی کلریدکبالت خاک بر کلروفیل کل از غلظت ۴۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک شروع می‌شود. زیرا در این نقطه تراکم کلروفیل نسبت به شاهد کم‌تر خواهد بود. هرچند اثرات عوامل تصادفی و کنترل نشده محیطی اجازه نمی‌دهد این تأثیر تا غلظت‌های بیش‌تر معنی‌دار شود. بر اساس نمودارهای شکل ۲ احتمالاً اثر منفی معنی‌دار کبالت از غلظت حدود ۱۰۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک شروع خواهد شد (شکل۲). معادله‌ی رگرسیون بهترین خط در ناحیه‌ی آسیب کبالت روی هر خط نوشته شده است. شیب خطوط برای کلروفیل a و b و کلروفیل کل به ترتیب ۰/۰۴-، ۰/۰۷- و ۰/۱۰- است. این شیب‌های منفی نشان دهنده‌ی شدت حساسیت یا شدت کاهش سنتز کلروفیل (به میکروگرم بر میلی‌لیتر) به ازای افزایش هر میلی‌گرم کلریدکبالت در هر کیلوگرم خاک است. این شیب‌ها نشان می‌دهند که ساخت کلروفیل b نسبت به ساخت کلروفیل a به اثرات سمی کبالت در سطوح بالاتر حساس‌تر است. همچنین در شکل ۲ معادلات رگرسیون برای تراکم کلروفیل a و b و کلروفیل کل در برگ لوبیاچیتی رقم تلاش نشان داده شده است. حد تحمل غلظت کبالت خاک برای کلروفیل b وکلروفیل کل رقم تلاش به ترتیب ۹۰ و ۵۵ میلی‌گرم کبالت بر کیلوگرم خاک است. شیب خطوط به دست آمده برای کلروفیل a و b و کل

Archive of SID

www.SID.ir

به ترتیب ۰۲/۰-، ۰/۰۷- و ۰/۱۰۷- (شکل ۲). با توجه به مقایسه شیب خطوط رگرسیون برای لوبیاچیتی رقم تلاش کلروفیل b دارای حساسیت بالاتری نسبت به کلروفیل a در برابر غلظت‌های بالای کبالت از خود نشان می‌دهد.

لوبیاچیتی رقم تلاش نسبت به رقم خمین با توجه به این که دارای طول دوره رشد بالاتری می‌باشد قادر به تحمل حد بیش‌تری از کبالت است (شکل ۲). ولی بین حساسیت کلروفیل b نسبت به غلظت بالای کبالت در برگ دو رقم تلاش و خمین نتیجه یکسانی به دست آمده است. این نتیجه با نتیجه (Chatterjee *et al.*, 2006) در تضاد است. البته باید توجه داشت که (Chatterjee *et al.*, 2006) با کار روی لوبیا سبز دریافتند که کلروفیل a نسبت به کلروفیل b به اثر سمی کبالت حساس‌تر است. این بدان معنی است که دو گیاه لوبیا سبز و لوبیا چیتی از نظر حساسیت کلروفیل‌ها به اثر سمی کبالت متفاوت هستند.

افزایش غلظت کبالت خاک جذب آهن را در گیاهان کاهش داده و باعث کاهش فتوسنتز، کاهش فضای بین سلولی، تخریب ساختمان کلروپلاست می‌شود (Lambert and Blincoe, 1971). تغییر در تراکم کلروفیل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف دیگر عناصر سنگین گزارش شده است و اثر فلز سنگین مس خاک، بر کاهش تراکم کلروفیل در گیاه ذرت (Mocquot *et al.*, 1996). نقش کاهنده کلرید مس خاک، بر تراکم کلروفیل در کلزا گزارش شده است (قربانعلی و همکاران، ۱۳۸۵). تأثیر کادمیوم در غلظت‌های بالا به عنوان یک عنصر سنگین باعث کاهش تراکم در کلروفیل برگ‌های گیاه کلزا شد (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۵).

نتیجه‌گیری

اگرچه معلوم نیست کبالت عنصری ضروری برای لوبیاچیتی باشد، ولی ممکن است در غلظت‌های کم حداقل برای آن و رنگ‌دانه‌سازی لوبیا چیتی مفید باشد. به نظر می‌رسد وجود مقادیر جزئی از کبالت در خاک‌های زراعی می‌تواند تحریک و سنتز کلروفیل را افزایش دهد (شکل ۲). هنوز مفهوم روشنی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی که مسئول بازدارندگی رشد در پاسخ به این تنش‌ها هستند، معرفی نشده‌اند. از این رو، انجام بررسی‌های دقیق بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برای رسیدن به نتایج قطعی ضروری به نظر می‌رسد.

پیشنهاد می‌شود که در پژوهش‌های آینده سطوح بیش‌تری از کلریدکبالت در آزمایش‌ها گنجانده شود تا اطلاعات بیش‌تری از حد مفید و حد تحمل کبالت خاک بر سنتز کلروفیل در لوبیا چیتی حاصل شود. سطوح پیشنهادی ما برای لوبیا چیتی شامل ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک است. گنجاندن یک سطح ۱۰۰ میلی‌گرم کلریدکبالت بر کیلوگرم خاک فرضیه‌ی ما را که کاهش معنی‌دار رنگ‌دانه‌سازی در آن حدود صورت می‌گیرد خواهد آزمود. برخی از نتایج پژوهش فعلی مانند حدهای تحمل و شدت حساسیت احتمالاً محدود به ویژگی‌های خاک

Archive of SID

www.SID.ir

گلدان به کار رفته در این آزمایش است. در خاک‌های دیگر برخی از این یافته‌ها دقیق نخواهد بود. بنابراین اعمال سطوح آزمایش پیشنهادی در خاک‌هایی با pH و EC متفاوت از خاک گلدان به کار رفته در این آزمایش مطلوب است.

منابع

- **حاتمیان زارعی، ا.، ۱۳۷۹**. زیست سالم سازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن (آروماتیک و جذب حلقه‌ای). پایان نامه کارشناسی ارشد آلودگی محیط زیست. دانشگاه تربیت مدرس.

- **سلطانی، ف.، قربانعلی، م.، و منوچهری کلانتری، خ.، ۱۳۸۵**. اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۱۹، شماره ۲.

- **قربانعلی، م.، میقانی، ف.، و اسدالهی، ب.، ۱۳۸۵**. اثر تنش مس‌کلرید بر غلظت کلروفیل، انباشتگی کربوهیدرات و برخی از شاخص‌های رشد در دو رقم کلزا (*Brassica napus*L.). پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، شماره ۷۶.

- **مجنون حسینی، ن.، ۱۳۸۷**. حبوبات در ایران. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران. چاپ چهارم. صفحه ۱۶۰.

- Baker, A.J., 1981. Accumulation and excluders' strategies in the response of plants to heavy metals. Journal of Nutrition, 3: 643-645.

- Bouyoucos, C.J., 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agronomy Journal, 54: 464-465.

- Bremner, J.M., and Mulvaney, C.S., 1982. Nitrogen-total. In: Page AL Miller RH, Keene DR (eds), Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, 595-624.

- Chatterjee. C., Gopal, R., and Dub, B.K., 2006. Physiological and biochemical responses of French bean to excess cobalt. Journal of Nutrition, 29: 127-136**.**

- Clemens, M., Palmgren, G., and Kramer, U., 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. Trends in Plant Science, 7: 309-315.

- Cobbett, C.S., 2000. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. Plant Physiology, 123: 825-832.

- Dubey, R.S., 1997. Phtosynthesis in the plant under stressful conditions. In: Pessarakli: M, (ed) Handbook of photosynthnesis. Dekker, New York. 856-876.

- El-Sheekh, M.M., El-Nagger, A.H., Osman, M.E.H., and El-Mazaly, E., 2000. Effect of cobalt on growth, pigments and the photosynthetic electron transport in *Monoraphidium minutum* and *Nitzchia perminuta*. Journal of Plant Physiology, 15-159.

Archive of SID

www.SID.ir

- Gabrielli, R., and Mattioni, V.O., 1991. Accumulation mechanism and heavy metal tolerance of nickel hyperaccumulator. Journal of Plant Nutrition, 14: 1067-1080.

- Hallova, H., Sozudogrus, S., and Taban, S., 2009. Effect of cobalt on some physiological parameters of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Asian Journal of Chemistry, 21(4): 3307-3309.

- Ibrahim, A., El-Abd, S.O., and El-Beltage, A.S., 1989. A possible role of cobalt in salt tolerance of plant. Egypt Journal of Soil Science, 359-370.

- Jaleel, A.C., Jayakumar, K., Chang-xing, Z., Azooz, M.M., 2009. Antioxidant protentials protect (*Vigna radiate* L.) wilczek plants from soil cobalt stress and improve growth and pigment composition. Plant Omics Journal, 2(3): 120-126.

- Janzen, H.H., 1993. Soluble salts. In: Carter MR (ed), Soil sampling and methods of analysis. Lewis, Boca Ratoon, FL, 161-166.

- Jayakumar, K., Jaleel, A.C., and Vijayarengan, P., 2007. Changes in growth, biochemical constituents, and antioxidant potentials in radish (*Raphanus sativa* L.) under cobalt stress. Turkish Journal of Botany,31: 127-136.

- Jayakumar, K., Jaleel, A.C., Azooz, M., Vijayarengan, P., Gomathinayam M, and - Panneerselvam, R., 2009. Effect of different concentrations of cobalt on morphological parameters and yield components of soybean. Global Journal of Molecular Sciences, 4(1): 10-14.

- Kandil, H., 2007. Effect of cobalt fertilizer on growth, yield and nutrients of Faba bean (*Vicia faba* L.) plants. Applied Sciences, 3(9): 876-872.

- Kupper, H., Kupper, F., and Spiller, V., 1996. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plant. Journal of Exprimental Botany, 47: 259-266.

- Lambert, T.L., and Blincoe, C.C., 1971. High concentration of cobalt in wheat grasses. Journal of Science and Food Agriculture, 22: 8-9.

- Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls and a and b of extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591-592.

- Lindsay, W.L., and Norvell, W.A., 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil Science Socity of America Journal, 42: 421-428.

Archive of SID

www.SID.ir

- Mishra, S., Srivastava, S., and Tripathi, P.D., 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in (*Baccopa monnieri* L.). Journal of Physiology and Biochemistry, 44: 25-37.

- Mocquot, B., Vangronsveld, J., Clijestres, J., and Menchn, H., 1996. Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: Effect on growth, mineral, chlorophyll contents and enzyme activities. Plant and Soil, 182: 287-300.

- Olsen, S.R., and Sommers, L.E., 1982. Phosphorus. In: Page AL Miller RH, Keeney DR (eds), Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and microbiological properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, 403-430.

- Parmar, G., and Chanda, V., 2005. Effects of mercury and chromium on peroxidase and IAA oxidase enzymes in the seeding of (*Phaseolus vulgaris*). Turkish Journal of Biology, 29: 15-21.

- Prasad, M.N.V., 1995. The inhibition of maize leaf chlorophylls, carotenoids and gas exchange functions by cadmium. Photosynthetica, 31: 635-640.

- Rahman Khan, M., and Mahmud Khan, M., 2010. Effect of varying concentration of nickel and cobalt on the plant growth and yield of chick pea. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 4(6): 1036-1046.

- Rajurkar, N.S., and Damame, M.M., 1998. Mineral content of medicinal plant used in the treatment of diseases resulting from urinary tract disorders. Applied Radiation and Isotopes, 49(7): 773-776.

- Samaryoon, A.B., and Rauser, W.E., 1979. Carbohydrate level and photoassimilation export from leaves of *Phaseolus vulgaris* exposed to excess cobalt, nickel and zinc. Plant Physiology, 63: 1165-1169.

- Simard, R.R., 1993. Ammonium acetate-extractable elements. In: Carter MR (ed), Soil sampling and methods of amalysis, Boca Raton, FL, USA, Lewis Publishers, 39-420.

- Stobart, A.K., Ameen, J., Bukhart, R., and Sherwood, P., 1985. The effect of Ca^{+2} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. Physiologia Plantarum, 63: 293-298.

Archive of SID

www.SID.ir