

بررسی قابلیت جذب یون‌های روی و نقره توسط گیاهچه‌های از مک (*Lepidium draba L.*) و تأثیر این یون‌ها بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه‌ها

علی ریاحی مدوار^{۱*} Ph.D.، معین الدین نصیری بزنجانی^۲ M.Sc.، کبری یوسفی^۳ M.Sc.، مهدی محمدی^۴ M.Sc.

۱- دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، پژوهشکده علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی، کرمان، ایران
۲- دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، گروه بیوتکنولوژی، کرمان، ایران
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: riahi.ali@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۵

چکیده

هدف: هدف از انجام این تحقیق، بررسی توانایی گیاهچه‌های از مک (*Lepidium draba L.*) در حذف یون‌های روی و نقره از محیط کشت بود.

مواد و روش‌ها: بذره‌های این گیاه در محیط MS جامد به مدت ۱۵ روز در حضور غلظت‌های متفاوت دو یون نقره و روی کشت داده شدند. تجمع زیستی این فلزات در گیاهچه‌ها توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی گیاهچه‌ها از قبیل فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دسموتاز، محتوی فلاونوئید کل، درصد جوانه‌زنی و طول ریشه و ساقه در تیمار با این یون‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان دهنده توانایی جذب هر دو فلز توسط گیاهچه‌های از مک می‌باشد، به طوری که با افزایش غلظت فلزات در محیط کشت میزان جذب آن‌ها نیز افزایش یافت. از طرف دیگر، محتوی فلاونوئید کل و همچنین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دسموتاز با افزایش غلظت فلز در محیط افزایش یافت. در تیمار با یون نقره میزان جوانه‌زنی بذرها افزایش نشان داد، در حالی که در تیمار با فلز روی، میزان جوانه‌زنی بذرها نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اگرچه طول ساقه در گیاهچه‌های تیمار شده با یون نقره به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود، رشد ریشه کاهش نشان داد. رشد ریشه و ساقه در گیاهچه‌های تیمار شده با یون روی به‌ویژه در غلظت‌های بالا به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد می‌توان گیاه از مک را به‌عنوان گزینه مناسبی جهت پالایش فلزات مذکور در مناطق آلوده معرفی نمود.

واژگان کلیدی: از مک، روی، کاتالاز، گیاه پالایی، نقره

مقدمه

حضور ترکیبات سمی از قبیل فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست محیطی در بسیاری از نقاط کره زمین می‌باشد (۱). فلزات سنگین از طریق فعالیت‌های بشر، احتراق سوخت‌های فسیلی، تصفیه سنگ‌های حاوی فلز، فاضلاب‌های شهری، آفت-کش‌ها، مواد رنگی و باتری‌ها و فرسایش طبیعی سنگ‌ها می‌توانند به محیط زیست وارد شوند (۲).

قرار گرفتن گیاهان در معرض سطوح سمی فلزات سنگین، باعث طیف گسترده‌ای از تغییرات فیزیولوژیک و متابولیک می‌شود (۳) و (۴). در حضور فلزات سنگین عواملی نظیر کلروز برگ‌ها، نکروز، اختلال در تنفس میتوکندریایی، پیشرفت فرآیند پیری یا مرگ سلولی سبب کاهش رشد گیاه می‌شوند (۵ و ۶). علاوه بر این، قرار گرفتن گیاهان در معرض شرایط تنش باعث افزایش سطح اتیلن می‌شود که در مسیرهای مختلف پاسخ به تنش از جمله پیری اثر می‌گذارد (۷). یکی دیگر از نتایج سمیت فلزات سنگین، تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (Reactive Oxygen species, ROS) در داخل سلول می‌باشد. فعالیت ROSها منجر به اختلالاتی از قبیل آسیب به اسیدهای چرب، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها تولید شده در سلول‌ها می‌شود که فرآیند پیری را با همکاری اتیلن و متیل جاسمونات افزایش می‌دهند. در مقابل، گیاهان برای مقابله با استرس فلزات سنگین، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیر آنزیمی را فعال می‌نمایند (۸).

گیاه پالایی، یکی از روش‌های زیست پالایی خاک‌ها است که به دلیل سادگی، ارزان بودن و امکان بهره‌گیری در سطح وسیع نسبت به سایر روش‌ها در دهه‌های اخیر به آن توجه زیادی شده است. در این روش از گیاهان مقاوم، جهت پالایش خاک‌های آلوده به ترکیبات آلی و معدنی به‌ویژه برای سیستم‌هایی که غلظت آلاینده‌های آن‌ها کم است استفاده می‌گردد (۹-۱۲).

گیاهان از روش‌های مختلف برای مقابله با اثرات سمی فلزات و شبه فلزات استفاده می‌کنند. مقاومت در برابر استرس فلزات سنگین را می‌توان با اجتناب (avoidance) هنگامی که گیاهان قادر به محدود کردن جذب فلز باشند، یا به‌وسیله مقاومت (tolerance) هنگامی که گیاه برای زنده ماندن در معرض غلظت بالای فلزات داخلی قرار می‌گیرد، به دست آورد. اجتناب شامل کاهش غلظت فلز داخل سلولی به‌وسیله رسوب خارج سلولی، جذب به دیواره سلول، کاهش جذب است. از مهم‌ترین

مکانیسم‌های دخیل در مقاومت می‌توان به افزایش محتوی اسیدهای آمینه و اسیدهای آلی، اتصال فلزات به لیگاند‌هایی از قبیل متالوتیونین‌ها، فیتوکلاتین‌ها، تجمع آن‌ها در محفظه درون واکوئل و همچنین تنظیم بالای دفاع آنتی‌اکسیدانتی، جهت مقابله با اثرات زیان بار ناشی از آزاد سازی ROSها اشاره نمود (۱۳-۱۵).

روی، یک عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان است که در بسیاری از فرآیندهای متابولیسمی شرکت می‌کند. ولی مقادیر خیلی کم یا زیاد آن، موجب اختلال در فرآیندهای مهم متابولیسمی و در نتیجه توقف یا کاهش رشد گیاهان می‌شود (۱۶). این عنصر در فعالیت آنزیم‌ها، بیوسنتز کلروفیل، اکسین، پروتئین و کربوهیدرات و همچنین متابولیسم لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و استحکام غشا شرکت دارد (۱۷). همچون سایر فلزات سنگین هنگامی که مقدار آن در خاک زیاد باشد نهایتاً در بافت‌های گیاهی تجمع می‌یابد، بسته به گونه گیاهی موجب تغییر در برخی فرآیندهای متابولیکی گیاه شده و از این طریق در رشد و نمو گیاهان اختلال ایجاد می‌کند (۱۸). علائم سمیت روی در گیاهان شامل کاهش تولید محصول، توقف رشد، کاهش سنتز کلروفیل، تجزیه کلروپلاست و اختلال در جذب فسفر، منیزیم و منگنز می‌باشد (۱۹). اطلاعات منتشر شده نشان می‌دهد که روی زیادی باعث استرس اکسیداتیو به‌وسیله افزایش تولید ROSها و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (۲۰).

نقره با وزن مولکولی ۱۰۷/۸۶۸ گرم بر مول و چگالی ۱۰/۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب از گروه فلزات سنگین است. مهم‌ترین فرم آن در طبیعت به صورت نیتراته است ولی برای رشد گیاهان ضروری نمی‌باشد. نیترات نقره نقش مهمی در جنین‌زایی سوماتیکی، شکل‌گیری ریشه و ساقه بازی می‌کند و در محیط کشت باعث فراوانی باززایی و افزایش شکل‌گیری کالوس می‌شود (۲۱). ولی افزایش آن در محیط کشت می‌تواند باعث القای تنش اکسیداتیو در گیاهان شود (۲۲).

از مک گیاه دولپه‌ای و از خانواده شب‌بو (Brassicaceae) است که به‌عنوان یک علف هرز شناخته شده است. این گیاه، بومی آسیا و اروپا بوده و دارای دو گونه *L. draba subsp. draba* و *L. draba subsp. chalapense* می‌باشد که هر دو گونه در ایران گزارش شده‌اند (۲۳). بررسی تجمع عناصر سنگین توسط گیاهان مختلف جمع‌آوری شده نشان داد که مقادیر زیادی از عناصر سرب، آهن، منگنز و مس در اندام‌های هوایی این گیاه

تجمع می‌یابد (۲۴).

در این تحقیق، میزان جذب دو فلز سنگین نقره و روی توسط گیاهچه‌های از مک در محیط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، اثر این فلزات بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع آوری بذر و کشت گیاه: بذره‌های مورد استفاده در این تحقیق، از گیاهان رشد کرده در اطراف معدن مس سرچشمه کرمان جمع‌آوری و به وسیله اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۱۵ دقیقه به صورت سطحی ضد عفونی شدند. از بذره‌های ضد عفونی شده، تعداد ۳۰ عدد در پلیت‌هایی با قطر ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر در حضور غلظت‌های مختلف یون نقره ($AgNO_3$) (صفر، ۲۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و روی ($ZnSO_4$)، (صفر، ۲۵، ۱۰۰ و ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در (PH=۷) در محیط موراشیگ-اسکوگ (MS) کشت داده شدند (۲۵). پلیت‌ها به ژرمیناتور با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، شرایط نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی و رطوبت نسبی 56 ± 2 درصد منتقل شدند. بعد از گذشت ۱۵ روز گیاهچه‌ها از سطح محیط جمع‌آوری و بعد از شستشو و آبکشی به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول جهت اندازه‌گیری جذب فلز، در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آن خشک شدند. گروه دوم که برای اندازه‌گیری محتوی فلاونوئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مورد استفاده قرار گرفتند، بلافاصله پس از آبکشی در حضور نیتروژن مایع منجمد و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان جذب فلزات توسط گیاهچه‌های از مک:

به منظور بررسی مقدار فلز جذب شده توسط گیاهچه‌های از مک، مقدار ۵۰ میلی‌گرم از گیاهچه‌های خشک شده توسط هاون به خوبی ساییده و در ۱۵ میلی‌لیتر اسیدنیتریک ۶۵ درصد حل گردید. مقدار این عناصر به وسیله دستگاه طیف سنج جذبی اتمی شعله‌ای (Varian SpectraAA 220) اندازه‌گیری شد (۲۶).

اندازه‌گیری محتوی فلاونوئید: محتوی فلاونوئید گیاهچه‌های شاهد و تیمار شده بر اساس روش کریزک و همکاران (۲۷) انجام

گرفت. به این منظور، مقدار ۰/۲ گرم از بافت تر در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (شامل الکل اتیلیک ۹۵ درصد و اسید استیک گلیسالی به نسبت ۱:۹۹) ساییده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با دور rpm ۱۰۰۰۰ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفنومتر (Varian, Cary 50Australia) اندازه‌گیری شد. با استفاده از فرمول $A = \epsilon CL$ (A، میزان جذب؛ ϵ ، ضریب خاموشی؛ C، غلظت و L، طول مسیر نور) و ضریب خاموشی $1-1mm-3300cm$ محتوی فلاونوئید کل محاسبه و محتوی آن بر حسب $\mu M/g$ FW گزارش گردید.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت:

عصاره‌گیری آنزیم‌ها: به منظور عصاره‌گیری آنزیم‌ها، مقدار ۰/۵ گرم بافت تر در بافر ۵۰ mM پتاسیم فسفات (PH=۷/۵) که حاوی پلی وینیل پیرولیدون (PVP) ۱ درصد و یک میلی‌مولار EDTA بود، ساییده شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور rpm ۱۱۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جهت اندازه‌گیری محتوی پروتئینی و بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مورد استفاده قرار گرفت (۲۸).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD):

مخلوط واکنش شامل (۳ mL) بافر ۵۰ mM HEPES-KOH (pH=۷/۸) حاوی ۰/۱ mM EDTA، ۵۰ mM Na_2CO_3 ، ۱۲ mM L-Methionine، ۷۵ μM Nitro Blue (NBT)، ۱ μM Riboflavin و عصاره آنزیمی بود.

یک واحد فعالیت SOD عبارت است از مقدار آنزیمی که منجر به مهار ۵۰ درصد احیا NBT در ۵۶۰ نانومتر گردد که به ازای میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی محاسبه می‌شود (۲۸). آنزیم SOD، NBT محلول در آب را مصرف و آن را از طریق رادیکال سوپراکسید به NBT-diformazan رنگی تبدیل می‌کند، یعنی با احیا آنیون سوپراکسید، فورمازان رنگی محلول در آب تولید می‌نماید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT):

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 به روش Dhindsa و همکاران محاسبه گردید (۲۹). سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2

آنالیز آماری: کلیه آزمایش‌ها با سه تکرار مستقل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن (Duncan test) و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۰/۰۵ P با استفاده از نرم افزار SAS، مورد تجزیه واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) قرار گرفتند.

نتایج

جذب فلزات توسط گیاهچه‌های از مک

همان‌طور که در شکل ۱، A قابل مشاهده است، میزان جذب یون نقره توسط گیاهچه‌ها هم‌هنگ با افزایش غلظت این یون در محیط افزایش یافته است.

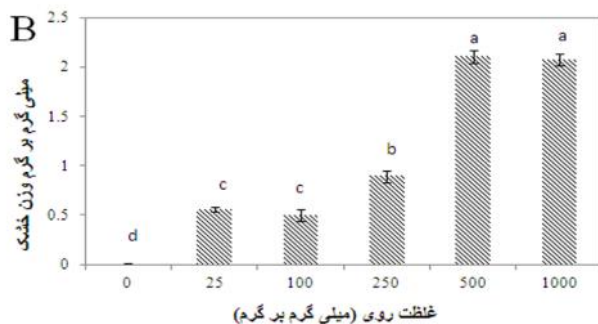
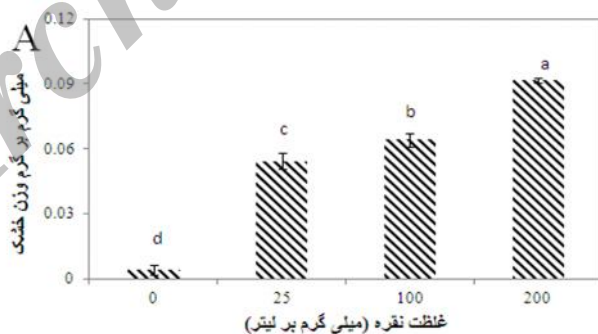
روند مشابهی برای جذب روی در گیاهچه‌های رشد کرده در محیط حاوی این فلز مشاهده گردید. میزان جذب یون روی توسط گیاهچه‌های از مک بیانگر افزایش جذب آن هم‌هنگ با افزایش غلظت این یون تا غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در محیط است، اما با افزایش غلظت آن در محیط میزان جذب آن در مقایسه با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تغییر معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱، B).

در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش با استفاده از ضریب خاموشی $1\text{ mM}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره در مدت زمان یک دقیقه محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مول آب اکسیژنه را در یک دقیقه تجزیه می‌کند.

سنجش محتوی پروتئین محلول کل: غلظت پروتئین کل عصاره‌های گیاهی توسط روش Bradford محاسبه گردید (۳۰). از سرم آلبومین گاوی (BSA) به عنوان استاندارد استفاده و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری خصوصیات مورفولوژیک:

جوانه‌زنی بذر: تعداد بذرهای جوانه زده (حداقل طول هیپوکوتیل حدود ۱ میلی‌متر) هر روز شمارش و یادداشت شد. جوانه زنی بذر بر اساس درصد جوانه‌زنی بذر در روز چهارم گزارش گردید.

اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه گیاهچه‌های تیمار شده: از سه پلیت حاوی ۳۰ گیاه، ۲۰ گیاهچه (۱۵ روزه)، به‌طور تصادفی انتخاب گردید. طول ریشه از محل یقه تا نوک ریشه و طول ساقه از محل یقه تا جوانه راس با استفاده از خط‌کش با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌متر گزارش شد.

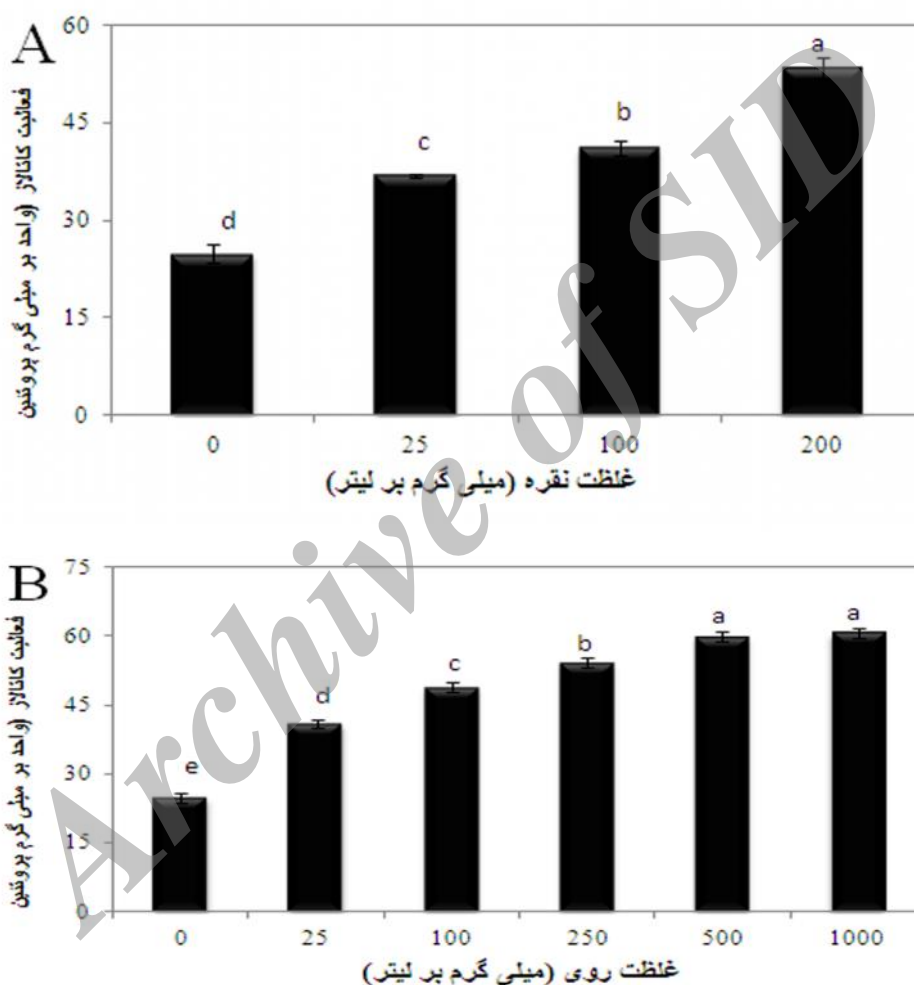


شکل ۱: میزان جذب یون نقره (A) و روی (B) توسط گیاهچه‌های ۱۵ روزه ازمنک. داده‌ها بر اساس میانگین نتایج \pm انحراف معیار (SD) گزارش گردیدند. حروف کوچک بالای نمودارها نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نتایج در سطح ۵ درصد است.

فعالیت آنزیم کاتالاز

در گیاهچه‌های تیمار شده با غلظت‌های متفاوت یون روی، نیز افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده گردید ولی با افزایش غلظت این یون در محیط فعالیت این آنزیم افزایش نیافت (شکل ۲، B).

در گیاهچه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف یون نقره، فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. همان‌طور که در شکل ۲، A مشاهده می‌شود، افزایش فعالیت آنزیم هم‌هنگ با افزایش غلظت این یون در محیط می‌باشد.



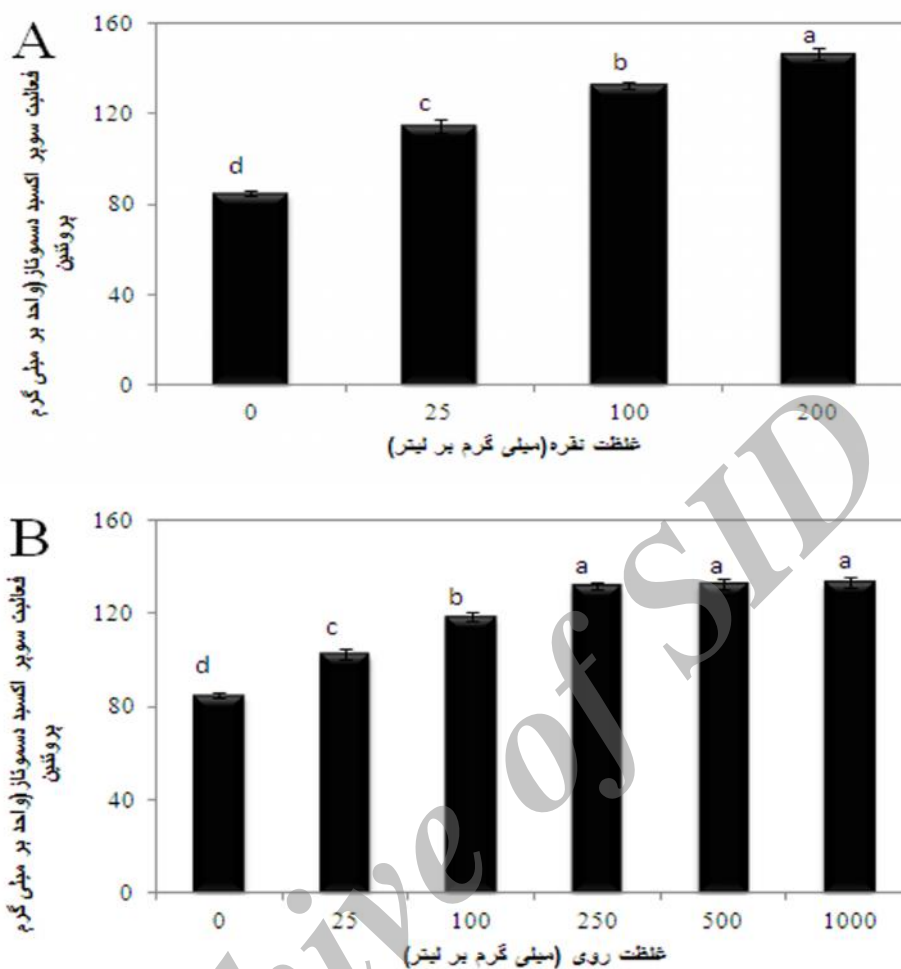
شکل ۲: فعالیت آنزیم CAT در گیاهچه‌های ازمنک تیمار شده با غلظت‌های مختلف یون‌های نقره (A) و روی (B). داده‌ها بر اساس میانگین نتایج \pm انحراف معیار (SD) گزارش گردیدند. حروف کوچک بالای نمودارها نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نتایج در سطح ۵ درصد است.

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز

غلظت این یون در محیط هم‌هنگ بود (شکل ۳، A). فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های تیمار شده با غلظت‌های متفاوت یون روی نیز در مقایسه با گیاه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد (شکل ۳، B). فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار با این یون تا غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌صورت هم‌هنگ بود، در حالی که

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در گیاهچه‌های تیمار شده با یون نقره نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان داد. به‌طوری‌که افزایش فعالیت این آنزیم با افزایش

تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم در تیمار با غلظت‌های بالاتر روی در مقایسه با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نشد.



شکل ۳: فعالیت آنزیم SOD در گیاهچه‌های ازمنک تیمار شده با غلظت‌های مختلف یون‌های نقره (A) و روی (B). داده‌ها بر اساس میانگین نتایج \pm انحراف معیار (SD) گزارش گردیدند. حروف کوچک بالای نمودارها نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نتایج در سطح ۵ درصد است.

محتوی فلاونوئید کل

در گیاهچه‌های تیمار شده با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر یون نقره، محتوی فلاونوئید کل نسبت به نمونه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد. در حالی که در غلظت‌های بالاتر این یون، محتوی فلاونوئید کل نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۱). همچنین محتوی فلاونوئید کل گیاهچه‌های تیمار شده با یون روی در تمامی غلظت‌ها در مقایسه با نمونه شاهد به طور معنی‌داری (به جز پایین‌ترین غلظت) افزایش نشان داد (جدول ۲).

محتوی پروتئین کل

مقدار پروتئین کل گیاهچه‌های تیمار شده با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر یون نقره نسبت به نمونه شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت، در حالی که در تیمار با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این یون، کاهش معنی‌دار محتوی پروتئین نسبت به نمونه شاهد مشاهده گردید (جدول ۱). همچنین مقدار پروتئین کل گیاهچه‌های تیمار شده با یون روی در همه غلظت‌ها به طور معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد کاهش نشان داد (جدول ۲).

میزان جوانه‌زنی

افزایش درصد جوانه‌زنی در تیمار بذرها با یون نقره در تمامی غلظت‌ها مشاهده گردید، اما این افزایش تنها در بالاترین غلظت یون نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بود (جدول ۱). میزان

جوانه‌زنی بذرها در تیمار با یون روی مشابه نمونه شاهد بود و مشاهده نگردید (جدول ۲).

تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نسبت به نمونه شاهد

جدول ۱: محتوی فلاونوئید، پروتئین کل و درصد جوانه‌زنی نمونه شاهد و گیاهچه‌های تیمار شده ازمک با غلظت‌های متفاوت یون نقره. میانگین داده‌ها از سه تکرار مستقل توسط آزمون دانکن مورد تجزیه واریانس یک عاملی قرار گرفتند. داده‌ها بر اساس میانگین نتایج \pm انحراف معیار (SD) گزارش گردیدند. در هر ستون حروف متفاوت بیانگر معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

غلظت یون نقره (میلی‌گرم بر لیتر)	جوانه‌زنی (درصد)	محتوی فلاونوئید (میکرومولار بر میلی‌گرم)	پروتئین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
۰	۸۶/۷ \pm ۱/۴۴ ^b	۱۵۴/۲ \pm ۴/۹۵ ^c	۳۲/۳۲ \pm ۰/۰۴ ^b
۲۵	۸۹/۲ \pm ۳/۸۱ ^{ab}	۱۳۰/۷ \pm ۵/۰۳ ^d	۳۵/۴۴ \pm ۰/۵۴ ^a
۱۰۰	۹۱/۰ \pm ۱/۰۰ ^{ab}	۱۵۷/۵ \pm ۱/۵۰ ^b	۲۴/۰۸ \pm ۰/۰۴ ^c
۲۰۰	۹۳/۳ \pm ۱/۴۴ ^a	۱۷۲/۰۳ \pm ۳/۶۱ ^a	۲۳/۰۸ \pm ۰/۱۱ ^d

جدول ۲: محتوی فلاونوئید، پروتئین کل و درصد جوانه‌زنی نمونه شاهد و گیاهچه‌های تیمار شده ازمک با غلظت‌های متفاوت یون روی. میانگین داده‌ها از سه تکرار مستقل توسط آزمون دانکن مورد تجزیه واریانس یک عاملی قرار گرفتند. داده‌ها بر اساس میانگین نتایج \pm انحراف معیار (SD) گزارش گردیدند. در هر ستون حروف متفاوت بیانگر معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

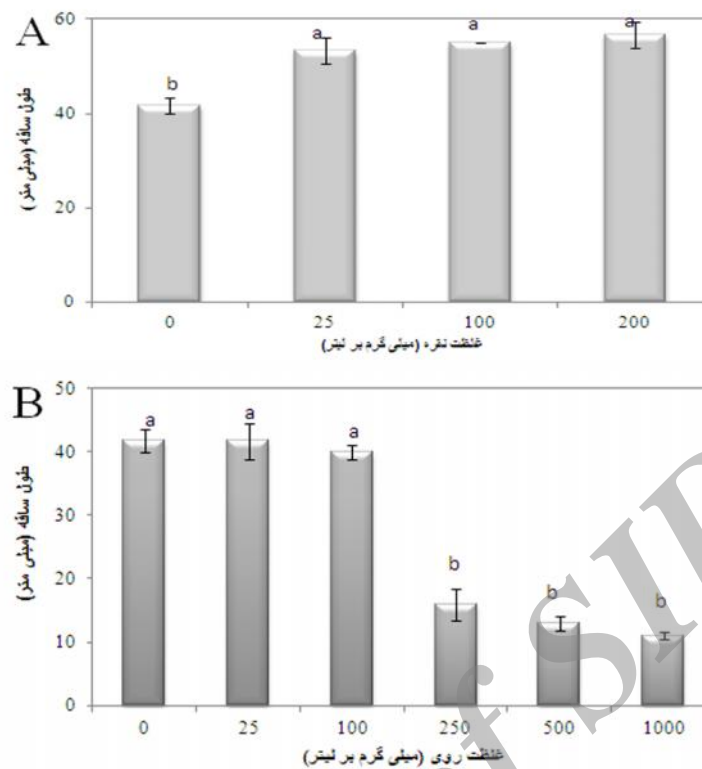
غلظت یون روی (میلی‌گرم بر لیتر)	جوانه‌زنی (درصد)	محتوی فلاونوئید (میکرومولار بر میلی‌گرم)	پروتئین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
۰	۸۶/۷ \pm ۱/۴۴ ^a	۱۵۴/۲ \pm ۴/۹۵ ^c	۳۲/۳۲ \pm ۰/۰۴ ^a
۲۵	۸۵/۰ \pm ۲/۵۰ ^a	۱۵۲/۱۶ \pm ۰/۰۴ ^c	۳۰/۶۲ \pm ۰/۱۵ ^b
۱۰۰	۸۴/۲ \pm ۱/۴۴ ^a	۱۷۳/۱۶ \pm ۰/۷۶ ^b	۲۴/۱۱ \pm ۰/۸۹ ^c
۲۵۰	۹۰/۰ \pm ۷/۵۰ ^a	۱۹۱/۵۰ \pm ۱/۳۲ ^a	۲۰/۷۵ \pm ۰/۷۹ ^d
۵۰۰	۸۷/۸ \pm ۰/۵۷ ^a	۱۸۹/۱۶ \pm ۰/۷۶ ^a	۲۰/۹۵ \pm ۰/۸۲ ^d
۱۰۰۰	۸۴/۲ \pm ۲/۸۸ ^a	۱۹۱/۳۱ \pm ۱/۲۵ ^a	۲۱/۵۵ \pm ۰/۹۸ ^d

طول ساقه

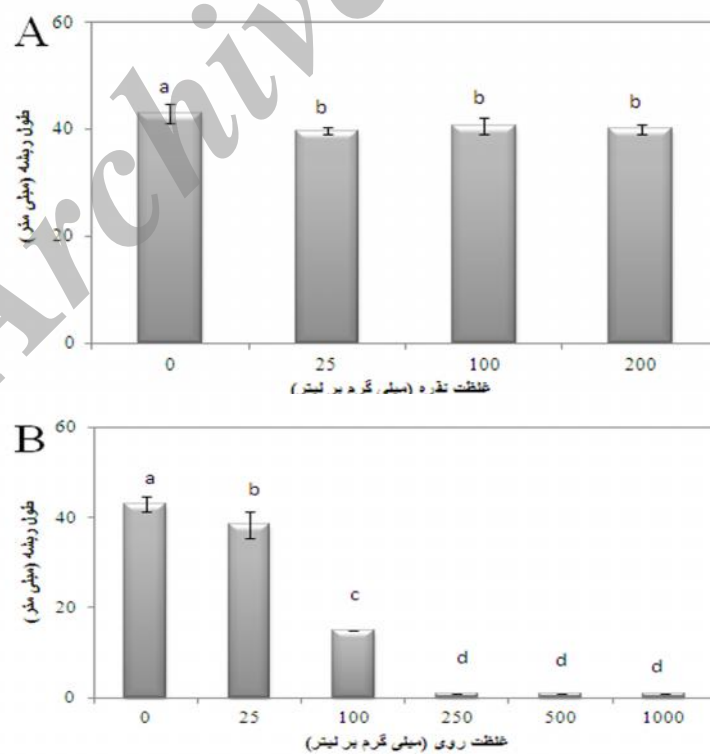
طول ساقه در گیاهچه‌های رشد یافته در محیط حاوی یون نقره، افزایش معنی‌داری را نسبت به گیاه شاهد نشان داد. با این وجود، تفاوت معنی‌داری بین طول ساقه در بین تیمارها مشاهده نگردید (شکل ۴، A). طول ساقه گیاهچه‌های تیمار شده با یون روی، در تیمار با غلظت ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشابه نمونه شاهد بود. ولی در تیمار با غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، طول ساقه به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش نشان داد (شکل ۴، B).

طول ریشه

طول ریشه در گیاهچه‌های تیمار شده با هر دو یون نقره و روی نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. کاهش طول ریشه در تیمار با یون نقره به‌صورت جزئی بود و تفاوت معنی‌داری در مقایسه با طول ریشه در شاهد مشاهده نگردید. در تیمار با یون روی کاهش معنی‌دار طول ریشه مشاهده گردید. طول ریشه در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با نمونه شاهد بیش از ۹۰ درصد کاهش نشان داد (شکل ۵، A و B).



شکل ۴: طول ساقه در گیاهچه‌های ازمک تیمار شده با غلظت‌های مختلف یون‌های نقره (A) و روی (B). داده‌ها بر اساس میانگین نتایج \pm انحراف معیار (SD) گزارش گردیدند. حروف کوچک بالای نمودارها نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نتایج در سطح ۵ درصد است.



شکل ۵: طول ریشه در گیاهچه‌های ازمک تیمار شده با غلظت‌های مختلف یون‌های نقره (A) و روی (B) به مدت ۱۵ روز. داده‌ها بر اساس میانگین نتایج \pm انحراف معیار (SD) گزارش گردیدند. حروف کوچک بالای نمودارها نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نتایج در سطح ۵ درصد است.

بحث

در این مطالعه، توانایی پالایش دو عنصر سنگین نقره و روی توسط گیاهچه‌های از مک مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان دهنده توانایی بالای این گیاه در جذب عناصر مذکور می‌باشد به طوری که با افزایش غلظت این عناصر در محیط، میزان جذب آن‌ها نیز افزایش یافته است. این مشاهدات با نتایج به‌دست آمده توسط نوری و همکاران که نشان دادند گیاه از مک جذب کننده مناسب فلزات مختلف می‌باشد، مطابقت دارد (۲۴). از طرف دیگر، ثابت شده است که اگر غلظت یون‌های فلزی در درون سلول به حد اشباع برسد، گیاه از استرس اکسیداتیو ناشی از تولید ROSها و مهار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت وابسته به فلزات آسیب می‌بیند (۳۱). گیاهان برای مقابله در برابر آسیب‌های ناشی از تولید ROSها از دو مکانیسم دفاع آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کند (۳۲). از سیستم‌های دفاع آنزیمی می‌توان به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت اشاره کرد (۳۳). همان‌طور که در نتایج آورده شده است، در گیاهان تیمار شده با این یون‌ها، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گیاه شاهد افزایش یافته است. آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن نقش اساسی دارد و کاتالاز یکی از آنزیم‌های اصلی در تجزیه پراکسید هیدروژن می‌باشد (۳۴ و ۳۵). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها بیانگر تولید ROSها ناشی از جذب این فلزات می‌باشد (۳۶ و ۳۷). سیستم دفاع غیرآنزیمی گیاهان، شامل ترکیباتی از قبیل آسکوربیک اسید، آلفا توکوفرول، کارتنوئیدها و ترکیب‌های فنلی به خصوص فلاونوئیدها است که در گیاهانی که در معرض غلظت‌های بالای فلزات سنگین قرار می‌گیرند، بسیار فعال بوده و باعث حفظ گیاه در مقابل سمیت فلزات می‌شوند (۳۸ و ۳۹). همان‌طور که در جدول ۱ قابل مشاهده است محتوی فلاونوئید کل در تیمار با غلظت‌های بالای یون نقره افزایش پیدا کرده است که می‌تواند دلیلی بر مقابله گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو حاصله توسط این فلزات باشد.

ثابت شده است، مقدار بالای ROSها مانند رادیکال‌های سوپر اکسید، H_2O_2 و $OH\cdot$ تحت شرایط پر تنش ایجاد می‌شود و تولید این رادیکال‌ها در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین ثابت شده است (۴۰). تولید ROS به همان اندازه که باعث تخریب سراسری در گیاه می‌شوند، به‌عنوان یک مولکول سیگنالی‌نگ عمل می‌کنند (۴۱ و ۴۲). H_2O_2 یکی از مهم‌ترین ROSها

است که به‌عنوان یک مولکول سیگنال در پاسخ به استرس فلزات سنگین و سایر استرس‌ها عمل می‌کند (۴۳). افزایش میزان H_2O_2 در تیمار آرابیدوپسیس با فلزات کادمیوم و مس و در تیمار گوجه فرنگی با جیوه گزارش شده است (۴۴ و ۴۵). افزایش تجمع H_2O_2 حالت احیائی سلول را تغییر می‌دهد و تولید آنتی‌اکسیدانت‌ها القا و فعالیت مکانیسم آنتی‌اکسیدانتی را تنظیم می‌کند (۴۴). بنابراین به‌نظر می‌رسد، رشد گیاهان در حضور این فلزات منجر به رهاسازی ROSهایی از قبیل سوپراکسید و H_2O_2 می‌شود. علاوه بر این، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز جهت خنثی نمودن رادیکال‌های سوپراکسید منجر به تولید بیشتر H_2O_2 می‌شود که این مولکول می‌تواند به‌عنوان سیگنالی جهت تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیر آنزیمی از طریق افزایش بیان ژن‌های مربوطه شود و این مساله می‌تواند دلیلی بر افزایش محتوی فلاونوئید کل و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باشد.

ثابت شده است که حضور نقره در محیط کشت از طریق مهار سنتز اتیلن که اثر مهاری بر تشکیل ریشه، کالوس‌زایی، رشد ساقه و گل‌زایی دارد باعث بهبود شرایط رشدی گیاهان می‌شود (۲۲ و ۴۶). همان‌طور که در نتایج نشان داده شده، در حضور یون نقره، درصد جوانه‌زنی بذرها و طول ساقه گیاهچه‌ها در تمامی غلظت‌ها بهبود یافت که با نتایج به‌دست آمده از مشاهدات Bais و همکاران (۲۱) بر روی گیاه *Cichorium intybus* مطابقت دارد. مطالعات گذشته نشان داد که یون‌های نقره از طریق ممانعت از بیوسنتز اتیلن موجب افزایش رشد و عمل کرد گیاه می‌شوند (۴۷). با این حال کاهش طول ریشه در تیمار با تمام غلظت‌ها یون نقره به چشم می‌خورد که در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. کاهش طول ریشه می‌تواند به‌دلیل دسترسی مستقیم این اندام به غلظت‌های بالای این یون و جذب بالای آن باشد. هرچند این فلز می‌تواند باعث بهبود شرایط رشدی گیاه شود در غلظت‌های بالا از طریق تحریک رهاسازی ROSها برای گیاه سمی بوده و آسیب‌های متفاوتی را در گیاهان موجب می‌شوند. در حالی که افزایش طول ساقه در مقابل کاهش طول ریشه در گیاهچه‌های رشد یافته در حضور نقره می‌تواند مربوط به دسترسی کمتر ساقه به این یون به‌دلیل انتقال کمتر نقره از ریشه به ساقه باشد.

روی نقش بسیار مهمی در ساختار و راه‌اندازی بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه دارد. حضور بالای این فلز در گیاه

می‌تواند ناشی از تاثیرات منفی ROSها باشد. اگر چه مطالعات بیشتری لازم است تا اثرات دقیق این عناصر بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی این گیاه مشخص گردد. ولی بر اساس نتایج حاصله در این تحقیق، به نظر می‌رسد که از مک گیاهی مناسب جهت پالایش مناطق آلوده به این عناصر (به‌ویژه در غلظت‌های کم) است. در عین حال، آزمایشات بیشتری لازم است تا محل ذخیره فلزات و مکانیسم عمل‌کرد گیاه در برابر جذب فلزات به‌طور کامل مشخص گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان انجام شده است. بنابراین مجری و همکاران مراتب سپاس و قدردانی خود را از آن دانشگاه محترم اعلام می‌دارند.

منابع

1. Blaster P, Zimmermann S, Luster J, Shotyk W. Critical examination of trace element enrichment and depletion in soils: As, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in Swiss forest soil. *Sci Total Environ*. 2000; 249(1-3): 257-280.
2. Ismail S. Phytoremediation: a green technology. *IJPP*. 2012; 3(1): 567-576.
3. Dubey RS. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In reactive oxygen species and antioxidants in higher plants, S. D. Gupta, Ed. CRC Press, Boca Raton, Fla, USA. 2011; 177-203.
4. Villiers F, Ducruix C, Hugouvieux V, Jarno N, et al. Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches. *Proteomics*. 2011; 11(9): 1650-1663.
5. Dalcorso G, Farinati S, Furini A. Regulatory networks of cadmium stress in plants. *Plant Signal Behav*. 2010; 5(6): 1-5.
6. Carrier P, Baryl A, Havaux M. Cadmium distribution and microlocalization in oilseed rape (*Brassica napus*) after long-term growth on cadmium-contaminated soil. *Planta*. 2003; 216(6): 939-950.
7. Deikman J. Molecular mechanisms of ethylene regulation of gene transcription. *Physiol Plant*. 1997; 100(3): 561-566.
8. Gamalero E, Lingua G, Berta G, Glick BR. Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses

سبب بروز برخی علائم ناشی از تنش وعدم رشد طبیعی گیاهان می‌شود (۴۸). مشخص شده است که سمیت روی باعث القای تنش اکسیداتیو به‌وسیله تولید ROSها می‌شود (۴۹). بنابراین کاهش رشد طولی ریشه و ساقه در غلظت بالای روی می‌تواند به‌دلیل تنش اکسیداتیو بعد از جذب این عنصر باشد. برخی از محققین معتقدند که مهار رشد گیاهان در اثر غلظت‌های بالای فلز روی، ممکن است به‌دلیل رقابت این فلز با فسفر در گیاه باشد (۴۸). گزارش شده است که تجمع بالای فلز روی در سیتوزول سلول‌های گیاهی از طریق اختلال در عمل‌کرد طبیعی سلول‌ها و مهار فرآیند تنفس و واکنش‌های انرژی‌خواه مرتبط با رشد سلول می‌تواند سبب کاهش رشد و نمو ایده‌آل گیاهان شود (۵۰).

از طرف دیگر، محتوی پروتئین کل در تیمار با کمترین غلظت نقره (۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) به‌صورت معنی‌داری افزایش یافته است. پاسخ به استرس فلزات سنگین شامل یک شبکه پیچیده انتقال سیگنال است که با حضور فلزات فعال می‌شود. این شبکه با تولید پروتئین‌های درگیر در پاسخ به استرس و مولکول‌های سیگنالینگ و همچنین با فعال شدن رونویسی از ژن‌های مخصوص پاسخ به فلزات مرتبط می‌باشد (۵۱). مطالعات گذشته نشان داده است که در تیمار با فلزات سنگین، سنتز پروتئین‌های وابسته به استرس از قبیل پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP)، القا می‌شوند تا وظیفه محافظت و ترمیم پروتئین‌ها را به عهده داشته باشد و به‌عنوان چابرون عمل نموده تا تاخوردگی صحیح پروتئین‌ها را تضمین نمایند (۵۲ و ۵۳ و ۵۴). در حالی که کاهش معنی‌داری محتوی پروتئین کل در غلظت‌های بالاتر یون نقره و تمامی غلظت‌های یون روی می‌تواند ناشی از تخریب پروتئین‌ها تحت تاثیر ROSها باشد (۴۱). ثابت شده است که تجمع رادیکال‌های سوپر اکسید از طریق واکنش هابر-ویس (Haber-Weiss) تولید رادیکال‌های هیدروکسیل نموده که این رادیکال‌ها می‌توانند بیان ژن‌ها و محتوی پروتئین‌ها را کاهش داده و فعالیت آنزیم‌ها را تحت تاثیر قرار دهد (۵۵ و ۵۶).

نتیجه‌گیری

در مجموع نتیجه‌گیری می‌شود که این گیاه توانایی جذب بالای یون‌های روی و نقره را دارد. تجمع این فلزات در گیاه با رها-سازی ROSها همراه است. گیاه با فعال نمودن سیستم آنتی‌اکسیدانت سعی در خنثی نمودن این رادیکال‌ها دارد. در عین حال، کاهش محتوی پروتئین و همچنین کاهش رشد ریشه

- to heavy metal stress. *Can J Microbiol.* 2009; 55(5): 501-514.
9. McCutcheon S.C, Schnoor I.L. Overview of phytoremediation and control of wastes. In: McCutcheon, S.C., Schoor, J.L. (eds), *Phytoremediation-Transformation and control of contaminants.* Wiley, Hoboken, NJ; 2003; 3-58.
10. Schnoor J.L. *Phytoremediation. Ground-water remediation technologies analysis center (GWRTAC) Pittsburg.* 1997; 1250- 1256.
11. Erakhrumen AA. *Phytoremediation: an environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation in developing countries.* *Educational Research and Review* 2007; 2(7): 151-156.
12. Taebi A, Jeirani K, Mirlohi A, Zadeh Bafghi A. *Phytoremediation of Cyanide-Polluted Soils by Non-woody Plants.* *JWSS.* 2008; 11(42): 515-523.
13. Hossain MA, Hossain MZ, Fujita M. Stress-induced changes of methylglyoxal level and glyoxalase I activity in pumpkin seedlings and cDNA cloning of glyoxalase I gene. *Aust J Crop Sci.* 2009; 3(2): 53-64.
14. Yadav SK. Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *S Afr J Bot.* 2010; 76(2): 167-179.
15. Seth CS, Remans T, Keunen E, Jozefczak M, et al. Phytoextraction of toxic metals: a central role for glutathione. *Plant Cell Environ.* 2012; 35(2): 334-346.
16. Broadle MR, White PJ, Hammond JP, Zlko IV. Zinc in plants. *New Phytol.* 2007; 173: 677-702.
17. Madhava Rao KV, Srestry TVS. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci.* 2000; 157(1): 113-128.
18. Stoyanova Z, Doncheva S. The effect of Zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in pea plant. *J Plant Physiol.* 2002; 14(2): 111-116.
19. Chaney R.L. Zinc phytotoxicity. In: Robson A. D, (eds), *Zinc in Soil and Plants.* Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 1933; 135-150.
20. Marschner H. *Mineral nutrition of higher plants,* 2nd edn. London. UK Academic Press. 1995; 123-128.
21. Bais HP, Sudha GS, Ravishankar GA. AgNO₃ influences shoot multiplication In vitro flowering and endogenous titres of polyamines in *Chichorium intybus* L cv Lucknow Local. *J Plant Growth Regul.* 2000; 19(2): 238-248.
22. Zhao J, Davis LC, Verpoorte R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotech Adv.* 2005; 23: 283-333.
23. Gaskin F, Zhang D, Claude M. Invasion of *Lepidium draba* (Brassicaceae) in the western United States: distributions and origins of chloroplast DNA haplotypes. *Mol Ecol Resour.* 2005; 14: 2331-2341.
24. Nouri J, Lorestani B, Yousefi N, Khorasani N, et al. Phytoremediation potential of native plants grown in the vicinity of Ahangan lead-zinc mine (Hamedan, Iran). *Environ Earth Sci.* 2011; 62:639-644.
25. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 1962; 15(3): 473-497.
26. McGrath SP, Cunliffe CH. A simplified method for the extraction of the metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. *J Sci Food Agric.* 1985; 36: 794-798.
27. Krizek DT, Britz SJ, Mirecki RM. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. *Physiol Plant.* 1998; 103: 1-7.
28. Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 1977; 59(2): 309-314.
29. Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P, Thorpe TA. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J Exp Bot.* 1981; 32: 93-101.
30. Bradford MM. rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72: 248-254.
31. Schützendübel A, Polle A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J Exp Bot.* 2002; 53(372): 13351-1365.
32. Ajay Arora R, Sairam K, Srivastava GC. Oxidative stress and antioxidativ system in plants. *Plant Physiol.* 2002; 82: 10-25.
33. Mazhoudi S, Chaoui A, Ghorbal MH, Elferjani E. Response of antioxidant enzymes to excess copper in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Sci.* 1997; 127(2): 129-137.
34. Del-Rio LA, Lyon DS, Olah I, Glick B, et al. Immunocytochemical evidence for a peroxisomal

- localization of manganese superoxide dismutase in leaf protoplasts from a higher plant. *Planta*. 1983; 158: 216-224.
35. Khatun S, Ali MB, Hahn EJ, Paek KY. Copper toxicity in *Withania somnifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Environ Exp Bot*. 2008; 64(3): 279-285.
36. Fabre N, Urizzi P, Souchard JP, Ferchard A, et al. An antioxidant sinapic acid ester isolated from *Iberis amara*. *Fitoterapia*. 2000; 71(4): 425-428.
37. Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*. 2004; 55: 373-399.
38. Posmyk M, Dobranowska A, Janas K. Role of anthocyanins in red cabbage seedlings response to copper stress. *Ecol Chem Eng*. 2005; 12: 1107-1112.
39. Dai LP, Xiong ZT, Huang Y, Li MJ. Cadmium-induced changes in pigments, total phenolics, and phenylalanine ammonia-lyase activity in fronds of *Azolla imbricata*. *Environ Technol*. 2006; 21: 505-512.
40. Galligo SM, Benavides MP, Tomoro ML. Effect of Cd ions on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Biol Plantarum*. 1999; 42: 49-55.
41. Lombardii L, Sebastiani L. Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plant. *Plant Sci*. 2005; 168(3): 797-802.
42. Romero-Puertas MC, Corpas FJ, Rodríguez-Serrano M, Gómez M, et al. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. *J Plant Physiol*. 2007; 164: 1346-1357.
43. Dat J, Vandenameele S, Vranova E, Van Montagu M, et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci*. 2000; 57(5): 779-795.
44. Maksymiec W, Krupa Z. The effects of short-term exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana*. *Environ Exp Bot*. 2006; 57(1): 187-194.
45. Cho UH, Park JO. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Sci*. 2000; 156(1): 1-9.
46. Pan ZW, Zhong J. Scale-up study on suspension cultures of *Taxus chinensis* cells for production of taxane diterpene. *Enzyme Microb Tech*. 2000; 27: 714-721.
47. Belimov AA, Satronova VI, Iergeyera TA, Egorova TN, et al. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can J Microbiol*. 2001; 47: 642-652.
48. Rout GR, Das P. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism; Zinc. *Arch Agron Soil Sci*. 2003; 23: 3-11.
49. Weckx JEJ, Clijsters H. Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol Biochem*. 1997; 35(5): 405-410.
50. Candan N, Tarhan L. Change in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*. *Turk J Chem*. 2003; 27: 21-30.
51. Maksymiec W, Wianowska D, Dawidowicz AL, Radkiewicz S, et al. The level of jasmonic acid in *Arabidopsis thaliana* and *Phaseolus coccineus* plants under heavy metal stress. *J Plant Physiol*. 2005; 162(12): 1338-1346.
52. Zhen Y, Qi JL, Wang SS, Su J, et al. Comparative proteome analysis of differentially expressed proteins induced by Al toxicity in soybean. *Physiol Plant*. 2007; 131: 542-554.
53. Zhao L, Sun YL, Cui SX. Cd-induced changes in leaf proteome of the hyperaccumulator plant *Phytolacca americana*. *Chemosphere*. 2011; 85: 56-66.
54. Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants. *Annu Rev Plant Biol*. 1991; 42(1): 579-620.
55. Agarwal S, Shaheen R. Stimulation of antioxidant system and lipid peroxidation by abiotic stresses in leaves of *Momordica charantia*. *Braz J Plant Physiol*. 2007; 19(2): 149-161.
56. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J Bot*. 2012; 24(3): 1-26.

Investigation of the Ability of *Lepidium draba* L. Seedlings in Zinc and Silver Ions Absorption and Effect of the Ions on Morphological and Biochemical Characteristics of the Seedlings

Riahi-Madvar A. Ph.D.¹ *, Nasiri-Bezenjani M.A. M.Sc.², Yousefi K. M.Sc.²
Mohammadi M. M.Sc.²

1. Department of Biotechnology, Institute of Science and High technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

2. Department of Biotechnology, Faculty of Science and Modern Technology, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

* Email corresponding author: riahi.ali@gmail.com

Received: 5 May. 2014

Accepted: 22 Jul. 2014

Abstract

Aim: The aim of this study was to investigate the ability of *Lepidium draba* L. seedlings to eliminate zinc and silver ions from the medium.

Material and Methods: The seeds of *L. draba* were cultured on MS solid medium for 15 days in the presence of different concentrations of both silver and zinc ions. The bioaccumulation of these ions in *L. draba* tissues were measured by atomic absorption. Furthermore, biochemical and morphological properties of the seedlings such as catalase and superoxide dismutase activities, total flavonoid content, germination percentage, root and stem lengths were analyzed.

Results: Results revealed that *L. draba* seedlings were able to absorb high level of zinc and silver ions and a direct relationship between the level of absorption and the amount of ions in media was seen. On the other hand, total flavonoid contents, catalase and superoxide dismutase activities were elevated by increasing concentrations of the ions in media. Silver ion increased the germination, while the seed germination did not show significant different in treatment with zinc ion in compared to the control. Upon the treatment seedlings with silver ion, the stem growth was significantly increased, while the root growth was decreased. Significant decrease in the stem and root growth were occurred upon seedlings treatment with high level concentrations of zinc ion.

Conclusion: Based on the results, it seems that *L. draba* could be introduced an appropriate option for refining of the aforementioned metals from contaminated area.

Keywords: Catalase, *Lepidium draba* L., Phytoremediation, Silver, Zinc