زیست‌شناسی گیاهی، سال چهارم، شماره یازدهم، بهار ۱۳۹۱، صفحه ۷۳-۸۶
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۲/۱۰
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۰/۰۴/۲۲
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۰/۰۸/۱۴
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۰/۰۸/۲۲

بررسی فیزیولوژیک گیاه آفتابگردان تحت تنش کروم: تأثیر بر رشد، تجمع و القای تنش اکسیداتیو در ریشه آفتابگردان (*Helianthus annuus*)

پریا سادات پیروز، خسرو منوچهری کلانتری * و فاطمه نصیبی
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

چکیده

کروم یک فلز سنگین سمّی برای میکروارگانیسم‌ها، حیوانات و گیاهان محسوب می‌شود که به علت استفاده‌های وسیع صنعتی طی دهۀ اخیر، به یک آلاینده جدی محیطی تبدیل شده است. غلظت‌های بالای کروم به عنوان عاملی تنش‌زا برای گیاهان به شمار می‌رود که می‌تواند به عنوان یک عامل محدود کننده رشد، خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد. سمّیت در اثر این فلز همچنین می‌تواند از طریق تولید رادیکال‌های آزاد، سبب القا تنش اکسیداتیو شود. این پژوهش به منظور بررسی اثر غلظت‌های متفاوت کروم بر رشد، تجمع و همچنین، القا تنش اکسیداتیو در ریشه گیاه آفتابگردان (*Heliantus Annuus*) انجام گرفته است. گیاهان ۴ هفته‌ای آفتابگردان که در شرایط گلخانه‌ای کشت داده شده بودند، با فلز کروم به صورت محلول کلرید کروم ($CrCl_3.6H_2O$) در ۶ غلظت ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار همراه با محلول غذایی تیمار و پس از ۳ هفته، گیاهان برای انجام آنالیزهای فیزیولوژیک و بیوشمیایی برداشت شدند. نتایج نشان داد که غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کروم در محلول غذایی موجب کاهش شاخص‌های رشد ریشه (وزن تر و خشک، طول ریشه) شد، اما غلظت‌های پایین‌تر اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشت. مقدار مالون دآلدهید ریشه به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشای ریشه در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کروم به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت و این بیانگر ایجاد تنش اکسیداتیو ناشی از غلظت‌های به کار رفته کروم در گیاه مورد آزمایش است. محتوای پرولین ریشه نیز افزایش معنی‌داری در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار نشان داد. میزان پروتئین‌های ریشه گیاه با کاهش معنی‌دار در غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌مولار، برای سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشت. محتوای آسکوربات ریشه گیاهان تحت تیمار با کروم، با افزایش غلظت کروم کاهش نشان داد، در حالی که میزان دهیدروآسکوربات و آسکوربات کل، تحت تیمار با این غلظت‌ها، افزایش معنی‌داری در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار نشان داد. از طرف دیگر، با تجمع چشمگیر کروم در ریشه آفتابگردان، به نظر می‌رسد در این تحقیق، کلیت شدن و کده‌بندی یون‌های کروم در ریشه یک مکانیسم مقاومتی است که آفتابگردان در تنش فلز کروم اتخاذ کرده است.

واژه‌های کلیدی: کروم، آفتابگردان (*Heliantus Annuus*)، شاخص‌های رشد، تجمع، تنش اکسیداتیو

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: kalantari@mail.uk.ac.ir، شماره تماس: ۰۳۴۱۳۲۲۲۰۳۲

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

فلزات سنگین به گروهی از فلزات با چگالی بیش از ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب اطلاق می‌شوند (Prasad and Strzaka, 2002). کروم (Cr) هفتمین عنصر فراوان روی کره زمین و یکی از مهمترین آلاینده‌های محیطی است که طی فرآیندهای وسیع صنعتی به خاک رها می‌شود (Panda and Choudhury, 2005). صنایع چرم‌سازی و دباغی، صنایع استیل‌سازی، کاشی‌سازی، حفاری چاه‌ها و غیره با رهاسازی پساب‌های صنعتی به آب‌های جاری، بیشترین سهم را در آلودگی با کروم به عهده دارند (Sundaramoorthy *et al*., 2010). تولید جهانی کروم ۱۰ میلیون تن در سال است که از این میزان ۶۰-۷۰ درصد در آلیاژهایی از قبیل استیل ضد زنگ و بقیه در پروسه‌های صنایع شیمیایی خصوصاً دباغی چرم، رنگدانه‌ها، الکتروپلیتینگ و نگهداری پشم استفاده می‌شود (Vernay *et al*., 2008). به طور طبیعی کروم در همهٔ فازهای محیطی شامل خاک، آب و هوا یافت می‌شود، اما منبع عمده آن خاک است که به صورت باند شده با ذرات خاک تجمع می‌یابد (Shanker *et al*., 2005). معادن کرومیت نیز منبع مهم کروم در طبیعت محسوب می‌شوند که با وجود با ارزش بودن می‌تواند برای پوشش گیاهی منطقه منبع آلودگی محسوب شود. معدن کرومیت نزدیک شهرستان بافق، از شهرهای استان کرمان و پوشش گیاهی آن منطقه از لحاظ مقاومت و تحمل نسبت به فلز کروم، یکی از چشم‌اندازهای این پژوهش بوده است.

کروم در طبیعت به اشکال متفاوت اکسید شده وجود دارد، اما پایدارترین شکل‌های کروم، کروم با ظرفیت سه (III) و کروم با ظرفیت شش (VI) هستند که از لحاظ خواص شیمیایی و اثرات ایجاد کننده کاملاً متفاوت عمل می‌کنند (Barnhart, 1997). کروم IV بسیار سمّی‌تر از کروم با ظرفیت III است که به عنوان یک عامل سرطان‌زای قوی برای انسان و حیوان تلقی می‌شود (Cohen *et al*., 1993; Zayed *et al*., 1998). در مقابل کروم III کمتر متحرک و سمّی بوده، اساساً به ماده آلی خاک و محیط‌های آبی باند می‌شود (Bishnoi *et al*., 1993; Barton *et al*., 2000).

غلظت‌های پایین کروم می‌تواند رشد گیاهان را افزایش دهد (Bonet *et al*., 1991; Samantaray *et al*., 1998)، در حالی که غلظت‌های بالاتر کروم برای انسان، حیوانات و گیاهان به شدت سمّی است، سبب افزایش خطرات ابتلای به انواع سرطان‌ها، ناهنجاری‌های ژنتیکی و غیره می‌گردد (Sharma and Mehrotra, 1993; Zhang *et al*., 2007). دامنه سمّیت کروم برای گیاهان زراعی از ۰/۵ تا ۵ میلی‌گرم بر لیتر در محلول غذایی و ۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک است (Panda and Choudhury, 2005). تجمع کروم در گیاه می‌تواند به مهار جوانه‌زنی دانه، کاهش محتوای رنگیزه، افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و القای تنش اکسیداتیو در گیاهان منجر شود. همچنین، می‌تواند سبب تغییر کلروپلاست و فراساختار غشا، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و کاهش فعالیت آسکوربیک پراکسیداز در گیاهان شود (McGrath, 1985; Panda and Patra, 1997; Panda and Patra, 1998; Panda and Patra, 2000; Panda *et al*., 2002; Panda, 2003; Panda and Choudhury, 2004; Hu *et al*., 2005; Shanker *et al*., 2005).

برخی از گونه‌های گیاهی در برابر میزان مشخصی از فلزات سنگین در خاک مقاوم بوده، توانایی جذب و

Archive of SID

www.SID.ir

تثبیت آنها را در بافت‌های درونی خود دارند. از طرفی در برخی از گیاهان آثار مسمومیّت چندان بارز نیست، ولی میزان محتوی فلزی موجود در گیاه، سلامت انسان و یا دام‌هایی که از آن تغذیه می‌کنند را به خطر می‌اندازد (Zayed *et al*., 1998; Chatterjee and Chatterjee, 2000). بنابراین، مطالعه اثر فلزات سنگین بر گیاهان از یک طرف برای شناسایی گیاهان مقاوم و استفاده از آنها در فناوری پاک‌سازی خاک‌های آلوده (Phytoremediation) و از سوی دیگر، به منظور تضمین سلامت انسان ضروری به نظر می‌رسد. لذا در این پژوهش، ضمن بررسی اثر غلظت‌های متفاوت فلز کروم بر شاخص‌های رشد و القای تنش اکسیداتیو در ریشه گیاه آفتابگردان، تجمع آن در ریشه از حیث بررسی بیش تجمع‌دهندگی (hyper-accumulatory) ریشه مطالعه گردید.

مواد و روش‌ها

گیاه مورد آزمایش در این پژوهش، آفتابگردان (*Helianthus annuus*) رقم KF84 بود که از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه گردید. ۳ بذر سالم و یک اندازه آفتابگردان، در گلدان‌هایی به قطر ۱۶ سانتی‌متر حاوی پرلیت اسیدشوی شده، کشت داده شد و در شرایط کنترل شده گلخانه اجازه رویش یافت. گلدان‌ها طی ۲ هفته نخست، تنها با آب، از شروع هفته سوم با کامل شدن برگ‌های لپه‌ای توسط محلول غذایی Long-Ashton با اسیدیته ۶-۶/۵ و از شروع هفته پنجم به مدت ۳ هفته با محلول‌های غذایی ۱:۲ رقت، حاوی ۶ غلظت کروم با مقادیر ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار، و یک گروه شاهد (محلول غذایی فاقد کروم) آبیاری شدند. محلول غذایی استفاده شده محلول Long-Ashton (Meidner, 1984) بود. پس از رشد دانه‌رُست‌ها، تعداد گیاهان هر گلدان به دو گیاه مشابه از لحاظ رشد، کاهش یافت.

مطالعه شاخص‌های رشد

اندازه‌گیری طول ریشه

طول ریشه با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. طول ریشه از یقه تا انتهای ریشه در نظر گرفته شد. برای هر گروه تیماری ۳ تکرار، هر تکرار از میانگین دو نمونه محاسبه و بر اساس واحد سانتی‌متر گزارش گردید.

اندازه‌گیری وزن تر (FW) و خشک (DW) ریشه گیاه

پس از جدا کردن ریشه از اندام هوایی، وزن تر برحسب گرم با ترازوی Sartorius مدل BPSIID با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده، به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد خشک شد تا وزن خشک ثابت شود، آنگاه وزن خشک نمونه‌ها با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد.

مطالعات بیوشیمیایی

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها

برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دآلدئید (MDA) به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) اندازه‌گیری شد.

سنجش غلظت پروتئین

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌ها از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده و با رسم منحنی استاندارد آلبومین میزان آن سنجش شد.

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه‌گیری مقدار پرولین

اندازه‌گیری غلظت پرولین اندام هوایی و ریشه گیاه از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده و با استفاده از رسم منحنی استاندارد میزان این آمینواسید سنجش شد.

سنجش مقدار آسکوربیک اسید و دی‌هیدروآسکوربیک اسید

برای تعیین مقدار آسکوربیک اسید و دی هیدروآسکوربیک اسید از روش de pinto و همکاران (۲۰۰۰) استفاده و با رسم منحنی استاندارد میزان این دو اسید سنجش شد.

تعیین میزان یون کروم در ریشه آفتابگردان به روش جذب اتمی

برای اندازه‌گیری تجمع یون کروم در بخش‌های مختلف گیاه، از روش جذب اتمی استفاده شد. پس از مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها در نیتریک اسید، اندازه‌گیری یون‌های کروم در بافت ریشه انجام شد. از محلول به دست آمده برای اندازه‌گیری در دستگاه جذب اتمی Atomic Absrbtion Spectrometer مدل SpectrAA 220 ساخت کشور آمریکا استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با تعداد ۶ تیمار و یک گروه به عنوان شاهد انجام شد. در هر تیمار ۳ گیاه به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۱ و آزمون ANOVA صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

نتایج

نتایج حاصل از اثر فلز کروم بر شاخص‌های رشد در ریشه آفتابگردان

رشد طولی ریشه

همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، رشد طولی ریشه گیاه آفتابگردان درگیاهان تحت تیمار با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کروم از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد نسبت به گیاهان گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد.

وزن تر و خشک ریشه

تیمار کروم بر وزن تر و خشک ریشه گیاه آفتابگردان با کاهش معنی‌دار در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد همراه بوده است و برای سایر غلظت‌ها تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نیست (شکل‌های ۲ و ۳).

نتایج حاصل از اثر فلز کروم بر شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در گیاه آفتابگردان

مالون دآلدهید ریشه

با افزایش غلظت کروم در محلول‌های تیمار، میزان مالون دآلدهید ریشه آفتابگردان افزایش یافته و افزایش برای غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار معنی‌دار بوده است (شکل ۴).

پروتئین ریشه

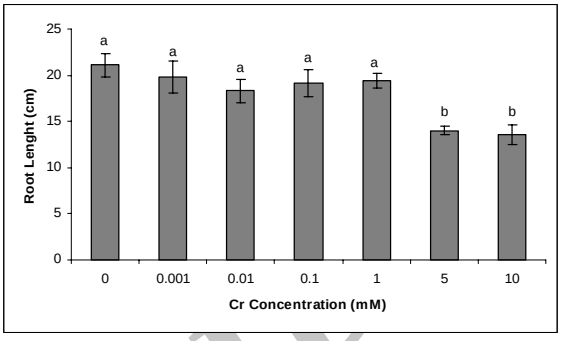
مقدار پروتئین ریشه آفتابگردان تحت تنش با فلز کروم، در غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌مولار نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد و برای سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد (شکل ۵).

Archive of SID

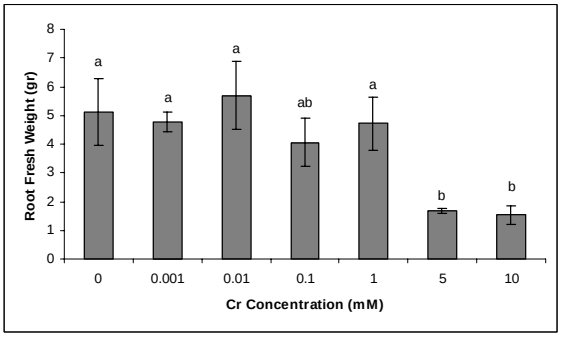
www.SID.ir

پرولین ریشه

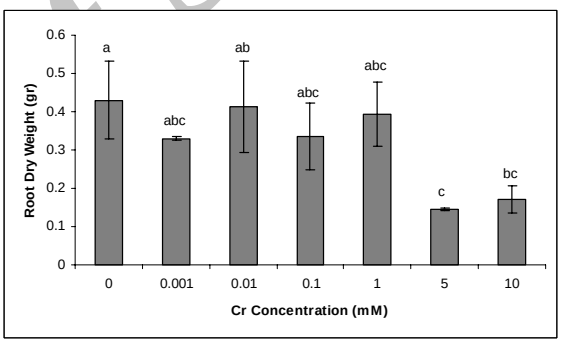
اثر تیمار فلز کروم بر گیاه آفتابگردان با افزایش مقدار پرولین ریشه همراه بود، افزایش برای گیاهان تحت تیمار با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار از نظر آماری معنی‌دار بود (شکل ۶).



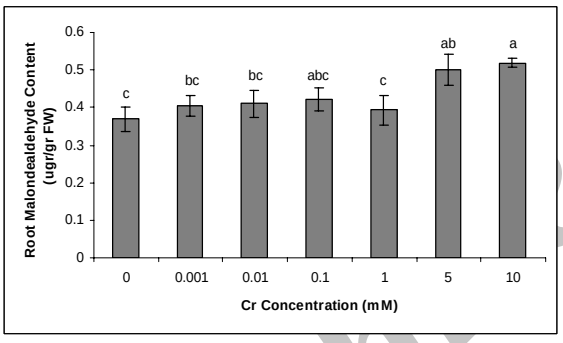
شکل ۱- اثر فلز کروم بر رشد طولی ریشه گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



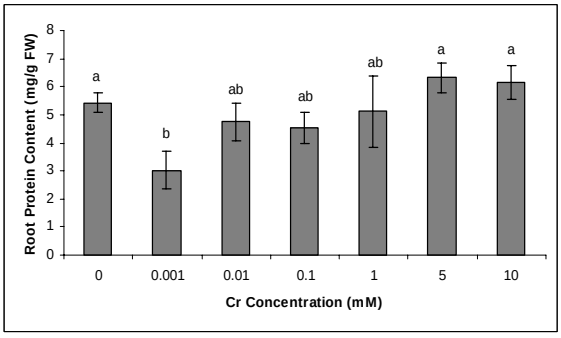
شکل ۲- اثر فلز کروم بر وزن تر ریشه گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



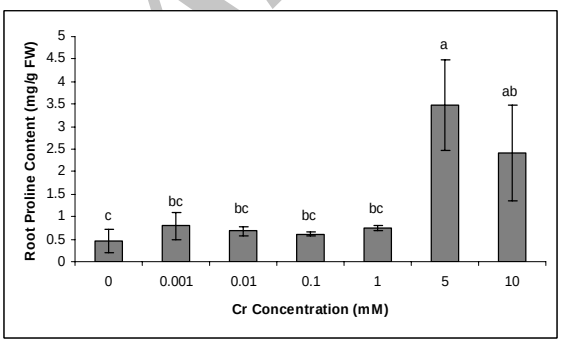
شکل ۳- اثر فلز کروم بر وزن خشک ریشه گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۴- اثر فلز کروم بر محتوای مالون دآلدهید ریشه گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۵- اثر فلز کروم بر میزان پروتئین ریشه در گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۶- اثر فلز کروم بر میزان پرولین ریشه در گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.

Archive of SID

www.SID.ir

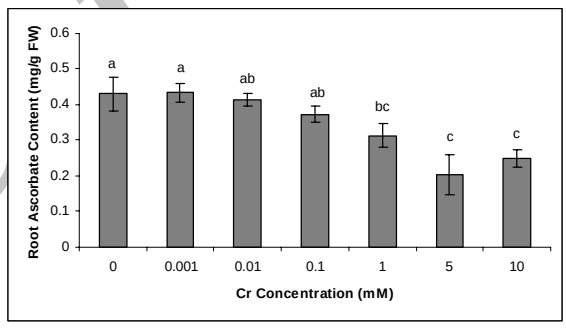
آسکوربات، دهیدروآسکوربات و آسکوربات کل ریشه

میزان آسکوربات ریشه گیاه آفتابگردان با افزایش غلظت کروم در محلول‌های تیمار نسبت به شاهد، کاهش نشان داد و کاهش برای غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کروم معنی‌دار بود، در حالی که میزان دهیدروآسکوربات ریشه با افزایش غلظت کروم روند افزایشی نشان داده و افزایش برای غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود.

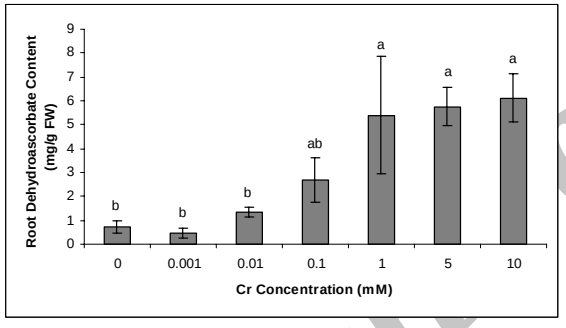
میزان آسکوربات کل ریشه نیز با افزایش غلظت کروم در محلول‌های تیمار افزایش یافته، برای غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کروم نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار بوده است (شکل‌های ۷، ۸ و ۹).

اثر تیمار فلز سنگین کروم بر تجمع این فلز در ریشه گیاه آفتابگردان

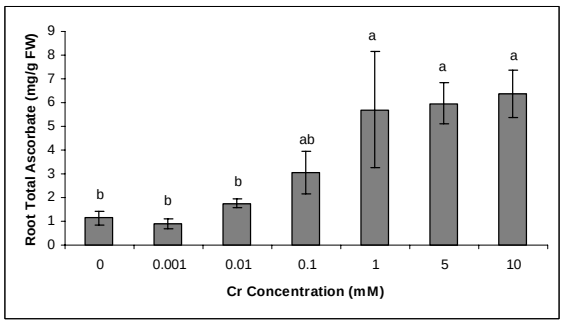
نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از اثر فلز سنگین کروم بر میزان تجمع این فلز در ریشه گیاه آفتابگردان نشان داد که با افزایش غلظت کروم در محلول‌های تیمار، تجمع این فلز در ریشه افزایش چشمگیری داشته، در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار معنی‌دار بوده است. بیشترین تجمع فلز کروم در ریشه گیاه آفتابگردان در غلظت ۵ میلی‌مولار کروم اتفاق افتاده است (شکل ۱۰).



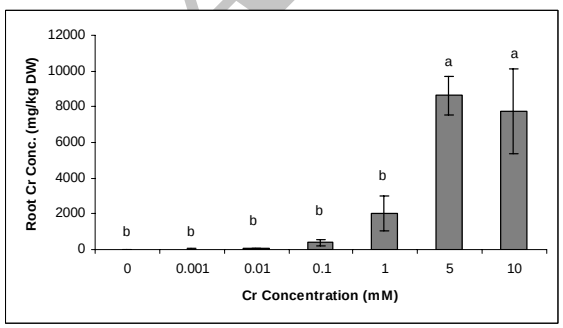
شکل ۷- اثر فلز کروم بر میزان آسکوربات ریشه در گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۸- اثر فلز کروم بر میزان دهیدروآسکوربات ریشه در گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۹- فلز کروم بر میزان آسکوربات کل ریشه در گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۴- اثر فلز کروم بر محتوای مالون دآلدهید ریشه گیاه آفتابگردان. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با ۳ تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

شاخص‌های رشد ریشه تحت اثر کروم

رشد و نمو در گیاه یک فرآیند ضروری برای زیست و گسترش گونه‌ها محسوب می‌شود. این دو فرآیند به طور اساسی به منابع خارجی موجود در آب و هوا وابسته هستند. رشد، نتیجه تعامل ژنوتیپ و محیط است که شامل شاخص‌های داخلی و خارجی می‌شود. گزارش شده است که حضور کروم در محیط خارجی به تغییراتی در الگوی رشد و نمو گیاه منجر می‌شود (Kocik and Ilavsky, 1994; Shanker *et al*., 2005; Sundramoorthy *et al*., 2010).

ریشه‌ها نخستین مکانی هستند که تحت تأثیر فلزات سنگین قرار می‌گیرند. نتایج حاصل از این پژوهش (اثر ۶ غلظت مختلف کروم III بر ریشه گیاه آفتابگردان) نشان داد که تیمار کروم III در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار رشد طولی ریشه می‌شود (شکل ۱). این نتایج با گزارش‌های Iqbal و همکاران (۲۰۰۱) مبنی بر کاهش رشد ریشه در گیاه *Caesalpinia pulcherima* تحت تیمار ppm ۱۰۰ کروم نیز مطابقت دارد. طول و وزن تر ریشه در گندم‌های تحت تیمار با ۲۰ میلی‌گرم کروم در کیلوگرم خاک کروم نیز کاهش یافته است (Chen and Cutright, 2001). کاهش رشد ریشه تحت تنش کروم را می‌توان به اثر مهار کننده کروم بر مراحل تقسیم سلولی، طویل شدن سلولی یا هر دو فرآیند مربوط دانست (Sundramoorthy *et al*., 2010). گزارش شده است که مهار رشد ریشه توسط کروم می‌تواند به علت سمّیت کروم در تقسیم سلولی و همچنین به علت تثبیت کروم در بافت‌های گیاهی و ایجاد اختلال در روابط اسموتیک گیاه یا محدودیت در انتقال Ca^{2+} از طریق غشای پلاسمایی باشد (Lodeiro *et al*., 2008).

کاهش در وزن تر ریشه تحت اثر کروم، نه تنها بر طول ریشه اولیه اثر می‌گذارد، بلکه سبب ایجاد تغییراتی در معماری کل سیستم ریشه‌ای نیز می‌شود (Samantaray *et al*., 1998). همچنین، قهوه‌ای شدن و چوبی شدن ریشه‌ها می‌تواند در اثر فلزات سنگین اتفاق افتد (Samantaray *et al*., 1989). Barcelo و همکاران (۱۹۸۶) گزارش کردند که تماس ریشه با کروم موجود در محیط می‌تواند به فروپاشی و ناتوانی بعدی ریشه برای جذب آب از محیط کشت و در نتیجه کاهش رشد ریشه منجر شود. دلیل دیگر کاهش رشد ریشه که در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد، قهوه‌ای و چوبی شدن ریشه‌ها در اثر تنش فلز سنگین کروم بود.

وزن تر و خشک ریشه آفتابگردان نیز با افزایش غلظت کروم در محلول‌های تیمار کاهش نشان داد که کاهش برای غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار معنی‌دار بود. کاهش در وزن تر و خشک ریشه نیز به طور مستقیم به کاهش رشد ریشه مربوط است، زیرا رشد مستقیماً بر وزن تر گیاه تأثیر می‌گذارد.

اثر کروم بر میزان پرولین، پروتئین و القاء تنش اکسیداتیو در ریشه

تغییر شرایط محیطی و ایجاد برخی تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی و حضور فلزات سنگین سبب تغییر وضعیت اسموتیک گیاه می‌شود. گزارشات زیادی وجود دارند که فلزات سنگین موجب به هم ریختگی تعادل اسموتیک در گیاهان می‌شوند (بسرا و بسرا، ۱۳۷۹). گیاهان برای مقابله با تنش اسموتیک ایجاد شده در اثر فلز سنگین، مکانیسم‌های سازشی

Archive of SID

www.SID.ir

متفاوتی به کار می‌گیرند. گروهی از گیاهان که مقاومت بالاتری دارند، برای حفظ تعادل اسمزی خود سنتز تعدادی از متابولیت‌های محافظ اسمزی مانند پرولین، بتائین و کربوهیدرات‌های احیاکننده را افزایش می‌دهند (Ghosh and Singh, 2005; Sinha,*et al*., 2005). مشاهده شده که تجمع پرولین آزاد در پاسخ به حضور فلزات سنگین در گیاهان به طور گسترده‌ای صورت می‌گیرد (Clemens, 2006). در تحقیق حاضر، تجمع بیشتر پرولین در گیاهان تحت تیمار با غلظت‌های بالای کروم می‌تواند بیانگر استراتژی‌های سازگاری گیاه برای مقابله با سمّیت کروم توسط نقش چندگانه پرولین از جمله به عنوان یک اسمززا، جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد، محافظ آنزیم‌های سیتوپلاسمی، منبع نیتروژن و کربن برای رشد پس از تنش، ماشینی برای سنتز پروتئین و مخزن انرژی برای تنظیم پتانسیل اکسایش-کاهش باشد (Rai *et al*., 2004).

میزان پروتئین ریشه آفتابگردان با کاهش معنی‌دار در غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌مولار همراه بود، در حالی که برای سایر غلظت‌ها تفاوت نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود. این نشان می‌دهد که محتوای پروتئین ریشه گیاه آفتابگردان در اثر تنش کروم کاهش یافته است. گزارش شده است که کاهش در محتوای پروتئینی در غلظت‌های بالای یون می‌تواند به علت کاهش در سنتز بعضی پروتئین‌ها و یا احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک باشد (Khudsar *et al*., 2001; Panda, 2007). از طرفی در این پژوهش، به علت سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در غلظت‌های بالای یون، به عنوان یک مکانیسم دفاعی، کاهش در محتوای پروتئینی ریشه گیاه در غلظت‌های بالا مشهود نیست. کاهش در محتوای پروتئین گیاهان تحت تیمار با غلظت‌های بالای کروم همچنین می‌تواند به اثر متفاوت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مربوط باشد؛ به گونه‌ای که ROS با صدمه زدن به پروتئوم گیاه باعث نابودی شمار زیادی از پروتئین‌های گیاه می‌شود (Sandramoorthy *et al*., 2010).

ایجاد ROS یا گونه‌های فعال اکسیژن یکی از پاسخ‌های عمومی گیاهان به گستره وسیعی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی محسوب می‌شود. فلزات سنگین سبب تولید ROS در سلول‌ها می‌شوند که این پدیده پاسخی بر تنش محسوب می‌شود (Davies *et al*., 2001; Karuppanapandian *et al*., 2009). کروم یک فلز سنگین سمّی است که می‌تواند گونه‌های ROS مانند پراکسید هیدروژن، رادیکال پراکسیل و رادیکال هیدروکسیل تولید کند که سبب آسیب اکسیداتیو درگیاهان می‌شود (Panda and Patra, 1997; Panda and Patra, 2000; Dixit *et al*., 2002; Panda, 2003; Panda and Khan, 2003; Panda *et al*., 2003; Panda and Choudhury, 2004; Sundramoorthy *et al*., 2010). گیاهان تیمار شده با غلظت‌های سمّی کروم، در اثر تنش اکسیداتیو ایجاد شده، دچار آسیب ساختمانی و عملکردی می‌شوند. پراکسیداسیون لیپیدها از جمله آسیب‌هایی‌ست که در اثر تنش اکسیداتیو ایجاد می‌شود که محصول آن یعنی مالون دآلدهید (MDA) به عنوان شاخص تنش فیزیولوژیک و فرآیند پیری در نظر گرفته می شود. تخریب متابولیسم متعادل‌کننده غلظت رادیکال‌های آزاد در سلول به تدریج باعث افزایش غلظت این ترکیبات می‌شود (Panda and Choudhury, 2005).

Archive of SID

www.SID.ir

در این تحقیق، نتایج حاصل از غلظت‌های مختلف کروم بر تولید مالون دآلدهید ریشه در آفتابگردان نشان داد که این ترکیب در غلظت‌های پایین کروم تفاوت معنی‌داری با گیاه کنترل نشان نمی‌دهند، ولی غلظت‌های سمّی این فلز محتوای مالون دآلدهید و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را افزایش داده است (شکل ۱). این نتایج مؤید این مطلب است که سیستم آنتی‌اکسیدانی ریشه گیاه آفتابگردان در غلظت پایین فلز سنگین کروم توانایی از بین بردن رادیکال‌های آزاد را داشته، مانع از خسارت اکسیداتیو به گیاه می‌شود، در حالی که تجمع بالای گونه‌های فعال اکسیژن در غلظت‌های بالای کروم بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه غلبه کرده و پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی را افزایش داده است. همچنین، افزایش مالون دآلدهید ریشه در حضور کروم با غلظت پایین می‌تواند به علت واکنش‌های حفاظتی سریع آفتابگردان در برابر تنش پایین فلز کروم باشد که در این صورت غلظت مالون دآلدهید آزاد شده کم است.

در حالت طبیعی بین میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و میزان نابودی آنها از سطح سلولی گیاه تعادلی وجود دارد که گیاه را در حال نسبتاً پایدار نگه می‌دارد. در یک تعریف کلی تنش اکسیداتیو زمانی بروز پیدا می‌کند که میزان رادیکال‌های آزاد موجود در سلول از مقدار ترکیبات سم‌زدا و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تجاوز کند (Mamdouh, 2007). گیاهان از مکانیسم‌های دفاعی متعددی برای کنترل و خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن استفاده می‌کنند. آنها یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با سازوکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی دارند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین برده، خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو را تخفیف دهد (Pandey *et al.*, 2005). آسکوربیک اسید یک احیاکننده قوی برای گونه‌های فعال اکسیژن محسوب می‌شود که می‌تواند به طور مستقیم، بدون واسطه آنزیم یا با واسطه آنزیم، رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد.

در این تحقیق، با افزایش غلظت کروم میزان دهیدروآسکوربات در مقابل آسکوربات افزایش یافت. احتمالاً به علت ورود گلوتاتیون احیا در مسیر سنتز فیتوکلاتین‌ها و در نتیجه کاهش سوبسترای کاهنده آسکوربات و یا به علت کاهش فعالیت آنزیم‌های درگیر در چرخه اکسید و احیا آسکوربات، نسبت دهیدروآسکوربات به آسکوربات افزایش می‌یابد (Cho and Seo, 2005). احتمالاً کاهش در میزان آسکوربات در این تحقیق در غلظت‌های بالای کروم نیز می‌تواند به این علت باشد. فلزات سنگین دیگر نیز آثار مشابه‌ای بر گیاه آفتابگردان داشته‌اند (Di Cagno *et al.*, 2001). بر اساس این مطالعات، هنگامی که آفتابگردان در معرض غلظت‌های بیش از ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم قرار گرفت، نسبت DHA/ASC افزایش نشان داد. گزارش شده است که این تغییرات احتمالاً به علت تغییر در فعالیت آنزیم‌های درگیر در چرخه اکسید و احیا آسکوربات از جمله دهیدروآسکوربات ردوکتاز (DHAR) و مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز (MDHAR) است (Di Cagno *et al.*, 2001).

آفتابگردان، مناسب برای گیاه‌پالایی (phytoremediation) کروم

با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر و مقایسه با یافته‌های حاصل از پژوهش مکمل، (پیروز،

Archive of SID

www.SID.ir

۱۳۸۸)، بیشترین میزان کروم در ریشه‌های گیاه آفتابگردان تجمع یافته است و با افزایش غلظت کروم در محلول‌های تیمار، میزان این تجمع در ریشه روند افزایشی داشته است. گزارش‌های متعددی از تجمع بیشتر فلز کروم در ریشه گیاهان در مقایسه با اندام‌های هوایی منتشر شده است. طبق گزارش Barbosa و همکاران (۲۰۰۷) بیشترین تجمع کروم در ریشه درخت *Genpia americana* در تیمار با کروم مشاهده شد؛ در حالی که تجمع کروم در برگ و ساقه‌های گیاه بسیار کمتر بود. Shahandeh و Hossner (۲۰۰۰) نیز گزارش کردند که آفتابگردان و Indian mustard بیشترین میزان کروم را در ریشه در مقایسه با اندام‌های هوایی تجمع دادند. گزارش شده است که کروم (III) در مکان‌های مبادله کاتیونی در آوندهای چوبی دیواره سلول‌های پارانشیمی ریشه گیاهان باقی می‌ماند و در واکوئل‌های سلول‌های ریشه کده‌بندی می‌شود (Mangaberia *et al.*, 2006). واکوئل مقصد نهایی تقریباً همهٔ مواد سمّی است که گیاه با آن مواجه می‌شود (Clemens, 2006). بنابراین، با توجه به تجمع بسیار بالاتر کروم در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی آفتابگردان، به نظر می‌رسد در این تحقیق کلیت شدن و کده‌بندی یون‌های کروم در ریشه یک مکانیسم مقاومتی است که آفتابگردان در تنش فلز سنگین کروم اتخاذ کرده است.

بیشتر گیاهان توانایی جذب گستره وسیعی از فلزات از خاک را دارند (Chen and Cutright, 2001). با این توصیف، گیاهان فلزاتی را جذب می‌کنند که برای رشد و زنده ماندن آنها ضروری باشد. استثنای قابل ملاحظه در این قانون کلی، گروه کوچکی از گیاهان هستند که توانایی مقاومت، جذب و انتقال سطوح بالایی از فلزات مشخصی را دارند که برای سایر ارگانیسم‌ها سمّی محسوب می‌شوند. این گیاهان بیش تجمع‌دهنده (hyperaccumulator) نام‌گذاری شده‌اند. مفهوم به کارگیری گیاهان بیش تجمع‌دهنده برای جداسازی فلزات از مناطق آلوده در قالب فن‌آوری گیاه‌پالایی توسط دانشمندان مختلفی ارایه شده است (Baker and Brook, 1989; Cunninghum *et al.*, 1995; Salt *et al.*, 1995; Chaney *et al.*, 1997). کروم برای بیشتر گیاهان عالی در غلظت µmol/kg ۱۰۰ وزن خشک سمّی است (Davies *et al.*, 2001). در حالی که در این مطالعه، با وجود تجمع کروم تا غلظت mg/kg ۱۲۰۰ وزن خشک، عوارض بارز سمّی در گیاه مشاهده نشد که بدین ترتیب می‌توان آفتابگردان را به عنوان یک گیاه مقاوم نسبت به فلز سنگین کروم معرفی کرد. این نتایج با نتایج Shahandeh و Hossner (۲۰۰۰) مبنی بر معرفی آفتابگردان به عنوان یک گیاه با بیومس بالا که توانایی تجمع مقادیر بالایی از کروم را دارد، نیز مطابقت دارد. بنابراین بر اساس نتایج حاضر، می‌توان آفتابگردان را به عنوان یک گیاه مناسب برای گیاه‌پالایی کروم پیشنهاد کرد.

جمع‌بندی

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان گفت که فلز کروم III در غلظت‌های پایین اثر معنی‌داری بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در ریشه گیاه آفتابگردان ندارد، اما در غلظت‌های بالا (بالاتر از ۵ میلی‌مولار کروم) به عنوان یک مهارکننده رشد عمل کرده، سبب بروز اثرات سمّی بر ریشه گیاه می‌شود. از

Archive of SID

www.SID.ir

اثرات بارز سمّی کروم بر ریشه آفتابگردان می‌توان به کاهش طول، کاهش وزن تر و خشک ریشه، قهوه‌ای شدن و چوبی شدن ریشه‌ها اشاره کرد. بررسی‌های فیزیولوژیک انجام شده نشان داد میزان پروتئین ریشه گیاه تحت تیمار غلظت‌های بالای کروم، کاهش یافته است. کاهش در محتوای پروتئین‌های ریشه را می‌توان به علت پروتئولیز بخش زیادی از پروتئین‌های گیاه در تنش با فلز کروم دانست. از طرفی افزایش در میزان پرولین ریشه در تیمار با کروم، می‌تواند مبین این مطلب باشد که فلز کروم در غلظت‌های بالا، تعادل اسمزی گیاه را به هم زده و آن را تحت فشار تنش اسموتیک قرار داده است. افزایش سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ریشه گیاه از قبیل آسکوربات و دهیدروآسکوربات از پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی تا غلظت ۵ میلی‌مولار کروم جلوگیری کرده است، در حالی که غلظت‌های بالاتر این فلز سنگین متابولیسم را مختل کرده و با القای تنش اکسیداتیو، میزان رادیکال‌های آزاد را به حدی افزایش داده است که بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه غلبه نموده، با وجود افزایش محتوای آسکوربات، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را افزایش داده است. طبق تعاریفی که برای گیاهان مقاوم به فلزات سنگین وجود دارد، گیاه آفتابگردان در تحقیق فوق با تجمع بالای فلز کروم در ریشه، از ورود مقادیر بالای فلز به اندام هوایی جلوگیری کرده است و از این راه در مقابل فلز سنگین کروم مقاومت نشان داده است. از این رو می‌تواند در دسته گیاهان متحمل به فلز کروم با مقاومت بالا قرار گیرد. از طرفی با توجه به اینکه ضمن تجمع بالای فلز کروم در ریشه، گیاه بیومس بالا تولید می‌کند، می‌توان آفتابگردان را کاندیدای مناسبی برای Phytoremediation کروم معرفی کرد.

منابع

بسرا، آمارجیت. اس. و بسرا، رانجیت. کا. (۱۳۷۹) مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی. ترجمه کافی، م و مهدوی دامغانی، ع. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

پیروز، پ. (۱۳۸۸) بررسی اثر فلز سنگین کروم بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاه آفتابگردان (*Heliathus annuus*) و همچنین، بررسی تجمع این فلز در آفتابگردان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران.

Baker, A. J. M. and Brooks, R. R. (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. a review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81-126.

Barbosa, R. M., Almeida, A. F. and Mielke, M. S. (2007) A physiological analysis of Genipa Americana L.: a potential phytoremediator tree for chromium polluted watersheds. Environmental and Experimental Botany 61: 246-271.

Barcelo, J., Poschenrieder, C. and Gunse, B. (1986) Water relations of chromium VI treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender) under both normal and water stress condition. Journal of Experimental botany 37: 178-187.

Barnhart, N. (1997) Chromium and its soils in the proximity of the old tannery waste

Archive of SID

www.SID.ir

lagoon. International Agrophysics 15: 121-124.

Barton, L. L., Johnson, A. G. and Wagener B. M. (2000) Inhibition of ferric chelate reductase in alfalfa roots by cobalt, nickel, chromium and copper. Journal of Plant Nutrition 23: 1833-1845.

Bates, S. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Bishnoi, N. R., Chugh, L. K. and Sawhney, S. K. (1993) Effect of chromium on photosynthesis, respiration and nitrogen fixation in Pea (*Pisum sativum* L.) Seedlings Journal of Plant Physiology 142:25-30

Bonet, A., Poschenrieder, C. and Barcelo, J. (1991) Chromium III ion interaction in Fe-deficient and Fe-sufficient bean plants. I. Growth and Nutrient content. Journal of Plant Nutrition 14: 403-414.

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

Chaney, R. L., Malik, M., Li, Y. M., Brown, S. L., Angle, J. S. and Baker, A. J. M. (1997) Phytoremediation of soil metals. Current Opinion in Biotechnology 8: 279-284.

Chatterjee, J. and Chatterjee, C. (2000) Phtotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. Environmental Pollution 109: 69-74.

Chen, H. and Cutright, T. (2001) EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr and Ni uptake by *Helianthus annuus*. Chemosphere 45: 21-28.

Cho, U. and Seo, N. (2005) Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. Plant Science 168: 113-120.

Clemens, S. (2006) Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanism of tolerance in plants. Biochemistry 88: 1707-1719.

Cohen, M. D., Kargacin, B., Klein, C. B. and Costa, M. (1993) Mechanism of chromium carcinogenicity and toxicity. Critical Reviews in Toxicology 23: 255-281.

Cunningham, S. D., Berti, W. R. and Huang, J. W. (1995) Phytoremediation of contaminated soils. Trends Biotechnology 13: 393-397.

Davies, F. T., Puryear, J. D., Newton, R. J., Egilla, J. N. and Grossi, J. A. S. (2001) Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). Journal of Plant Physiology 158: 777-786.

de Pinto, M. C., Tommasi, F. and De Gara, L. (2000) Enzymes of the ascorbate biosynthesis and ascorbate-glutathione cycle in cultured cells of tobacco Bright Yellow 2. Plant Physiology and Biochemistry 38: 541-550.

Di Cagno, R., Guidi, L. and De Gara, L. (2001) Combined cadmium and ozone treatments affectphotosynthesis and ascorbate dependent defences in sunflower. New Phytologist 151: 627-636.

Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R. (2002) Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) root mitochondria. Plant, Cell and Environment 25: 687-690.

Ghosh, M. and Singh, S. P. (2005) Comparative uptake and phytoextraction study of soil induced chromium by accumulator and high biomass weed species. Applied Ecology and Environmental Research 3: 67-79.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 1. Kinetics and stechiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Hu, J., Chen, G. and Irene, M. (2005) Removal and recovery of Cr (VI) from wastewater by maghemite nanoparticles. Waters Research 39: 4528-4536.

Iqbal, M. Z., Saeeda, S. and Shafiq, M. (2001)

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of chromium on an important arid tree (*Caesalpinia pulcherrima*) of Karachi city, Pakistan. Ecology(Bratislava) 20: 411-422.

Karuppanapandian, T., Sinha, P. B., Kamarul Haniya, A. and Manoharan, K. (2009) Chromium-induced accumulation of peroxide content, stimulation of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in green (*Vigna radiata* L. cv. Wilczek) leaves. African Journal of Biotechnology 8: 475-479.

Khudsar, T., Mahmooduzzafar and Iqbal, M. (2001) Cadmium-induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in *Cajanus Cajun*. Biologia Plantarum 44(1): 59-64.

Kocik, K. and Ilavsky, J. (1994) Effect of Sr and Cr on the quantity and quality of the biomass of field crops. Production and utilization of agricultural and forest biomass for energy, Zvolen, Slovakia.

Lodeiro, P., Fuentes, A., Herrero, R. and Sastre de Vicente, M. E. (2008) Cr (III) binding by surface polymers in natural biomass: the role of carboxylic groups. Environmental Chemistry 5: 355-36.

Mamdouh, F. A. (2007) Chromium in receiving environment in Egypt (Overview). Electronical Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 6: 2178-2198.

McGrath, S. P. (1985) The uptake and translocation of tri- and hexa-valent chromium and effects of the growth of oat in flowing nutrient solution and in soil. New Physiologist 92: 381-390.

Meidner, H. (1984) Class Experiments in Plant Physiology 156-157.

Panda S. K. and Choudhury, S. (2004) Changes in nitrate reductase (NR) activity and oxidative stress in moss *Polytrichum commune* subjected to chromium, copper and zinc toxicity. Brazilian Journal of Plant Physiology 23:53-70.

Panda, S. K. and Patra, H. K. (1998) Alteration of nitrate reductase activity by chromium ions in excised wheat leaves. Indian Journal of Agricultural Biochemistry 2(2) 56-57.

Panda, K. S. (2007) Chromium-mediated oxidative stress and ultrastructural changes in root cells of developing rice seedlings. Journal of Plant Physiology 164: 1419-1428.

Panda, S. K. (2003) Heavy metal phytotoxicity induces oxidative stress in *Taxithelium* sp. Current Science 84: 631-633.

Panda, S. K. and Choudhury, S. (2005) Chromium stress in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology 17: 95-192.

Panda, S. K. and Khan, M. H. (2003) Antioxidant efficiency in rice (*Oryza sativa* L.) leaves under heavy metal toxicity. Plant Biology 30: 23-29.

Panda, S. K. and Patra, H. K. (1997) Physiology of chromium toxicity in plants. a review. Plant Physiology Biochemistry 24(1): 10-17.

Panda, S. K. and Patra, H. K. (2000) Nitrate and ammonium ions effect on the chromium toxicity in developing wheat seedlings. Proceedings of the National Academy of Sciences India 70: 75-80.

Panda, S. K., Mahapatra, S. and Patra, H. K. (2002) Chromium toxicity and water stress simulation effects in intact senescing leaves of greengram (*Vigna radiata* L. var Wilckzeck K851). Advances in Stress Physiology of Plants 129-136.

Pandey, V., Dixit, V. and Shyam, R. (2005) Antioxidative responses in relation to growth of mustard (*Brassica juncea* cv. Pusa Jaikisan) plants exposed to hexavalent chromium. Chemosphere 61: 40-47.

Prasad, M. N. V. (2007) Sunflower (*Helianthus annuus* L.): a potential crop for environmental industry. HELIA 30:167-174.

Prasad, M. N. V. and Strzaka, K. (2002) Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. Plant Sciences 161: 881-889.

Rai, V., Vajpayee P., Singh, S. N. and

Archive of SID

www.SID.ir

Mehrotra, S. (2004) Effects of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, praline level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L.. Plant Science 167: 1159-1169.

Salt, D. E., Blaylock, J. M., Kumar, N., Dushenkov, S., Chet, I. and Raskin, I. (1995) Phytoremediation: a noval strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. Biotechnology 13:468-474.

Samantaray, S., Rout, G. R. and Das, P. (1998) Role of chromium on plant growth and metabolism. Acta Physiologiae Plantarum 20: 201-212.

Shahandeh, H. and Hossner, L. R. (2000) Plant screening for chromium phytoremediation. International Journal of Phytoremediation 2: 31-51.

Shanker, K. A., Cervantes, C., Loza-Taversa, H. and Avudainayagam, S. (2005) Chromium toxicity in plants. Environment International 31: 739-753.

Sharma, D. C. and Mehrotra, S. C. (1993) Chromium toxicity effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv HD 2204). Indian Journal of Environmental Health 35: 330-332.

Sinha, S., Saxena, R. and Singh, Sh. (2005) Chromium induced lipid peroxidation in the plants of *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidants and antioxidant enzymes. Chemosphere 58: 595-404.

Sundaramoorthy, P., Alagappan, C., Kaliyaperumal, S. G., Pachikkaran, U. and Logalashmanan, B. (2010) Chromium stress in paddy: (i) Nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) Phytoremediation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. Comptes Rendus Biologies 333: 597-607.

Vernay, P., Gauthier-Moussard, C., Jean, L., Bordas, F., Faure, O., Ledoigt, G. and Hitmi, A. (2008) Effect of chromium species on phytpchemical and physiological parameters in *Datura innoxia*. Chemosphere 72 : 763-771.

Zayed, A., Lytle, C. M., Jin-Hong, Q., Terry, N. and Qian, J. H. (1998) Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. Planta 206: 293-299.

Zhang, X. H., Liu, J., Huang, H. T., Chen, J., Zhu, Y. N. and Wnag, D. Q. (2007) Chromium accumulation by the hyperaccumulator plant *Leersia hexandra* Swartz. Chemosphere 67: 1138-1143.

Archive of SID

www.SID.ir

A physiological analysis of sunflower under chromium stress: Impact on plant growth, bioaccumulation and oxidative stress induction on sunflower (*Helianthus annuus*)

Pariya Sadat Pirooz, Khosrow Manouchehri Kalantari * and Fatemeh Nasibi

Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

Archive of SID

Abstract

Chromium (Cr) is a highly toxic heavy metal for microorganisms, animals and plants. Due to its widespread industrial use, it has become a serious pollutant in a diverse array of environments. Excess Cr is a stressful factor for plants that can limit their growth. It can also induce oxidative stress in plants. In this research, four-week sunflowers which were grown under controlled greenhouse conditions, were exposed to various concentrations of Cr (0.0, 0.001, 0.01, 0.1. 1.0, 5.0, 10.0 mM) to determine how chromium would affect the growth and oxidative stress induction in the root part of sunflower. The field survey showed that 5 and 10 mM concentrations of Cr led to lowering growth parameters (such as; length, fresh and dry weigh) in sunflower's roots. However, the lower concentrations showed no significant differences compared to the control. In contrast, the content of malondialdehyde as the oxidative stress indicator, increased in this two high level chromium. In addition, chromium treated sunflower roots showed increased proloine contents in 5 and 10mM concentrations. In contrast, protein content reduced in 0.001 mM consentration of chromium compared to the control. However, reduced ascorbate contents in roots occurred with the increase in dehydroascorbate and total ascorbate amount under 1, 5 and 10 mM concentration of Cr treatment. Despite some stress symptoms, sunflower roots accumulated high amount of chromium, and it seemed that chelation and compartmentation of Cr in the roots was a tolerant mechanism for sunflower which occurred under chromium stress.

Key words: Accumulation, Chromium, Growth parameters, Oxidative stress, Sunflower (*Helianthus annuus*)

* Corresponding Author: kalantari@mail.uk.ac.ir

www.SID.ir