Archive of SID

*مقاله پژوهشی*

*مجله سلول و بافت (علمی- پژوهشی)*
*جلد ٦، شماره ٤، زمستان ١٣٩٤، ٥٥٥-٥٤٣*

# اثر غلظت‌های مختلف سرب بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در دو جمعیت از گیاه اسپند (*Peganum harmala L.*)

**کبری مهدویان Ph.D.[1,2]، سید مجید قادریان Ph.D.[1*]، مسعود ترکزاده ماهانی Ph.D.[3]**

۱- دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، اصفهان، ایران

۲- دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

۳- دانشگاه تحصیلات تکمیلی و فناوری پیشرفته کرمان، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی، کرمان، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: ghaderian@sci.ui.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۱

## چکیده

**هدف:** هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر غلظت‌های سرب بر رشد و میزان آنتوسیانین، کلروفیل، کاروتنوئید، قندهای محلول، قندهای احیاء و آمینو اسیدهای آزاد در جمعیت‌هایی از گیاه اسپند می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** گیاهانی از دو جمعیت مختلف اسپند (فلز دوست منطقه کوشک یزد و غیر فلز دوست منطقه کرمان) در شرایط هیدروپونیک کشت داده شدند. سپس گیاهان به‌مدت ۱۴ روز تحت تیمار غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب قرار گرفتند. در پایان آزمایش میزان پارامترها توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و محاسبه شد.

**نتایج:** نتایج نشان دادند که افزایش غلظت سرب در محلول غذایی باعث کاهش طول ریشه گیاهان می‌شود و بین دو جمعیت تفاوت معنی‌داری وجود دارد. به‌طور کلی میزان رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید تحت غلظت‌های سرب، به‌ویژه تحت بالاترین تیمار سرب (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در هر دو جمعیت کاهش یافتند. همچنین میزان آنتوسیانین، قندهای محلول و آمینواسیدهای آزاد در هر دو جمعیت افزایش یافتند.

**نتیجه گیری:** مقادیر بالاتر آنتوسیانین، قندهای محلول و آمینواسیدهای آزاد در جمعیت فلز دوست، نشان دهنده ظرفیت بهتر مقاومت به سرب در این جمعیت است.

**واژگان کلیدی:** اسپند، رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سرب، قند



www.SID.ir

Archive of SID



## مقدمه

وجود مقادیر سمی فلزات سنگین در محیط زیست گیاهان باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیک شده و می‌تواند موجب کاهش توان رشد گیاه و در حالت شدیدتر باعث از بین رفتن گیاه شود. گیاهان حساس در چنین شرایطی آسیب دیده و از بین می‌روند در حالی‌که گیاهان مقاوم در این شرایط همچنان به رشد و تولید مثل خود ادامه می‌دهند. علائم سمیت سرب در گیاه شامل جلوگیری از رشد، کلروز و سیاه شدن سیستم ریشه می‌باشد. وقتی سرب حتی در مقادیر کم وارد سلول می‌شود گستره وسیعی از اثرات مضر را روی فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه ایجاد می‌کند از جمله باعث ممانعت از فعالیت آنزیم‌ها، اختلال در تغذیه معدنی و تعادل آب گیاه می‌شود. همچنین باعث تغییر وضعیت هورمون‌ها شده و ساختار و نفوذپذیری غشا را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این اختلالات، فعالیت‌های معمول فیزیولوژیکی گیاهان را بر هم زده و در غلظت‌های بالا ممکن است منجر به مرگ سلول نیز شود (۱). سمیت سرب باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، شاخص تحمل، طول گیاه و توده خشک گیاه می‌شود (۲).

گیاهانی که در معرض سرب قرار می‌گیرند کاهش میزان فتوسنتز را نشان می‌دهند که ناشی از تخریب فرا ساختار کلروپلاست، جلوگیری از سنتز کلروفیل، پلاستوکوئینون و کارتنوئیدها، ممانعت از انتقال الکترون و جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین است. سرب با ایجاد اختلال در جذب فلزات ضروری مثل منیزیم و آهن مانع از سنتز کلروفیل می‌شود (۲ و ۳). افزایش تخریب کلروفیل در گیاهان تیمار شده با سرب ناشی از افزایش فعالیت کلروفیلاز می‌باشد. گزارش شده که در تیمار سرب کلروفیل b بیشتر از کلروفیل a تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۴ و ۵).

یکی از اثرات سمی سرب القا تنش اکسیداتیو در گیاهان به‌دلیل افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌باشد که نتیجه عدم تعادل حالت ردوکس سلولی است (۶ و ۷). در بسیاری از گیاهان نقش کربوهیدرات‌ها به‌عنوان یک عامل تنظیم کننده اسمزی در تنش‌های محیطی پذیرفته شده است. چندین گزارش بر روی تجمع کربوهیدرات در تنش‌های زیستی و غیرزیستی وجود دارد (۸ و ۹). آنتوسیانین‌ها دسته ای از فلاونوئیدها هستند که به‌طور گسترده‌ای در گیاهان وجود دارند (۱۰). اتصال آنتوسیانین به برخی فلزات و کاهش اثرات سمی آن‌ها گزارش شده است (۱۱). همچنین مطالعات دیگری افزایش تجمع آنتوسیانین را با افزایش یافتن غلظت فلز سنگین گزارش کردند (۱۲،۱۳ و ۱۴). اسپند با نام علمی *Peganum harmala L.* گیاهی چند ساله از خانواده Zygophylaceae است که مصارف دارویی فراوانی دارد. با توجه به دامنه رشد گسترده اسپند در خاک‌های نواحی مختلف فلزدوست و غیرفلزدوست، بررسی مقاومت این گیاه به فلزات سنگین حائز اهمیت است. این تحقیق با هدف بررسی تغییرات رشد و برخی واکنش‌های فیزیولوژیک در شرایط تنش ناشی از افزایش سرب و مقایسه بین دو جمعیت فلزدوست و غیر فلز دوست اسپند انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی مقاومت به سرب، بذر دو جمعیت گیاه اسپند انتخاب شد. یک جمعیت فلزدوست از خاک‌های آلوده به سرب و روی منطقه معدنی کوشک بافق یزد و دیگری جمعیت غیرفلزدوست از خاک‌های منطقه ماهان کرمان که غیرآلوده می‌باشد انتخاب شد. بذرها حداقل از ۲۵ گیاه جمع آوری شده بودند. جهت کشت بذر، گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۹ سانتیمتر حاوی مخلوطی از پرلیت ریز و درشت تهیه شد. در هرگلدان تعداد ۶ عدد بذر گیاه اسپند کاشته شد و ۳ تکرار در هر غلظت از تیمار در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۵ روز آبیاری با آب مقطر گیاهچه‌های حاصل به‌مدت ۴۰ روز با محلول غذایی هوگلند اصلاح شده تغذیه شدند (۱۵). سپس گیاهان به محلول آزمایش منتقل شدند که ترکیب آن مشابه محلول هوگلند فوق بود اما بدون NH4H2PO4 و Fe(Na)-EDTA به‌دلیل جلوگیری از رسوب فسفات سرب و تشکیل کمپلکس Pb-EDTA ناشی از جایگزینی آهن تهیه شد. گیاهچه‌ها به‌مدت ۱۴روز تحت تاثیر غلظت‌های مختلف سرب قرار گرفتند. غلظت‌های مختلف سرب با استفاده از نمک نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) تهیه شد. تیمارها به‌صورت ۰، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب در نظر گرفته شد. pH محلول غذایی و محلول غذایی حاوی سرب در محدوده ۵/۵ تنظیم شد. محلول‌های غذایی هر هفته با محلول‌های تازه جایگزین گردید و گیاهان در اتاقک کشت با دمای متناوب ۲۵/۲۰ درجه سانتی‌گراد (شب/روز)، تناوب نوری (۱۶ ساعت نور)، شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه رشد کردند.



www.SID.ir

Archive of SID



***اندازه گیری طول اندام هوایی و ریشه:*** در پایان تیماردهی، طول ساقه و ریشه با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. طول ساقه از یقه تا قسمت انتهای ساقه و طول ریشه از یقه تا انتهای ریشه در نظر گرفته شد. برای هر تیمار بیش از ۳ تکرار در نظر گرفته شد و مقادیر بر اساس سانتیمتر گزارش شد.

***استخراج قند از بافت‌های گیاهی:*** برای استخراج قند، بافت گیاهی مورد نظر را به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک کرده و سپس ۰/۰۱ گرم از بافت خشک به تعداد ۳ تکرار در هر تیمار توزین شد و با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر گرم در هاون سائیده شد و با کاغذ صافی صاف گردید.

برای اندازه‌گیری هیدرات‌های کربن محلول از روش فنل- اسید سولفوریک استفاده شد. در این روش اکثر قندها شامل مونوساکاریدها، دی ساکاریدها، اولیگوساکاریدها قابل شناسایی می‌باشند. اسید سولفوریک، دی ساکاریدها، اولیگوساکاریدها و پلی ساکاریدها را به واحدهای کوچکتر یعنی مونوساکارید می‌شکند. سپس پنتوزها یا قندهای پنج کربنه به فورفورال دهیدراته شده و هگزوزها یا قندهای شش کربنه به هیدروکسی متیل فورفورال دهیدراته می‌شوند. این ترکیبات سپس با فنل واکنش داده و در اثر این واکنش، رنگ زرد طلائی حاصل می‌شود که این رنگ تا چند ساعت پایدار باقی می‌ماند. با خواندن جذب ترکیب رنگی هر نمونه در طول موج ۴۹۰ نانومتر می‌توان به مقدار قند محلول نمونه پی برد. به این منظور ۲ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی استخراج شده را با ۵۰ میکرولیتر فنل ۸۰ درصد وزنی (حل شده در آب مقطر) مخلوط کرده و سپس ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به صورت عمود بر سطح مایع به آن اضافه شد. این مخلوط به‌مدت ۱۰ دقیقه در محیط نگه‌داری شده و پس از آن به‌مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس جذب محلول در ۴۹۰ نانومتر خوانده شد (۱۶). سپس منحنی استاندارد با استفاده از گلوکز خالص رسم شده و مقدار قندهای محلول با کمک این نمودار در یک گرم بافت گیاهی به‌دست آمد.

برای سنجش قندهای احیا، DNS (دی نیترو سالیسیلیک اسید) ۱ درصد ، سود ۱/۶ درصد و تارتارات سدیم-پتاسیم ۲۵ درصد با کمک مگنت و روی هیتر به‌آرامی حل شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی استخراج شده با ۱ میلی‌لیتر از رنگ ساخته شده مخلوط و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس کل محلول به‌دست آمده با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و جذب نمونه‌ها در ۵۴۶ نانومتر خوانده شد و با کمک از گلوکز خالص منحنی استاندارد مربوط به میزان قندهای احیا محاسبه شد (۱۷).

***سنجش آنتوسیانین‌ها:*** جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌ها، ۰/۱ گرم از اندام هوایی تازه گیاه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملا سائیده و به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۱۰ دقیقه در g ۴۰۰۰ سانتریفوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر مکعب غلظت آنتوسیانین‌ها محاسبه و نتایج بر حسب میکرومولار بر گرم وزن تر ارائه شد (۱۸).

***رنگدانه‌های فتوسنتزی:*** اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت. ۰/۲ گرم از برگ‌های تازه گیاه با ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شده و پس از صاف کردن جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر ( Carry 50 استرالیا) در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از رابطه‌های زیر و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد:

Chla= (12.25 A663.2-2.79 A646.8)

Chlb= (21.21 A646.8-5.1 A663.2)

ChlT= chla+chlb

Car= [1000 A470-1.8 chla-85.02 chlb] /198

در این فرمول chla، chlb، chlT و car به‌ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها) می‌باشد (۱۹).

### *اندازه‌گیری مقدار آمینواسیدهای آزاد (FAA)*

مقدار آمینواسیدهای آزاد در نمونه‌ها از طریق رنگ سنجی با نین‌هیدرین به‌دست آمد. ۰/۲ گرم بافت تازه برگی در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات سرد ۵۰ میلی مولار (pH =۶/۸) سائیده، به‌مدت ۲۰ دقیقه در g۱۸۰۰۰ سانتریفیوژ شد. از محلول رویی برای سنجش آمینواسیدهای آزاد استفاده شد. یک میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین به ۵ میلی لیتر نمونه افزوده شد. سپس، لوله‌ها ۴ تا ۷ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه



www.SID.ir

Archive of SID



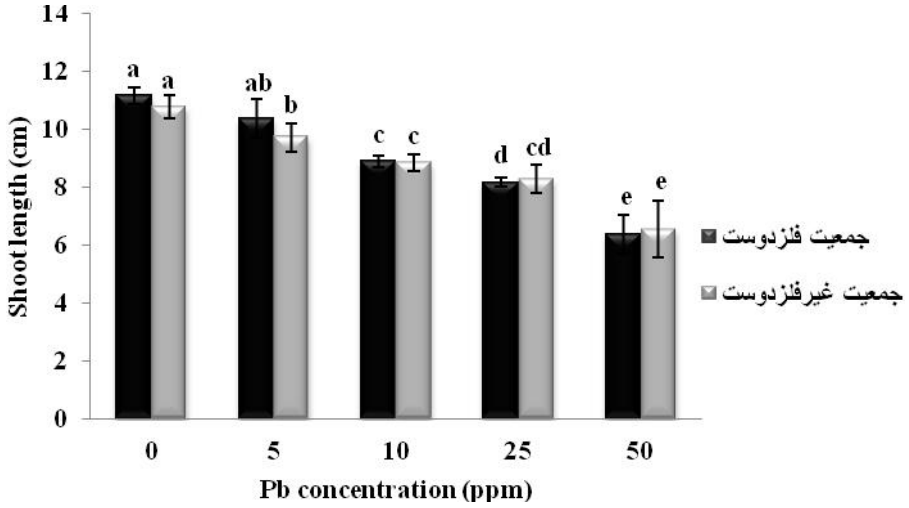
سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سرد شدن، جذب نمونه ها در ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار آمینواسیدهای آزاد از منحنی استاندارد گلیسین استفاده شد (۲۰).

## آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افـزار SPSS انجام شد. برای آنالیز نتایج، از روش آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد که در آن معنی‌دار بودن یـا نبـودن اثـر تیمـار سرب و جمعیت مورد آنالیز قرار گرفت. به‌منظور پـی بـردن به معنی‌دار بودن یا نبودن تفاوت میانگین‌ها در هر جمعیت بین تیمارهای مختلف از آزمون Tukey HSD استفاده شـد. همچنین تفاوت بـین دو جمعیـت در هـر غلظـت از تیمـار سرب با استفاده از آزمون t-test بررسی شد. کلیه نمودارهـا با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

## نتایج

شکل ۱ نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از اثر تیمار سرب را بر رشد طولی اندام هوایی گیاه اسپند نشان می دهد. طبق شکل، تیمار سرب باعث کاهش معنی‌دار طول اندام هوایی گیاه نسـبت به شاهد در هر دو جمعیت شده است. کمترین طول اندام هوایی در تیمار سرب ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو جمعیت مشـاهده شد (شکل ۱).




*شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف سرب بر طول اندام هوایی در دو جمعیت گیاه Peganum harmala (جمعیت فلزدوست کوشک و جمعیت غیر فلزدوست کرمان) بعد از دو هفته تیمار (میانگین طول اندام هوایی ۱۲ گیاه از هر جمعیت ± خطای استاندارد. حروف غیر مشترک، به‌طور جداگانه در هر سری از جمعیت فلز دوست یا غیر فلز دوست، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون Tukey HSD ($p<0/05$) است.*

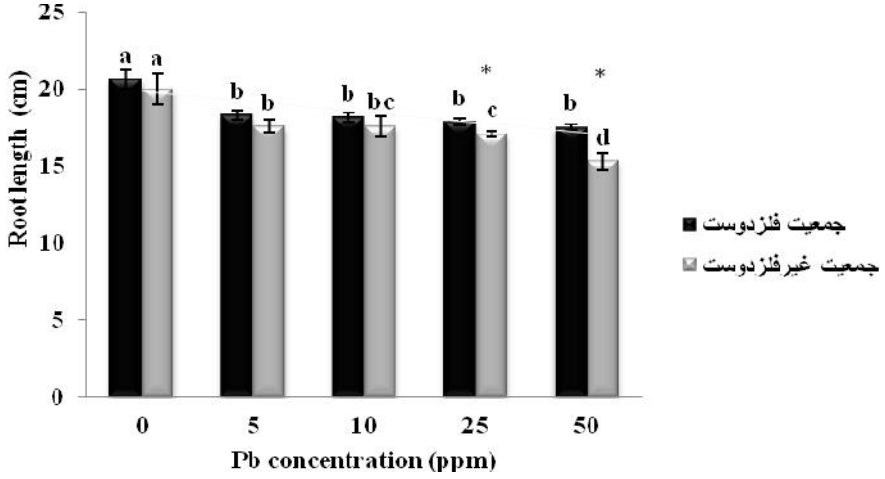
اولین نشانه قابل مشاهده سمیت سـرب ممانعـت از رشـد ریشـه می‌باشد. جهت ارزیابی میزان مقاومت به سـرب، پـس از ۱۴ روز تیمار میزان رشد ریشـه گیاهـان جمعیـت‌هـای مختلـف اسـپند اندازه‌گیری شد (شکل ۲). همان‌طـور کـه در شـکل ۲ مشـاهده می‌شود ۱۴ روز پس از تیمار سرب، کاهش طول ریشه در هر دو جمعیت فلز دوست و غیر فلزدوست گیاه اسـپند کـه در معـرض تیمار سرب قرار گرفته بودند مشاهده می‌گردد. نتایج آنالیز نشان داد که بین دو جمعیت تفاوت معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری‌که کمترین طول ریشه در تیمار سرب ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جمعیت غیرفلزدوست مشاهده می‌شود. طول ریشـه در تیمـار سـرب ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جمعیت غیـرفلزدوسـت نسـبت بـه شـاهد ۲۵ درصد کاهش نشان داد.



www.SID.ir

Archive of SID






*شکل ۲ : اثر غلظت‌های مختلف سرب بر طول ریشه در دو جمعیت گیاه Peganum harmala (جمعیت فلزدوست کوشک و جمعیت غیر فلز دوست کرمان) بعد از دو هفته تیمار (میانگین طول ریشه ۱۲ گیاه از هر جمعیت ± خطای استاندارد) حروف غیر مشترک، به‌طور جداگانه در هر سری از جمعیت فلزدوست یا غیر فلزدوست، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون Tukey HSD ($p<۰/۰۵$) است. علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو جمعیت است.*

تغییرات محتوای کلروفیل a، b و کل برگ در اثر تیمار سرب در شکل ۳ نشان داده شده است. بر اساس شکل ۳، میزان کلروفیل a، b و کل در غلظت‌های مختلف تیمار سرب کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد در هر دو جمعیت نشان می‌دهند. نتایج حاصل از آنالیز واریانس تفاوت معنی‌داری را در محتوای کلروفیل b و کل، بین دو جمعیت نشان می‌دهد، به‌طوری‌که کمترین مقدار کلروفیل b و کل در تیمار سرب ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب در جمعیت غیر فلزدوست مشاهده می‌شود. بنابراین مقدار کلروفیل a، b و کل در تیمار سرب ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد در جمعیت غیرفلزدوست به‌ترتیب ۲۶، ۴۰ و ۲۹ درصد کاهش نشان داد.

شکل ۴ نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از اثر تیمار سرب را بر محتوای کاروتنوئید گیاه اسپند نشان می‌دهد. تمام غلظت‌های سرب باعث کاهش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید در هر دو جمعیت گیاه اسپند نسبت به شاهد شدند. غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب جمعیت غیرفلزدوست و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب جمعیت فلزدوست، کمترین مقادیر کاروتنوئید را نسبت به بقیه غلظت‌ها نشان دادند. بنابراین غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب جمعیت غیرفلزدوست نسبت به شاهد به ترتیب ۳۱ و ۲۶ درصد کاهش نشان دادند و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب جمعیت فلزدوست نسبت به شاهد ۲۷ درصد کاهش نشان داد.

نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف سرب در شکل ۵ نشان می‌دهد که افزایش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین‌ها در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب نسبت به شاهد در هر دو جمعیت مشاهده می‌شود، اما در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر سرب در هر دو جمعیت تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نمی‌شود.

شکل ۶ نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از اثر تیمار سرب را بر محتوای قندهای محلول گیاه اسپند نشان می دهد. غلظت‌های مختلف سرب باعث افزایش معنی‌دار این قندها در جمعیت فلز دوست گیاه اسپند شدند اما در جمعیت غیر فلز دوست تنها در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر سرب باعث افزایش معنی‌دار قندهای محلول نسبت به شاهد شدند، همچنین در بقیه غلظت‌ها در جمعیت غیرفلزدوست تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد.

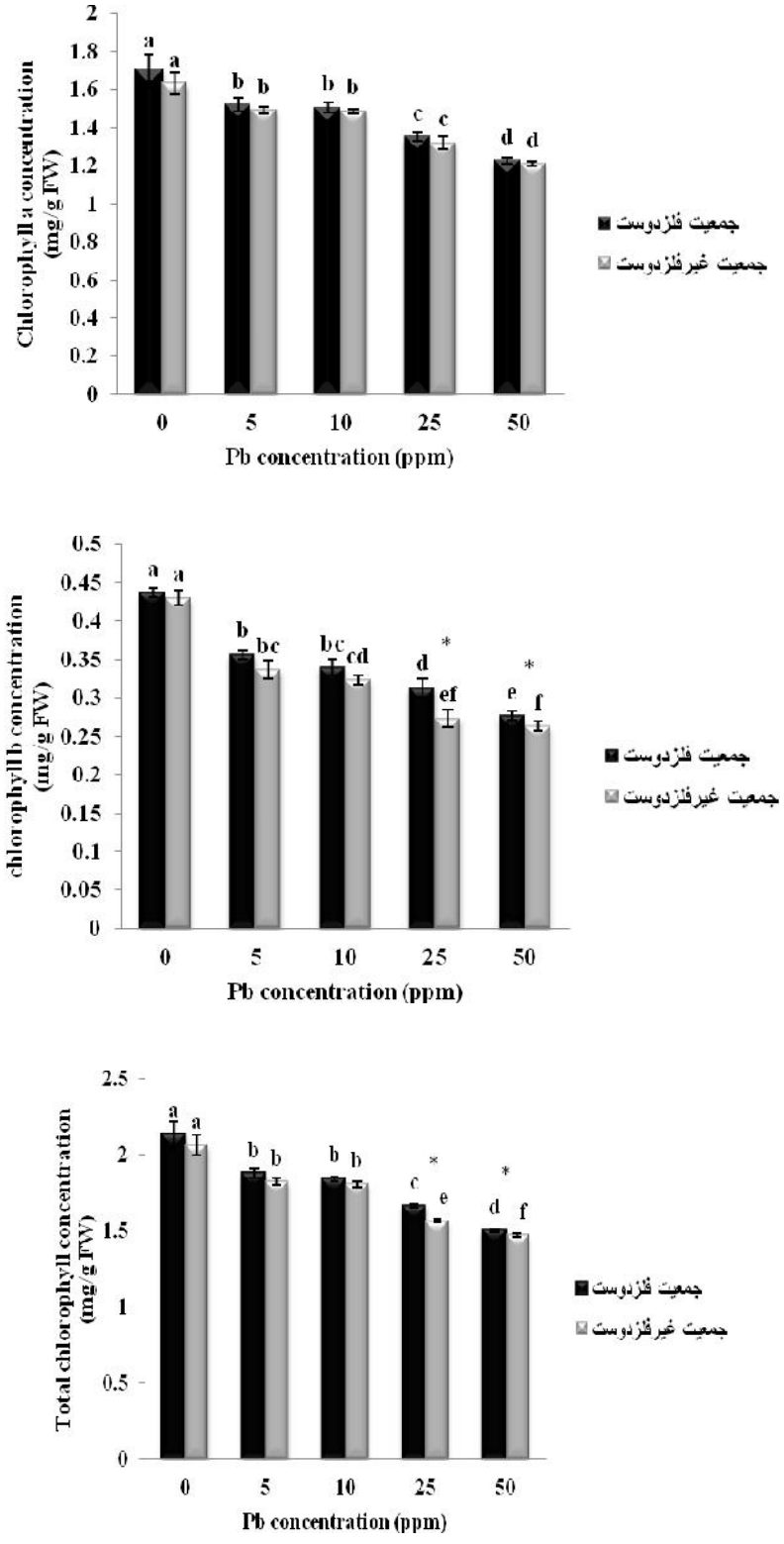
بنابراین بین دو جمعیت در غلظت‌های ۵ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار قندهای محلول در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر سرب در جمعیت فلزدوست مشاهده شد، به‌طوری‌که نسبت به کنترل ۱۲۹ درصد افزایش نشان داد. نتایج نشان داد که غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب در جمعیت غیر فلزدوست مقادیر کمتری را نشان دادند اما تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان ندادند.



www.SID.ir

Archive of SID





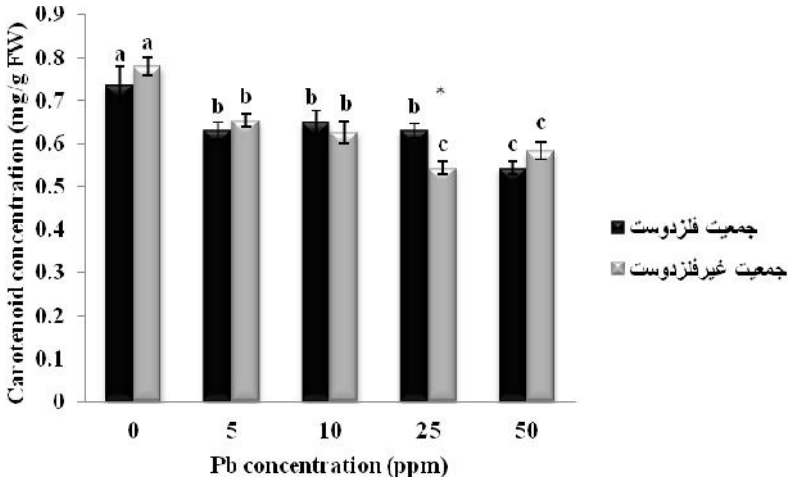

*شکل ۳ : اثر غلظت‌های مختلف سرب بر تغییرات غلظت کلروفیل a، b و کل در دو جمعیت گیاه Peganum harmala (جمعیت فلزدوست کوشک و جمعیت غیر فلزدوست کرمان) بعد از دو هفته تیمار (میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیر مشترک، به‌طور جداگانه در هر سری از جمعیت فلزدوست یا غیر فلزدوست، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون Tukey HSD (p< ۰/۰۵) است. علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو جمعیت است.*



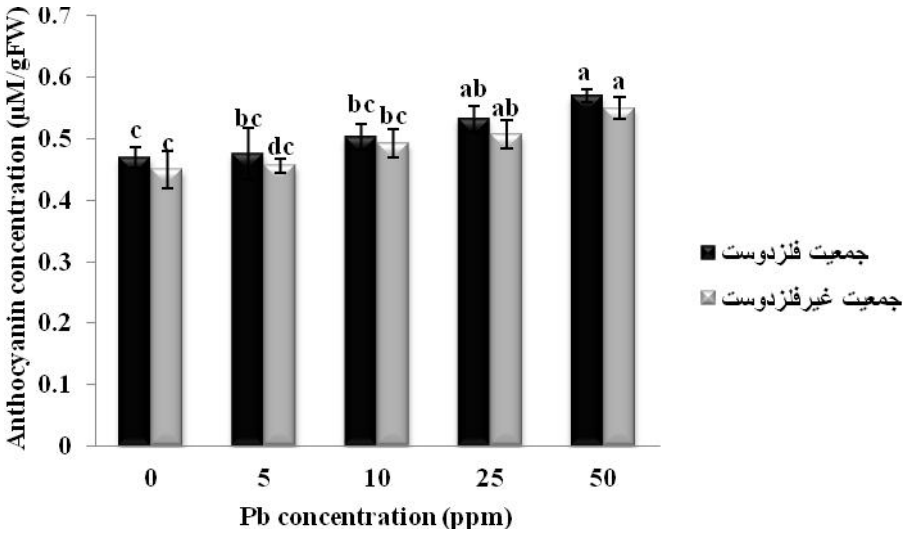
www.SID.ir

Archive of SID






*شکل ۴ : اثر غلظت‌های مختلف سرب بر تغییرات غلظت کاروتنوئید در دو جمعیت گیاه Peganum harmala (جمعیت فلز دوست کوشک و جمعیت غیر فلز دوست کرمان) بعد از دو هفته تیمار (میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیر مشترک، به‌طور جداگانه در هر سری از جمعیت فلزدوست یا غیر فلز دوست، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون Tukey HSD ($p<۰/۰۵$) است. علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو جمعیت است.*



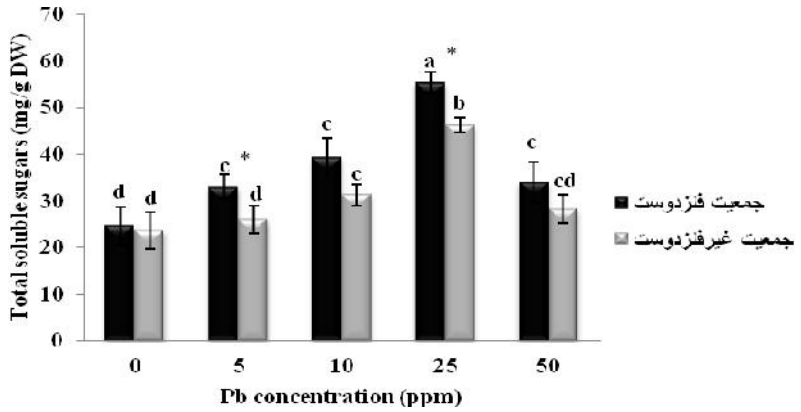

*شکل ۵ : اثر غلظت‌های مختلف سرب بر مقدار آنتوسیانین در دو جمعیت گیاه Peganum harmala (جمعیت فلزدوست کوشک و جمعیت غیر فلزدوست کرمان) بعد از دو هفته تیمار (میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیر مشترک، به‌طور جداگانه در هر سری از جمعیت فلز دوست یا غیر فلز دوست، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون Tukey HSD ($p<۰/۰۵$) است.*



www.SID.ir

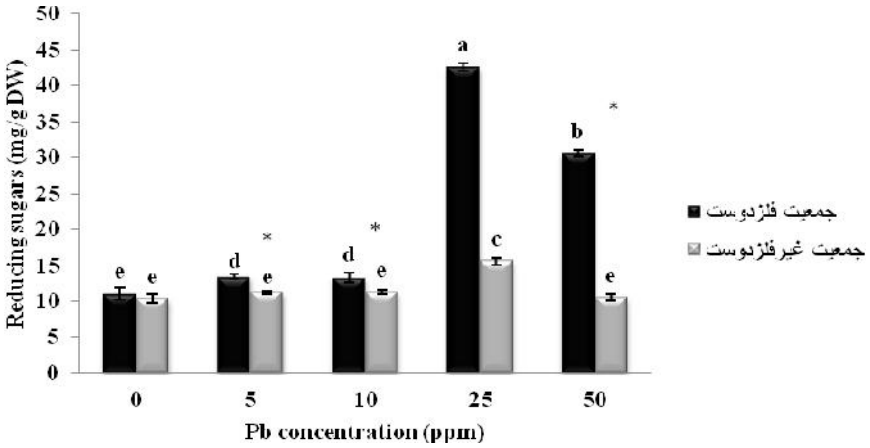
Archive of SID






*شکل ۶: اثر غلظت‌های مختلف سرب بر مقدار قندهای محلول در دو جمعیت گیاه Peganum harmala (جمعیت فلزدوست کوشک و جمعیت غیر فلز دوست کرمان) بعد از دو هفته تیمار (میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیر مشترک، به‌طور جداگانه در هر سری از جمعیت فلزدوست یا غیر فلزدوست، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون Tukey HSD ($p<۰/۰۵$) است. علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو جمعیت است.*

نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف سرب در شکل ۷ نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف سرب باعث افزایش معنی‌دار قندهای احیا در جمعیت فلزدوست گیاه اسپند می‌شوند اما در جمعیت غیر فلز دوست تنها در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر سرب افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد مشاهده می‌شود، در بقیه غلظت‌های جمعیت غیر فلز دوست تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نمی‌شود. نتایج آنالیز نشان داد که بین دو جمعیت فلز دوست و غیر فلز دوست تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود، به‌طوری‌که بیشترین مقدار قندهای احیاء در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر سرب در جمعیت فلزدوست مشاهده می‌شود، به‌طوری‌که نسبت به کنترل ۲۸۱ درصد افزایش نشان داد. نتایج نشان داد که غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب در جمعیت غیر فلز دوست مقادیر کمتری را نشان دادند اما تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان ندادند. بنابراین در غلظت‌های مختلف سرب، جمعیت فلز دوست افزایش معنی‌داری در محتوای قندهای احیا نسبت به جمعیت غیر فلز دوست نشان می‌دهد.




*شکل ۷: اثر غلظت‌های مختلف سرب بر مقدار قندهای احیا شده در دو جمعیت گیاه Peganum harmala (جمعیت فلز دوست کوشک و جمعیت غیر فلز دوست کرمان) بعد از دو هفته تیمار (میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیر مشترک، به‌طور جداگانه در هر سری از جمعیت فلز دوست یا غیر فلز دوست، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون Tukey HSD ($p<۰/۰۵$) است. علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو جمعیت است.*

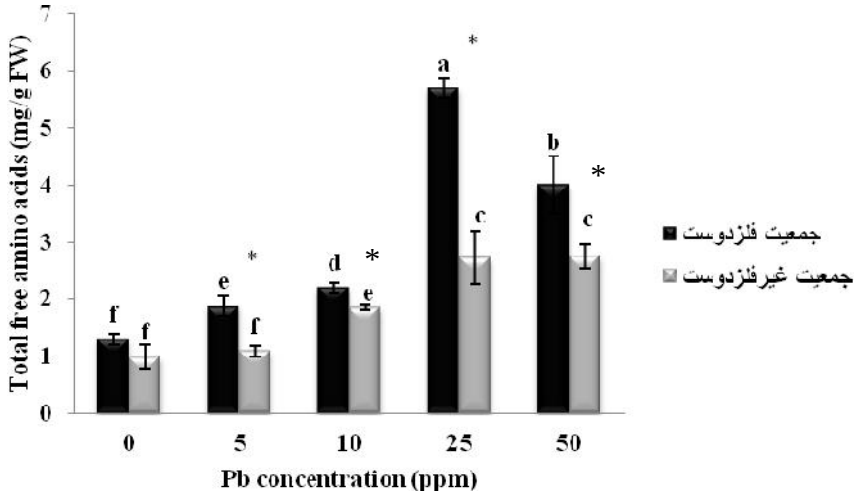


www.SID.ir

Archive of SID



با توجه به شکل ۸ مشخص است که تیمار سرب در تمام غلظت‌ها باعث افزایش معنی‌دار محتوای آمینواسیدهای آزاد نسبت به گیاهان شاهد در هر دو جمعیت شده است اما در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر سرب در جمعیت غیر فلز دوست تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. همچنین بر طبق آنالیزهای انجام شده بین دو جمعیت تفاوت معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار آمینواسیدهای آزاد در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر سرب در جمعیت فلزدوست در مقایسه با سایر غلظت‌ها مشاهده شد، به‌طوری‌که نسبت به شاهد ۳۳۸ درصد افزایش نشان داد. کمترین مقدار آمینو اسیدهای آزاد در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر سرب در جمعیت غیر فلز دوست مشاهده شد اما تفاوت معنی داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. بنابراین در غلظت‌های مختلف سرب، جمعیت فلزدوست افزایش معنی‌داری در محتوای آمینو اسیدهای آزاد نسبت به جمعیت غیر فلز دوست نشان داد.




*شکل ۸: اثر غلظت‌های مختلف سرب بر مقدار آمینو اسیدهای آزاد در دو جمعیت گیاه Peganum harmala (جمعیت فلز دوست کوشک و جمعیت غیر فلز دوست کرمان) بعد از دو هفته تیمار (میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد). حروف غیر مشترک، به‌طور جداگانه در هر سری از جمعیت فلز دوست یا غیر فلز دوست، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون Tukey HSD ($p<0/05$) است. علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو جمعیت است.*

## بحث

وجود فلزات سنگین در محیط زیست گیاهان نوعی عامل تنش‌زا می‌باشد که باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیک شده و می‌تواند موجب کاهش توان رشد گیاه و در حالت شدیدتر باعث از بین رفتن گیاه شود. گیاهان را بر اساس قابلیت رشد در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به دو گروه حساس و مقاوم تقسیم می‌کنند. گیاهان حساس در این شرایط آسیب دیده و از بین می‌روند، در حالی‌که گیاهان مقاوم در این شرایط همچنان به رشد و تولید مثل خود ادامه می‌دهند (۲۱). سرب از جمله عناصر سمی و غیرضروری برای گیاهان است. آلودگی شدید سرب خاک ممکن است باعث مشکلات محیطی گوناگونی از جمله کاهش رویش، آلودگی آب‌های زیر زمینی و سمیت سرب در گیاهان، حیوانات و انسان شود (۲۲). برای ارزیابی میزان مقاومت نسبت به سرب در گیاه اسپند، اثر غلظت‌های مختلف سرب بر عملکرد طول ریشه و اندام هوایی دو جمعیت گیاه اسپند در شرایط هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله، افزایش غلظت سرب در محلول غذایی سبب کاهش طول ریشه و بخش هوایی در هر دو جمعیت شده است. اثر ممانعت‌کنندگی سرب می‌تواند ناشی از تداخل سرب با فعالیت تعدادی از آنزیم‌های ضروری برای متابولیسم طبیعی و فرآیندهای نموی و همچنین عملکردهای متنوع فتوسنتزی باشد. مهار فتوسنتز علامت شناخته شده سمیت سرب است. این مهار



www.SID.ir

Archive of SID



به‌علت تمایل سرب به لیگاندهای پروتئینی N و S، کاهش فعالیت فردوکسین-+NADP ردوکتاز، کاهش فعالیت دلتا-آمینولوولینیک اسید دهیدراتاز به‌دلیل اتصال سرب به گروه‌های SH- این آنزیم و مهار سنتز کلروفیل، مهار کاتالیز آنزیمی چرخه کالوین و افزایش فعالیت کلروفیلاز می‌باشد (۲۳ و ۲۴).

سرب برای گیاهان بسیار سمی بوده و عموما ریشه‌ها بسیار حساس‌تر از بخش‌های هوایی هستند (۲۵). میزان رشد ریشه یک گیاه به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم مقاومت گیاه نسبت به غلظت‌های مختلف یک فلز سنگین می‌باشد (۲۶). همچنین از آن‌جا که ریشه به‌طور ویژه‌ای به حضور فلزات سمی حساس می‌باشد، طول ریشه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین معیارهای اثرات سمیت فلزات بر گیاهان معرفی شده است (۲۷). علاوه بر این، اولین نشانه قابل مشاهده سمیت سرب، ممانعت از رشد ریشه می‌باشد (۲۸، ۲۹ و ۳۰). بنابراین در این بخش میزان رشد ریشه در غلظت‌های مختلف سرب اندازه گیری شد. به‌وسیله تعدادی از محققین در مورد یک‌سری از گیاهان تغییرات نامطلوب در ظاهر ریشه‌های تیمار شده با سرب از جمله قهوه‌ای شدن ریشه، ممانعت از رشد و کاهش بیوماس گزارش شده است (۳۰ و ۳۱). دو هفته پس از تیمار سرب، کاهش طول ریشه به‌طور مشهودی در هر دو جمعیت فلز دوست و غیر فلزدوست گیاه اسپند که در معرض تیمار سرب قرار گرفته بودند قابل مشاهده بود. نتایج آنالیز نشان داد که بین دو جمعیت تفاوت معنی‌داری از نظر رشد ریشه وجود دارد، به‌طوری‌که کمترین طول ریشه در تیمار سرب ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جمعیت غیر فلز دوست مشاهده می شود که نشان دهنده وجود هر گونه سازش ریز تکاملی به غلظت بالای سرب در منطقه معدنی کوشک است. همچنین Mohtadi و همکاران (۳۲) نشان دادند که *Silene vulgaris* و *Noccaea caerulescens* مقاومت به سرب در جمعیت‌های فلزدوست به‌طور معنی‌داری بیشتر از جمعیت‌های غیر فلزدوست می‌باشد.

سرب طیف گسترده‌ای از اثرات سمی مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در موجودات زنده ایجاد می‌کند. این فلز رشد گیاه، افزایش طول ریشه، جوانه زنی بذر، تکوین گیاهچه، تعرق، تولید کلروفیل، سازماندهی لاملار در کلروپلاست و تقسیم سلولی را مختل می‌سازد (۳۳). فلزات سنگین عملکرد فتوسیستم های I و II را تحت تاثیر قرار داده و با تخریب و تجزیه پروتئین‌های کلروفیلی گیرنده پروتون در فتوسیستم II، ظرفیت گرفتن پروتون و در نتیجه بازده فتوسنتز را کاهش می‌دهند. کاهش نسبت chla/chlb تحت تیمار فلزات سنگین در مطالعات متعدد گزارش شده است (۳۴). سرب رشد برگ، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت های آنزیمی برای جذب $CO_2$ را کاهش داده از طریق مهار بیوسنتز کلروفیل، محتوای کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a و b را کاهش می‌دهد. جایگزینی منیزیم مرکزی کلروفیل با سرب مانع از گرفتن نور و منجر به نقص فتوسنتز می‌شود (۳۵). Gupta و همکاران (۳۶) نشان دادند که مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی ذرت در گیاهک‌های رشد یافته هیدروپونیک تحت تنش سرب تنها در صورت مواجهه با غلظت‌های بالای سرب کاهش می‌یابد. کاروتنوئیدها در سمیت زدایی کلروفیل نقش دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند. همچنین کاهش چشمگیر محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در گیاه لوبیا و حرا تحت تیمار سرب گزارش شده است (۳۷ و ۳۸). به‌طور کلی نتایج مطالعات مختلف نشان داد که تمامی فلزات سنگین به‌دلایل ذکر شده می‌توانند باعث کاهش میزان کلروفیل شوند. در این پژوهش نیز اثر سرب بر گیاه اسپند باعث کاهش معنی‌دار در مقادیر کلروفیل‌ها نسبت به گیاهان کنترل شد که با یافته‌های دیگر همسو می‌باشد (۳۹ و ۴۰).

یکی از ترکیبات فنلی آنتوسیانین است، که در پاسخ به انواع استرس‌های اکسیداتیو افزایش می‌یابد (۴۱). همچنین نقش آنتوسیانین در سمیت‌زدایی فلزات سنگین از طریق تشکیل کمپلکس‌های فلز-آنتوسیانین می‌باشد (۱۱). Kumar و همکاران (۴۲) پیشنهاد کردند که در گیاهان،



www.SID.ir

Archive of SID



سنتز آنتوسیانین استراتژی موثری بر علیه تولید ROS با توجه به تنش سرب می‌باشد. غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌مولار سرب سنتز آنتوسیانین را در Talinum triangulare تحریک می‌کنند. آنتوسیانین‌ها از طریق مسیر فنیل پروپانوئید سنتز شده‌اند. اولین مرحله آنزیمی تبدیل فنیل‌آلانین به ترانس‌سینامیک‌اسید است که توسط فنیل-آلانین‌آمونیوم‌لیاز کاتالیز می‌شود. بنابراین غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب باعث تحریک فعالیت فنیل-آلانین آمونیوم‌لیاز می شوند و در نتیجه تولید آنتوسیانین در گیاه اسپند افزایش می‌یابد، که ممکن است آنتوسیانین به فلز باند شده و در سم‌زدایی نقش داشته باشد. برخی از آمینو اسیدها و مشتقات آن‌ها در زمره مهم‌ترین کلاتورها و یا لیگاندهای فلزات سنگین می‌باشند و در مقاومت به فلزات سنگین حایز اهمیت می‌باشند (۴۳). در این پژوهش نیز محتوای آمینواسیدهای آزاد در پاسخ به سرب در هر دو جمعیت روندی افزایشی داشت.

تنش‌هایی مانند خشکی، شوری و حضور فلزات سنگین منجر به تغییر وضعیت و اختلال در تعادل اسمزی گیاهان می‌شوند. گیاهان برای مقابله با تنش اسمزی ناشی از فلزات سنگین، مکانیسم‌های سازشی مختلفی را به‌کار می‌گیرند. گیاهان دارای مقاومت بالا از قبیل ذرت، تعادل اسمزی خود را با افزایش بیوسنتز متابولیت های محافظ مانند پرولین، بتائین و کربوهیدرات‌های احیا کننده حفظ می‌نمایند. متابولیت‌های قندی با تبدیل پلی‌ساکاریدها و اولیگوساکاریدها به یکدیگر، تعادل اسمزی را کنترل می‌نمایند. کربوهیدرات‌های احیاکننده باعث کاهش خسارت‌های اکسیداتیو و حفظ ساختار پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در طول تنش می‌شوند (۴۴). افزایش قندهای محلول در اغلب شرایط تنش زا به‌عنوان یک مکانیسم تحمل در برابر تنش است و در واقع باعث تنظیم پتانسیل آب سلول در بخش سیتوزول برای مقابله با غلظت بالای یون‌های جذب شده و تجمع یافته در واکوئل می‌گردد. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به‌دنبال تجمع کادمیوم در سلول‌ها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه بر این افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد. Dubey (۴۵)، Hurry (۴۶) و Verma (۴۷) گزارش کرده‌اند که تنش ناشی از کادمیوم باعث افزایش قندهای محلول در ۲ واریته از برنج شده است، به‌طوری‌که تنش ناشی از کادمیوم با تاثیر بر فعالیت آنزیم‌های اینورتاز و سوکروز سنتتاز باعث افزایش قندهای محلول شده است. Aldoobie و همکاران (۳۷) افزایش معنی‌دار قندهای احیا کننده گیاه لوبیا را تحت تیمار سرب نشان دادند (۳۷). افزایش محتوای این قندها تحت آلودگی کادمیوم در گیاه جو نیز گزارش شده است (۴۸).

## نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش، افزایش معنی‌دار محتوای قندهای احیا کننده تحت غلظت‌های مختلف سرب را در هر دو جمعیت اسپند نشان داد. غلظت بالای کربو هیدرات‌های احیا کننده باعث کاهش خسارت‌های اکسیداتیو و حفظ ساختار پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در طول تنش می‌شود. همچنین با افزایش میزان قندهای محلول در گیاه اسپند، سازش گیاه را برای حفظ شرایط اسمزی نشان می‌دهد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش رشد طولی ریشه گیاه اسپند نشان از آثار سمیت سرب است. بنابراین با توجه به نتایج فوق به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که مقادیر بالاتر آنتوسیانین، قندهای محلول، قندهای احیا و آمینواسیدهای آزاد در جمعیت فلزدوست، نشان دهنده ظرفیت بهتر مقاومت به سرب در این جمعیت است.

## تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه اصفهان و همچنین قطب علمی تنش های گیاهی (دانشگاه اصفهان) به دلیل حمایت مالی از این تحقیق صمیمانه سپاسگزاری می شود.



www.SID.ir

Archive of SID



## منابع


1. Seregin IV, Ivaniov VB. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. Russ J Plant Physiol. 2001; 48(4): 606-630.

2. Sharma P, Dubey RS. Lead toxicity in plants. Braz J Plant Physiol. 2005; 17(1): 35–52.

3. Burzynski M. The influence of lead and cadmium on the absorbtion and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings. ACTA Physiol Plant. 1987; 9: 229-238.

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

5. Piotrowska A, Bajguz A, Godlewska-Z-Ylkiewicz B, Zambrzycka EB. Changes in growth, biochemical components, and antioxidant activity in aquatic plant Wolffia arrhiza (Lemnaceae) exposed to cadmium and lead. Arch Environ Contam Toxicol. 2010; 58: 594-604.

6. Reddy AM, Kumar SG, Jyonthsnakumari G, Thimmanaik S, et al. Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (Macrotyloma uniflorum (Lam.) Verdc.) and bengalgram (Cicer arietinum L.). Chemosphere. 2005; 60: 97–104.

7. Verma S, Dubey RS. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alerts the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Sci. 2003; 164(4): 645-655.

8. Meier H, Reid J.S. Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. In: Encyclopedia of Plant Physiol, New series. Loewus FA., Tanner W (eds.). Springer- Verlag, Berlin; 1982; 13: 418-471.

9. Prado FE, Boero C, Gallarodo M, Gonzalez JA. Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in Chenopodium quinoa willd seeds. Bot Bull Acad Sinica. 2000; 41: 27-34.

10. Pascual-Teresa S, Sanchez-Ballesta MT. Anthocyanins: from plant to health. Phytochemistry Rev. 2007; 7: 281-299.

11. Boulton R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. Am J Enol Vitic. 2001; 52: 67-87.

12. Ayala-Silva T, Al-Hamdani SH. Interactive effects of polylactic acid with different aluminum concentrations on growth pigment concentrations, and carbohydrate accumulation of Azolla. Am Fern J. 1997; 87: 120-126.

13. Gardner JL, Al-Hamdani SH. Interactive effect of aluminum and humic substances on Salvinia. J Aquat Plant Manage. 1997; 35: 30-34.

14. Wilson G, Al-Hamdani SH. Effects of chromium (VI) and humic substances on selected physiological responses of Azolla caroliniana. Am Fern J. 1997; 87: 17-27.

15. Mohtadi A, Ghaderian SM. Evaluation of auxin (IAA) and kinetin effects on lead uptake and accumulation in Matthiola flavida Boiss. J Cell Tissue (JCT). 2012; 3(2): 161-169.

16. Dubois M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal Chem. 1956; 28(3):350–356.

17. Jeffries TW, Yang VW, Davis MW. Comparative study of xylanase kinetics using dinitrosalicylic, arsenomolybdate, and ion chromatographic assays. Appl Biochem Biotech. 1988; 70–72, 257–265.

18. Wagner GJ. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiol. 1979; 64(1): 88–93.

19. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In: Methods in Enzymology, eds. L. Packer, and R. Douce. New York: Academic Press; 1987; 350–382.

20. Hwang M, Ederer GM. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. J Clin Microbiol. 1975; 1: 114-117.

21. Baker A.J.M, Mc Grath S.P, Reeves R.D, Smith J.A.C. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: Phytoremediation of contaminated soil and water (eds. Terry, N. and Banuelos, G.). CRC Press, Boca Raton, Florida, USA; 2000; 85-107.

22. Sekhar KC, Kamala CT, Chary NS, Balaram V, et al. Potential of Hemidesmus indicus for phytoextraction of lead from industrially contaminated soils. Chemosphere. 2005; 58(4): 507-514.

23. Han YL, Huang SZ, Gu JG, Qiu S, et al. Tolerance and accumulation of lead by species of Iris L. Ecotoxicology. 2008; 17(8): 853-859.

24. Sayed SA. Effects of lead and kinetin on the growth, and some physiological components of safflower. Plant Growth Regul. 1999; 29: 167-174.

25. Joseph LU, Andrea LC, Tarun KM. Effects of lead contamination on the growth of Lythrum salicaria (Purple loosestrife). Environ Pollut. 2002; 120(2): 319-323.




www.SID.ir

Archive of SID



26. Archambault CJ, Winterhalder K. Metal tolerance in Agrostis scabra from the Sudbury Ontario area. Can J Bot. 1995; 73(5): 766-775.

27. Baker AJM, Walker PL. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects (ed. Shaw, A. J.). CRC Press, Boca Raton, Florida. 1990; 155-177.

28. Almeida AF, Valle AA, Mielke MS, Gomes FP, et al. Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. Plant Physiol. 2007; 19(2): 83-98.

29. Huang JW, Cunningham SD. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. New Phytol. 1996; 134(1): 75-84.

30. Piechalak A, Tomaszewaska B, Baralkiewisaz D. Accumulation and detoxification of lead ion in legumes. Phytochemistry. 2002; 60(2): 153-162.

31. Yang Y, Jung J, Song W, Sun H, et al. Identification of rice varieties with high tolerance or sensivity to lead and characterization of the mechanism of tolerance. Plant Physiol. 2000; 124: 1019-1026.

32. Mohtadi A, Ghaderian SM, Shat H. A comparison of lead accumulation and tolerance among heavy metal hyperaccumulating and non-hyperaccumulating metallophytes. Plant Soil. 2012; 352(1-2): 267-276.

33. Pourrut B, Shahid M, Dumat C, Winterton P, et al. Lead uptake, toxicity and detoxification in plants. Rev Environ Contam Toxicol. 2011; 213: 113-136.

34. Cheng S. Effect of heavy metals on plants and resistance mechanisms. Environ Sci Pollut Res. 2003; 10(4): 256-264.

35. Patra M, Bhowmik N, Bandopadhyay B, Sharma A. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environ Exp Bot. 2004; 52(3): 199-223.

36. Gupta DK, Nicoloso FT, Schetinger MRC, Rossato LV, et al. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown Zea mays seedlings under moderate lead stress. J hazard mater. 2009; 172(1): 479-484.

37. Aldoobie NF, Beltagi MS. Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (phaseolus vulgaris L.) plants to heavy metals stress. Afr J Biotechnol. 2013; 12(29): 4614-4622.

38. Wang P, Zhang S, Wang C, Lu J. Effects of Pb on the oxidative stress and antioxidant response in a Pb bioaccumulator plant Vallisneria natans. Ecotoxicol Environ Saf. 2012; 78: 28-34.

39. Akinci IE, Akinci S, Yilmaz K. Response of tomato (Solanum lycopersicum L.) to lead toxicity: growth, element uptake, chlorophyll and water content. Afr J Agric Res. 2010; 5: 416–423.

40. Shu X, Yin LY, Zhang QF, Wang WB. Effect of Pb toxicity on leaf growth, antioxidant enzyme activities, and photosynthesis in cuttings and seedlings of Jatropha curcas L. Environ Sci Pollut Res. 2012; 19(3): 893–902.

41. Doong RL, MacDonald GE, Shilling DG. Effect of fluoridone on chlorophyll, carotenoid, and anthocyanin content of Hydrilla. J Aquat Plant Manage. 1993; 31: 55-59.

42. Kumar A, Prasad MNV, Sytar O. Lead toxicity, defense strategies and associated indicative biomarkers in Talinum triangulare grown hydroponically. Chemosphere. 2012; 89(9): 1056-1065.

43. Baker A.J.M, McGrath S.P, Reeves R.D, Smith J.A.C. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: Phytoremediation of Contaminated Soil and Water (eds. Terry, N. and Banuelos, G.). CRC Press, Boca Raton, Florida, USA; 2000; 85-107.

44. Dubey R.S. Photosynthesis in plants under stressfull conditions.In:Pessarakli, M.(eds) Hand book of photosynthesis. Dekker New York; 1997; 859-876.

45. Dubey RS, Singh AK. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plants. Plant Biol. 1999; 42: 233-239.

46. Hurry VM, Strand Å, Tobiæson M, Gardeström P, et al. Cold hardening of spring and winter-wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content. Plant Physiol. 1995; 109(2): 697-706.

47. Verma S, Dubey RS. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Plant Biol. 2001; 44: 117-123.

48 . Gubrelay U, Agnihotri RK, Singh G, Kaurl R, et al. Effect of heavy metal cd on some physiological and biochemical parameters of Barley (Hordeum vulgare L.). Intl J Agri Crop Sci. 2013; 5(22): 2743-2751.



www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Cell & Tissue (JCT) *Original Article*
Winter 2016; 6(4): 543-555

# The Effect of Different Concentrations of Lead on Some Physiological Parameters in Two Populations of Harmal *(Peganum harmala L.)*

Mahdavian K, Ph.D. [1,2], Ghaderian SM, Ph.D.[1*], Torkzadeh Mahani M, Ph.D.[3]

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2. Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran
3. Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology of Kerman, Iran

* Email corresponding author: ghaderian@sci.ui.ac.ir

Received: 19 May. 2015 Accepted: 13 Oct. 2015

**Abstract**

**Aim:** The aim of the present study was to investigate the effect of lead concentrations on the growth, antocyanin, chlorophyll, carotenoid, total soluble sugars, reducing sugars and free amino acids of harmal (Peganum harmala L.) populations.

**Material and methods:** Plants of two different *Peganum harmala* populations (metallicolous and non metallicolous) were grown in hydroponic condition. Then plants were exposed to 0, 5, 10, 25 and 50 ppm Pb for 14 days. Finally, parameters were measured and calculated by spectrophotometer.

**Results:** Results showed that the increase of Pb concentrations in the nutrient solution reduced root length and there were significant difference between two populations. Chlorophylls and carotenoid pigments were generally decreased by Pb concentrations, especially under the highest Pb treatment (50 ppm) in both populations. Anthocyanin, total soluble sugars and free amino acids were increased in both populations.

**Conclusion:** The higher amounts of anthocyanin, total soluble sugars and free amino acids in metallicolous population reflecting the higher degree of tolerance to Pb in this population.

**Key words:** Growth, Harmal, Lead, Photosynthetic pigments, Sugar



www.SID.ir