

## تغییرات ساختار برگ گونه *Hypericum perforatum* L. تحت تیمار سرب

سیما قلیچ<sup>۱</sup>، فاطمه زرین کمر<sup>۱\*</sup> و محمد حسین لباسچی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی

<sup>۲</sup> تهران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۲۱

### چکیده

سرب از فلزات سنگینی است که موجب آلودگی محیط زیست شده و اثرات متعددی بر ساختار، رشد و تولید مثل گیاهان دارد. در این تحقیق اثر سرب بر ساختار تشریحی برگ گونه *Hypericum perforatum* L. مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور یک دسته از گیاهان تحت تیمار آلوده کردن خاک با سرب با غلظت های صفر، ۰.۷۵، ۱.۵۰، ۳.۰۰، ۶.۰۰، ۸.۰۰، ۱۰.۰۰ و ۱۵.۰۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک و گروه دیگر تحت تیمار محلول پاشی بر سطح برگ با غلظت های ۰.۷۲۴، ۱/۴۴ و ۲/۹ میلی مولار به مدت ۱۴ روز در شرایط گلخانه ای قرار گرفتند. نتایج حاصل از مطالعات آناتومی و اندازه گیری های سلولی نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک، بیشترین تغییرات ساختاری در بافت های اپیدرم، مزوفیل و دستجات آوندی و کلانشیم برگ ایجاد می شود. همچنین در تیمار محلول پاشی نیز سمیت سرب بافت های اپیدرم، مزوفیل و دستجات آوندی و کلانشیم و کانال های ترشحی برگ را تحت تاثیر قرار می دهد.

واژه های کلیدی: گل راعی، سمیت سرب، آناتومی برگ

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۸۲۸۸۴۴۴۰، پست الکترونیکی: Zarinkamar@modares.ac.ir

### مقدمه

الفای کلروز و نکروز در برگ، مهار رشد جوانه و ریشه، کاهش فتوسنتز و تنفس، کاهش سنتز DNA، اختلال در توزیع مواد غذایی در گیاه، بر هم زدن تعادل آب در گیاه، تغییر در تعادل هورمونی گیاه، تغییر در قابلیت نفوذ پذیری غشای سلولی و مهار یا فعال سازی فعالیت های آنزیمی می شود (۱۹، ۱۳، ۱۱). اختلالاتی که در اثر سمیت سرب در سطح سلولی در گیاه ایجاد می گردد عبارتند از: بی نظمی های میتوزی، چسبندگی کروموزوم ها و تخریب میکرو توبول های دوک میتوزی در مرحله پرومتافاز که در نهایت منجر به مهار تقسیم سلولی می گردد. همچنین غلظت های بالای سرب سبب اختلال در قابلیت نفوذ پذیری غشای پلاسمایی، تونوپلاست و غشای کلروپلاست می گردد (۱۳). سرب در فرآیندهای متابولیک یک عنصر

فلز سرب یکی از فلزات سنگینی است که موجب آلودگی محیط زیست شده و با ایجاد آثار سمی شدید در انسان و دیگر جانداران خسارت های جدی به بار می آورد (۱۵). براساس داده های آژانس حفاظت محیط زیست (EPA) سرب مهم ترین فلز آلاینده در محیط زیست می باشد (۱۳). غلظت سرب در خاک های غیر آلوده در گستره ۱۰-۱۵۰ mg/kg است (۳). لیکن حد مجاز آن در خاک براساس قوانین زیست محیطی و بهداشتی مناطق مختلف جهان ۵۰-۱۵۰ mg/kg خاک می باشد (۷). منابع عمده آلودگی سرب ناشی از دود خروجی از آگزوز وسایل نقلیه بنزین سوز، رنگ های صنعتی و پساب های خانگی و صنعتی است (۹). آلودگی سرب در محیط زیست باعث اثراتی از قبیل اختلال در جوانه زنی دانه، اختلال در میتوز،

محل تجمع اسانس هستند. علاوه بر نقاط روشن، نقاط تیره رنگی نیز در حاشیه برگ‌ها وجود دارند که محل تجمع هیپریسین هستند (۲۶). ریشه اصلی این گونه به طور عمودی و تا عمق ۷۰ سانتیمتری خاک نفوذ می‌نماید و ریشه‌های فرعی در عمق ۵ تا ۸ سانتیمتری سطح خاک به طور جانبی رشد می‌کنند (۵). این گیاه از قدیم به عنوان یک گیاه دارویی مهم برای درمان زخم‌ها، درمان بیماری‌های عصبی مانند سیاتیک، درمان بیماری‌های عفونی مانند سفلیس، سل، اسهال خونی و سیاه‌سرفه مورد استفاده بوده است. امروزه نیز در طب جدید از این گیاه مواد دارویی متعددی برای درمان سوختگی، میگرن و افسردگی تهیه می‌گردد (۱۷). همچنین از اوایل دهه ۹۰ آزمایشات بالینی در خصوص تاثیر هیپریسین در درمان بیماری‌های ایجاد شده توسط رتروویروس‌ها آغاز شده است و از این گیاه به عنوان یک انتخاب برای کنترل بیماری ایدز نام برده می‌شود (۱۰). گل راعی به عنوان یکی از منابع مهم رنگ در صنایع رنگرزی می‌باشد و برای رنگ آمیزی ابریشم و پشم به رنگ قرمز استفاده می‌گردد. جوشاندن بخش رویشی این گیاه همراه با زاج سفید منجر به ایجاد رنگ زرد برای صنایع رنگرزی می‌گردد (۸).

با توجه به اهمیت گل راعی از لحاظ دارویی و صنعتی و از سوی دیگر افزایش روز افزون آلاینده‌های زیست‌محیطی از جمله فلزات سنگین در این تحقیق مطالعه تغییرات ساختاری این گونه تحت تنش فلز سرب با هدف درک بهتر مکانیسم‌های سمیت و سازگاری‌های ساختاری ایجاد شده برای مقابله با این سمیت مد نظر قرار گرفت.

### مواد و روشها

**کاشت و مراقبت از گیاهان:** گلدان‌های حاوی بذرهای کاشته شده گل راعی کاشته شده در گلخانه در دمای حداکثر ۲۸ درجه سانتی‌گراد و حداقل ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و ابتدا به مدت یک ماه با مه پاش آبیاری شدند. پس از یک ماه، آبیاری آنها هر دو روز با توجه به

غیر ضروری است و ممکن است حتی در مقادیر بسیار کم هم برای موجودات زنده سمی و کشنده باشد. سرب علاوه بر اثراتی که بر روی ساختار، رشد و تولید مثل گیاهان دارد، وارد زنجیره غذایی نیز می‌شود و برای سلامتی انسان و جانوران هم خطرناک است. علیرغم اهمیت جهانی مساله آلودگی سرب هنوز نامشخص است که چه غلظت‌هایی از سرب سبب کاهش رشد گیاه می‌گردد و متاسفانه مکانیسم‌های سمیت سرب در گیاهان به میزان کمی شناخته شده است. بنابراین، انجام مطالعات آناتومیکی و مشاهده تغییرات ساختاری در استرس سرب می‌تواند به فهم تاثیرات سمیت سرب در گیاهان بسیار کمک کند.

گل راعی، علف چای یا هوفاریقون با نام علمی *Hypericum perforatum* L. و اسامی انگلیسی چون St. John's Wort و Goat Weed، یکی از گونه‌های دارویی مهم جنس *Hypericum* می‌باشد. این گونه به طور طبیعی در اروپا، غرب سیبری تا شمال غرب چین، آسیای صغیر، شمال آفریقا، کانادا و استرالیا وجود دارد. در ایران نیز در نواحی شمالی، دامنه‌های البرز، استان‌های فارس، کهگیلویه و بویر احمد، لرستان و خراسان دیده می‌شود (۱۴). جنس *Hypericum* در ایران دارای ۱۷ گونه است، ولی تنها گونه با ارزش آن *Hypericum perforatum* L. می‌باشد (۱۴).

این گونه، گیاهی است علفی و پایا، با ساقه‌ای راست که به گیاه حالت ایستاده می‌دهد. ساقه در طول دارای دو برآمدگی است که آن را از سایر گونه‌ها متمایز می‌کند (۲۰، ۶). برگ‌ها متقابل، بدون دمبرگ، بدون کرک، کشیده، با انتهای گرد و بدون بریدگی می‌باشند. بر روی برگ‌ها دو نوع نقاط تیره و روشن دیده می‌شود که از ویژگی‌های بارز این گونه است، نقاط روشن در تمام سطح برگ گسترش دارند و با قرار دادن برگ‌ها در مقابل نور به وضوح قابل مشاهده می‌باشند این نقاط روشن

محلول پاشی شد. پس از ظهور علائم سمیت از هر یک از گیاهان نمونه برداری و عکس برداری انجام شد. پس از پایان دوره تیمار نمونه های شاهد و تیمار همگی از خاک خارج شده و برای ادامه مطالعات به آزمایشگاه منتقل شدند.

### مطالعات آناتومی

**تهیه برش از نمونه ها:** از نمونه های فوق برای بررسی و مطالعات آناتومی با میکروسکوپ نوری برش گیری شد. برای این منظور نمونه ها از الکل خارج و در ظرف محتوی آب مقطر قرار گرفت.

برش گیری از برگ ها به روش دستی و در ۳ تکرار انجام شد. در مرحله بعدی برش های تهیه شده رنگ آمیزی شد.

**رنگ آمیزی برش ها:** مراحل مختلف رنگ آمیزی برش ها به شرح زیر می باشد:

۱- تخلیه ترکیبات درون سلول: بدین منظور برش ها به مدت ۳۰ تا ۱۵ در محلول هیپوکلریت سدیم قرار گرفت.

۲- شستشو با آب مقطر (۳-۴ بار): جهت خروج کامل هیپوکلریت سدیم از برش ها برای رنگ آمیزی بهتر، نمونه ها چندین بار با آب مقطر شسته شد.

۳- رنگ آمیزی با کارمن زاجی: در این مرحله برش های تهیه شده از برگ، ساقه و ریشه به مدت ۳۰ تا ۴۰ دقیقه در محلول کارمن زاجی قرار گرفت. این رنگ بافت های سلولزی نمونه ها را به رنگ ارغوانی در می آورد.

۴- شستشو با آب مقطر

۵- رنگ آمیزی با سبز متیل: برای رنگ آمیزی بافت های چوبی نمونه ها ۳ تا ۲ ثانیه در محلول سبز متیل قرار داده شد. این رنگ بافت های با دیواره چوبی را به رنگ سبز در می آورد.

ظرفیت مزرعه گلدان های مورد نظر به میزان ۱۵۰ میلی لیتر صورت گرفت.

آلوده کردن خاک: غلظت آلاینده با توجه به حد مجاز سرب در خاک انتخاب شد، به گونه ای که دامنه ای از غلظت صفر آن فلز تا چندین برابر غلظت مجاز را بپوشاند. غلظت مجاز سرب از ۵۰ تا ۱۵۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک است. بنابراین، غلظت ها به صورت صفر، ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک انتخاب شدند و از هر غلظت نیز ۳ تکرار در نظر گرفته شد. برای آلوده کردن خاک، ابتدا مقدار لازم نمک نیترات سرب  $Pb(NO_3)_2$  برای آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، جرم محاسبه شده ی نمک به یک کیلو گرم از خاک افزوده شد و کاملا با آن مخلوط گردید تا پیش ماده ای همگن به دست آید. این پیش ماده- ی آلوده سپس کاملا با توده خاک مخلوط گردید. پس از آن خاک های آلوده تقریبا تا رطوبت اشباع آبیاری و به مدت دو هفته رها شدند تا در حد امکان برهم کنش های آلاینده و خاک صورت پذیرد و شرایط آلودگی طبیعی تر باشد.

### اعمال تیمارها

**تیمار آلوده کردن خاک:** پس از رسیدن گیاهان به مرحله بلوغ و کامل شدن دوره رشد رویشی آنها، نشا گیاهان از خاک های غیر آلوده به خاک های آلوده انتقال یافتند. تیمار به مدت ۱۴ روز اعمال شد و پس از این مدت نمونه های شاهد و تیمار همگی از خاک خارج شده و برای ادامه مطالعات به آزمایشگاه منتقل شدند.

**تیمار محلول پاشی بر سطح برگ:** به منظور تهیه غلظت های مختلف سرب برای محلول پاشی برگ، ابتدا محلول استوک با ۱۰ برابر غلظت بیشترین تیمار، تهیه شد و سپس محلول هایی با غلظت های ۰/۷۲۴، ۱/۴۴ و ۲/۹ میلی مولار از آن تهیه گردید. در مرحله بعد این محلول ها به وسیله مه پاش بر روی هر دو سطح فوقانی و تحتانی برگ نمونه ها

تیمارهای  $150$  و  $75$  mg/kg هیچگونه علائم سمیتی را بروز نداده و مانند نمونه های شاهد به رشد خود ادامه دادند.

**تیمار محلول پاشی:** نمونه های تحت تیمار  $0.724$  mM علائم را در سطح بسیار محدودی نشان داده و یا اصلا علائمی را نشان ندادند. نمونه های تیمار  $44$  mM در روز هشتم تیمار و نمونه های تیمار  $2/9$  mM در روز ششم اولین علائم سمیت را بروز دادند.

علائم مشاهده شده در عبارت بودند از: نکروز و سیاه شدن برگ ها و گسترش نکروز از نوک برگ به تمام سطح آن، جمع شدن و چروکیدگی برگ ها و خم شدن راسی ساقه (شکل ۱).

**نتایج علائم تغییرات آناتومیکی برگ ناشی از سمیت سرب**

**تیمار آلودگی خاک:** نتایج حاصل از اندازه گیری های سلولی بر روی بافت های مختلف برگ در نمونه های شاهد و تیمار حاکی از تفاوت معنی دار ضخامت برگ، کوتیکول، اندازه سلول های اپیدرم فوقانی و تحتانی، مزوفیل نردبانی و اسفنجی، قطر رگبرگ اصلی، ضخامت آوند چوبی و آوند آبکشی در سطح یک درصد بود، اما قطر کانال ترشچی در تیمارهای مختلف و نمونه شاهد تفاوت معنی داری نداشت.

ضخامت پهنک برگ و اندازه سلول های اپیدرم فوقانی و تحتانی با افزایش غلظت سرب تا  $600$  mg/kg افزایش می یابد و از آن به بعد تا غلظت  $1500$  mg/kg سرب در خاک کاهش می یابد (شکل ۳). ضخامت کوتیکول فوقانی و تحتانی، قطر رگبرگ اصلی و دستجات آوند چوب و آبکش با افزایش غلظت سرب افزایش می یابد. (شکل ۲ و ۴). اندازه بافت مزوفیل نردبانی و اسفنجی تا غلظت  $800$  mg/kg افزایش می یابد اما پس از آن تا غلظت  $1500$  mg/kg سرب در خاک کاهش می یابد. قطر کانال

۶- شستشو با آب مقطر: پس از رنگ آمیزی، نمونه ها بر روی لام قرار گرفته و عکس برداری با میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتال و با بزرگ نمایی های مختلف انجام شد.

پس از این مراحل نمونه بر روی لام قرار گرفته و چند قطره ژلاتین روی آن گذاشته شد، سپس لامل با دقت روی آن قرار گرفت، این کار باید سریع انجام شود تا حباب هوا تشکیل نشود. بدین ترتیب لام های ثابت از نمونه ها تهیه شد.

لام های تهیه شده تحت مطالعات میکروسکوپی با میکروسکوپ Olympus مدل BH2 ساخت کشور ژاپن قرار گرفت و اندازه گیری ها در سطح سلول به وسیله نرم افزار Measurement انجام گردید.

**آنالیز آماری:** این تحقیق در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد. همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت پذیرفت.

## نتایج

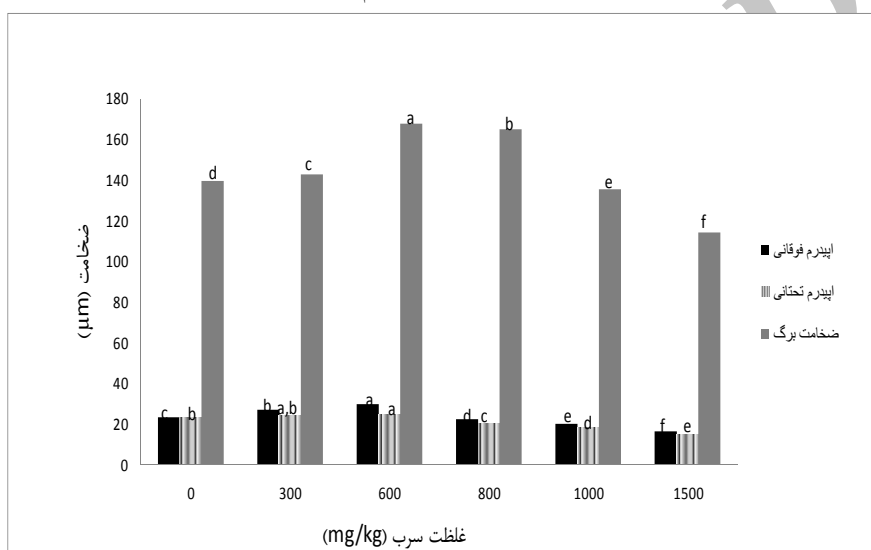
**علائم تغییرات مورفولوژیکی برگ ناشی از سمیت سرب**

**تیمار آلودگی خاک:** این علائم عبارت بودند از: چروکیدگی، خشک شدن و قهوه ای شدن برگ ها، ظهور نقاط نکروتیک در نوک برگ ها و خمیدگی راسی ساقه (شکل ۱). در روز سوم تیمار اولین علائم سمیت در ۲ تکرار از تیمار  $1500$  mg/kg مشاهده شد. در روز ششم این علائم در تیمارهای  $1000$  و  $800$  mg/kg مشاهده شد و در روز هشتم نیز این علائم در ۲ تکرار از تیمار  $mg/kg$   $600$  مشاهده گردید. همه تکرارهای تیمارهای  $mg/kg$   $1500$  و  $1000$  تا پایان دوره تیمار (روز چهاردهم) خشک شده و از بین رفتند. تکرارهای تیمارهای  $mg/kg$   $600$  و  $300$  تا حدی علائم سمیت را نشان دادند و

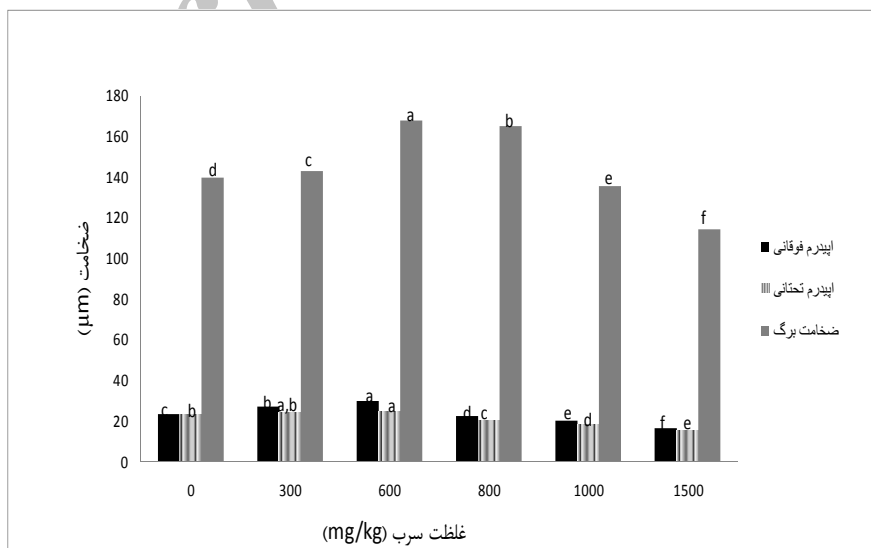
ترش‌خی تا غلظت ۶۰۰ mg/kg می‌یابد و از آن به بعد تا غلظت ۱۵۰۰ mg/kg سرب در خاک کاهش می‌یابد ولی این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نیست (شکل ۳).



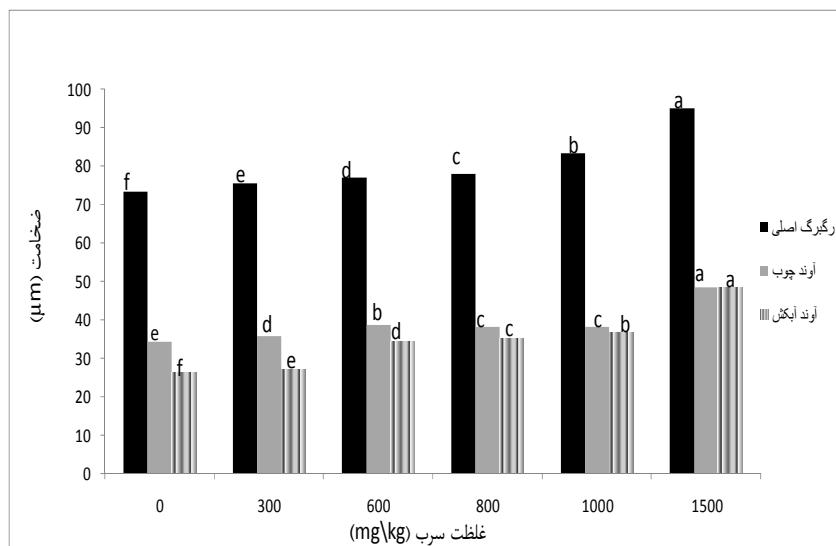
شکل ۱- A: برگ شاهد، B و C: علائم ظاهری سمیت سرب در برگ



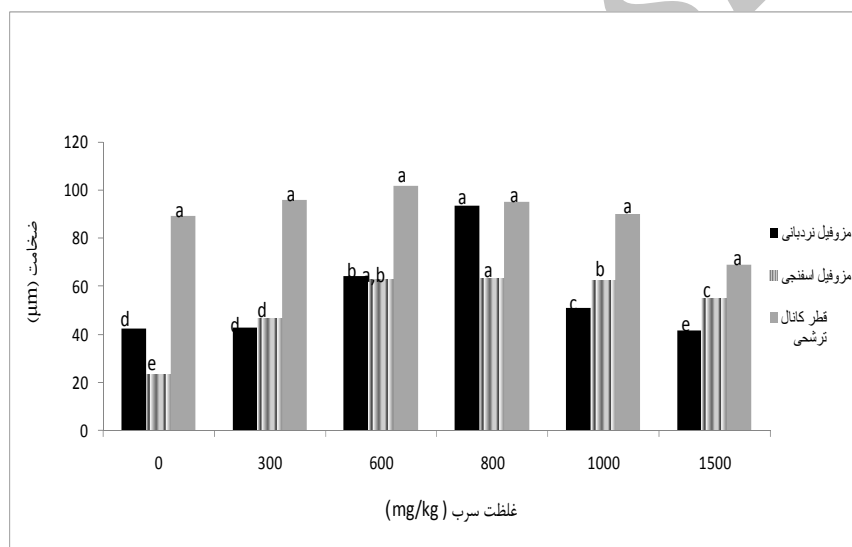
شکل ۲- تغییرات ضخامت کوتیکول فوقانی و تحتانی برگ در تیمار آلودگی خاک



شکل ۳- تغییرات ضخامت برگ، اپیدرم فوقانی و تحتانی برگ در تیمار آلودگی خاک



شکل ۴- تغییرات رگبرگ اصلی، آوند چوب و آبکش برگ در تیمار آلودگی خاک



شکل ۵- تغییرات کانال ترشچی، مزوفیل اسفنجی و نردبانی برگ در تیمار آلودگی خاک

ضخامت کوتیکول فوقانی و تحتانی با افزایش غلظت سرب به طور معنی داری افزایش یافت (شکل ۷).

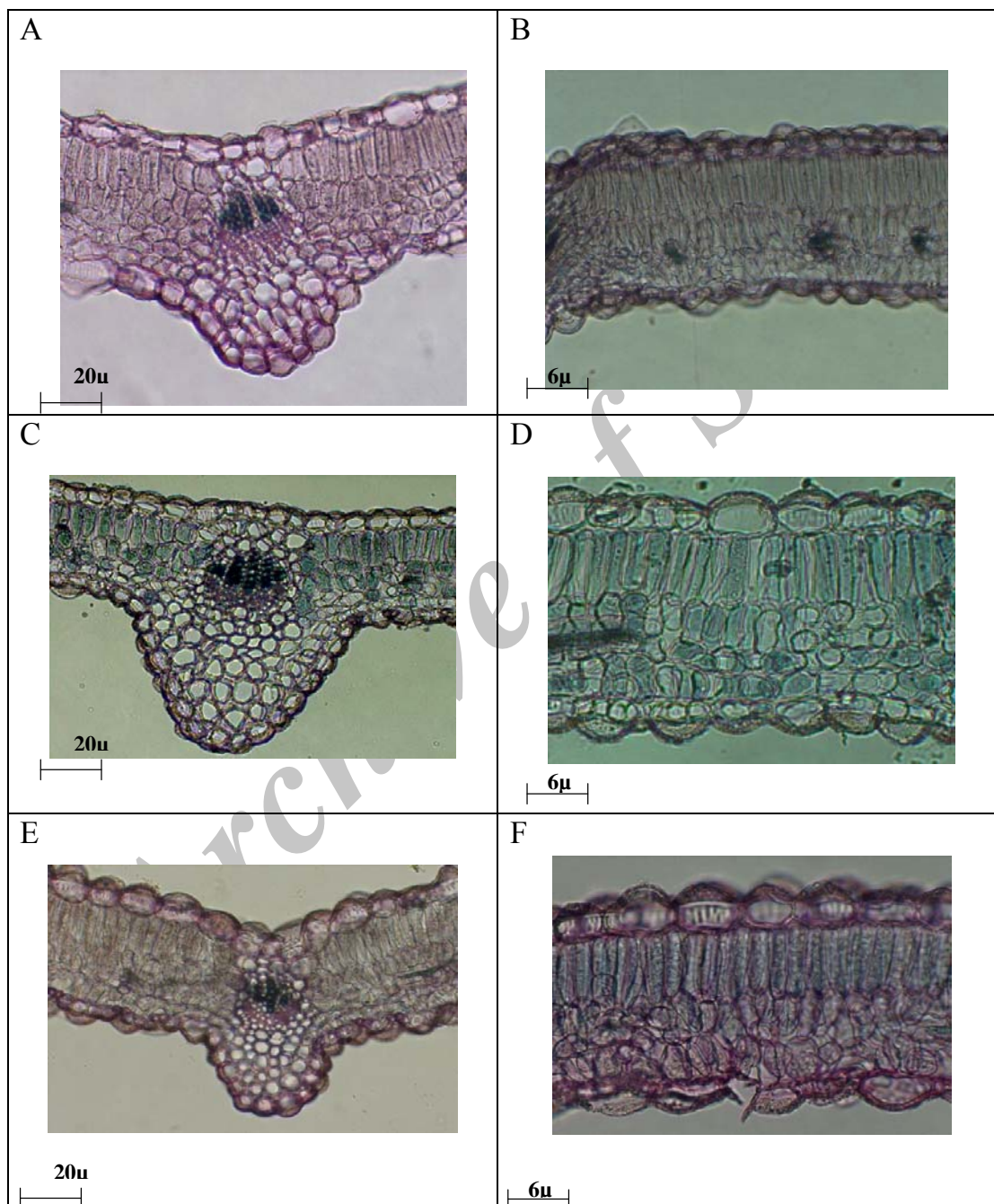
ضخامت برگ با افزایش غلظت سرب افزایش یافت، اما اندازه سلول های اپیدرم فوقانی و تحتانی کاهش یافت (شکل ۸).

با افزایش غلظت سرب ضخامت مزوفیل نردبانی کاهش و مزوفیل اسفنجی افزایش یافت. قطر کانال ترشچی نیز در تیمار ۰/۷۲۴ میلی مولار نسبت به نمونه شاهد افزایش

تیمار محلول پاشی: نتایج حاصل از اندازه گیری های سلولی بر روی قسمت های مختلف برگ در نمونه های شاهد و تیمار حاکی از تفاوت معنی دار اندازه کوتیکول فوقانی و تحتانی، سلول های اپیدرم فوقانی و تحتانی، مزوفیل نردبانی و اسفنجی، قطر کانال ترشچی، قطر رگبرگ اصلی، ضخامت آوند چوبی و آوند آبکش در سطح یک درصد بود، اما ضخامت برگ در تیمارهای مختلف و نمونه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. مقایسه نتایج حاصل از مطالعات برش عرضی برگ نشان داد که

بافت آوند چوب با افزایش غلظت سرب به طور معنی داری کاهش یافت اما اندازه بافت آوند آبکش از لحاظ آماری تفاوت معنی داری نداشت (شکل ۱۰).

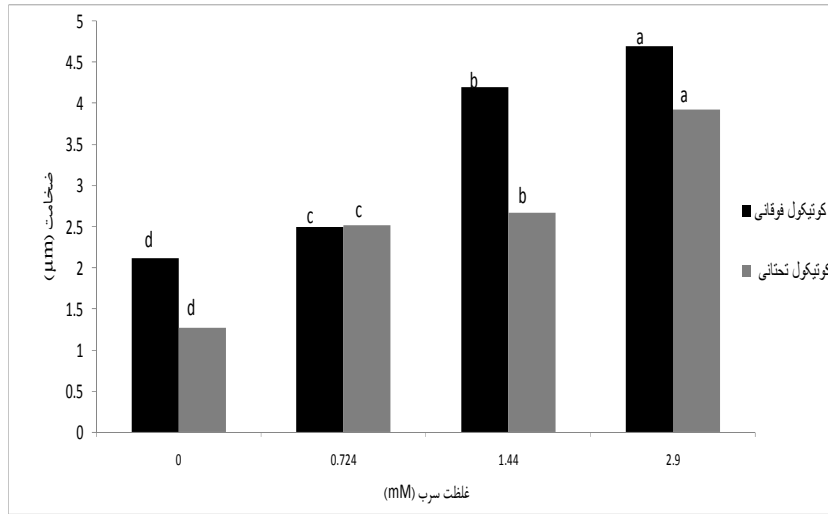
یافت اما از آن به بعد تا غلظت ۲/۹ میلی مولار رو به کاهش گذاشت (شکل ۹). قطر رگبرگ اصلی در هر سه تیمار ۰/۷۲۴، ۱/۴۴ و ۲/۹ میلی مولار سرب تفاوت معنی داری نداشت اما نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. اندازه



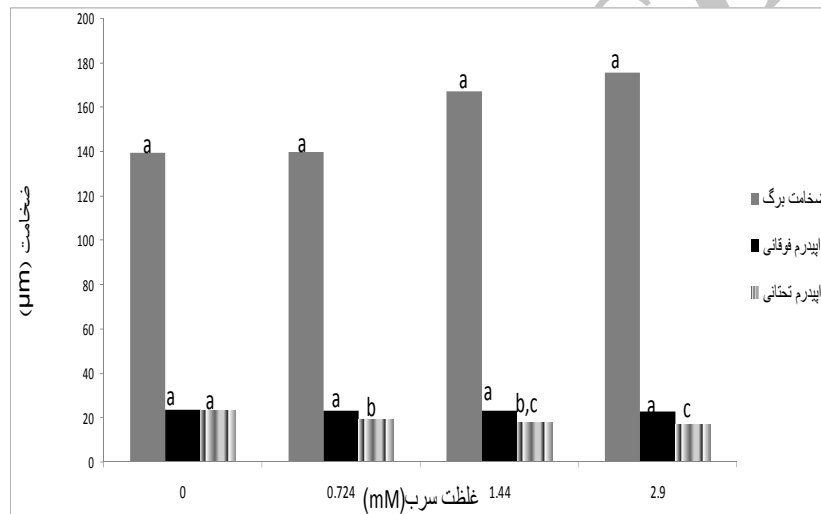
شکل ۶- تصاویر برش عرضی برگ تحت تیمارهای سرب در خاک

A,C,E: رگبرگ اصلی و بافت کلانشیم، A: شاهد، C: ۶۰۰ mg/kg، E: ۱۵۰۰ mg/kg

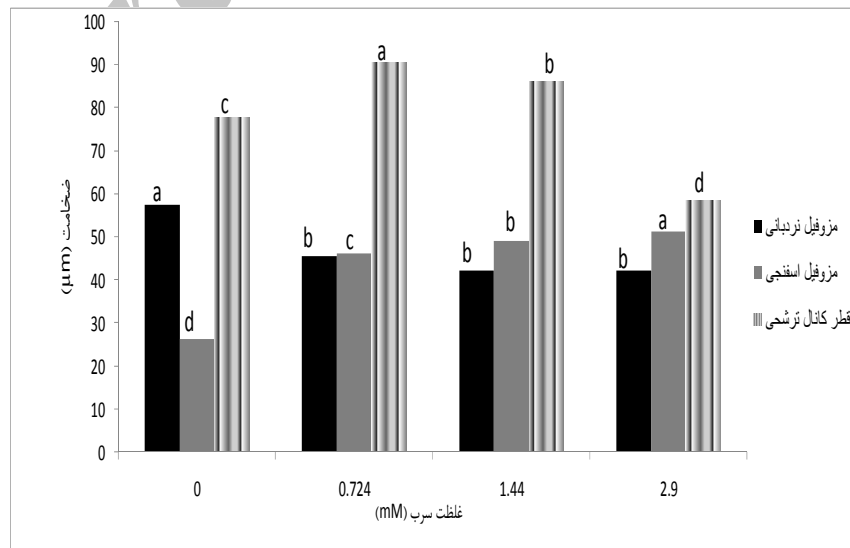
B,D,F: اپیدرم فوقانی، اپیدرم تحتانی و بافت مزوفیل، B: شاهد، D: ۶۰۰ mg/kg، F: ۱۵۰۰ mg/kg



شکل ۷- تغییرات ضخامت کوتیکول فوقانی و تحتانی برگ در تیمار محلول پاشی

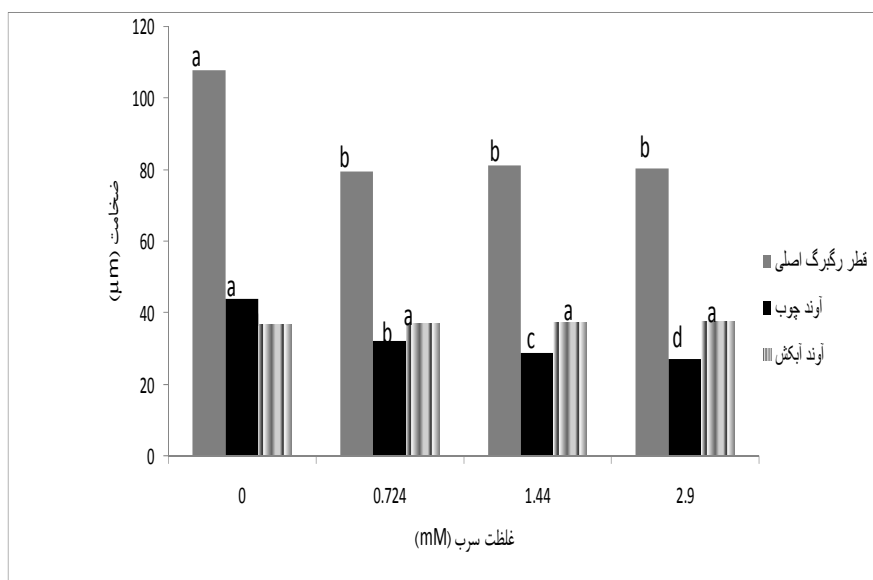


شکل ۸- تغییرات ضخامت برگ، اپیدرم فوقانی و تحتانی برگ در تیمار محلول پاشی





شکل ۹- تغییرات کانال ترشچی، مزوفیل اسفنجی و نردبانی برگ در تیمار محلول پاشی



شکل ۱۰- تغییرات رگبرگ اصلی، آوند چوب و آبکش برگ در تیمار محلول پاشی

## بحث

تغییرات محیطی به طور عمده منجر به تغییرات آناتومیکی از قبیل تغییر در ضخامت برگ، سلول‌های اپیدرمی، مزوفیل نردبانی و اسفنجی و فضاها بین سلولی می‌گردد (۱۳). مطالعات آناتومی و نتایج اندازه‌گیری‌های سلولی در این مطالعه نیز نشان دهنده این است که عمده تغییرات ایجاد شده در هر دو نوع تیمار در بافت‌های گفته شده ایجاد شده است.

تجمع فلزات سنگین سبب ایجاد تغییرات متفاوتی در بافت‌های مشابه در گیاهان مختلف می‌گردد. نتایج مطالعات گذشته نشان می‌دهد که تجمع فلزاتی از قبیل کادمیم، سرب و نیکل باعث کاهش اندازه بافت مزوفیل و اندازه سلول‌های اپیدرمی می‌گردد (۱۲)، اما افزایش غلظت منیزیم باعث افزایش ضخامت پهنک و بافت مزوفیل می‌گردد (۱۶).

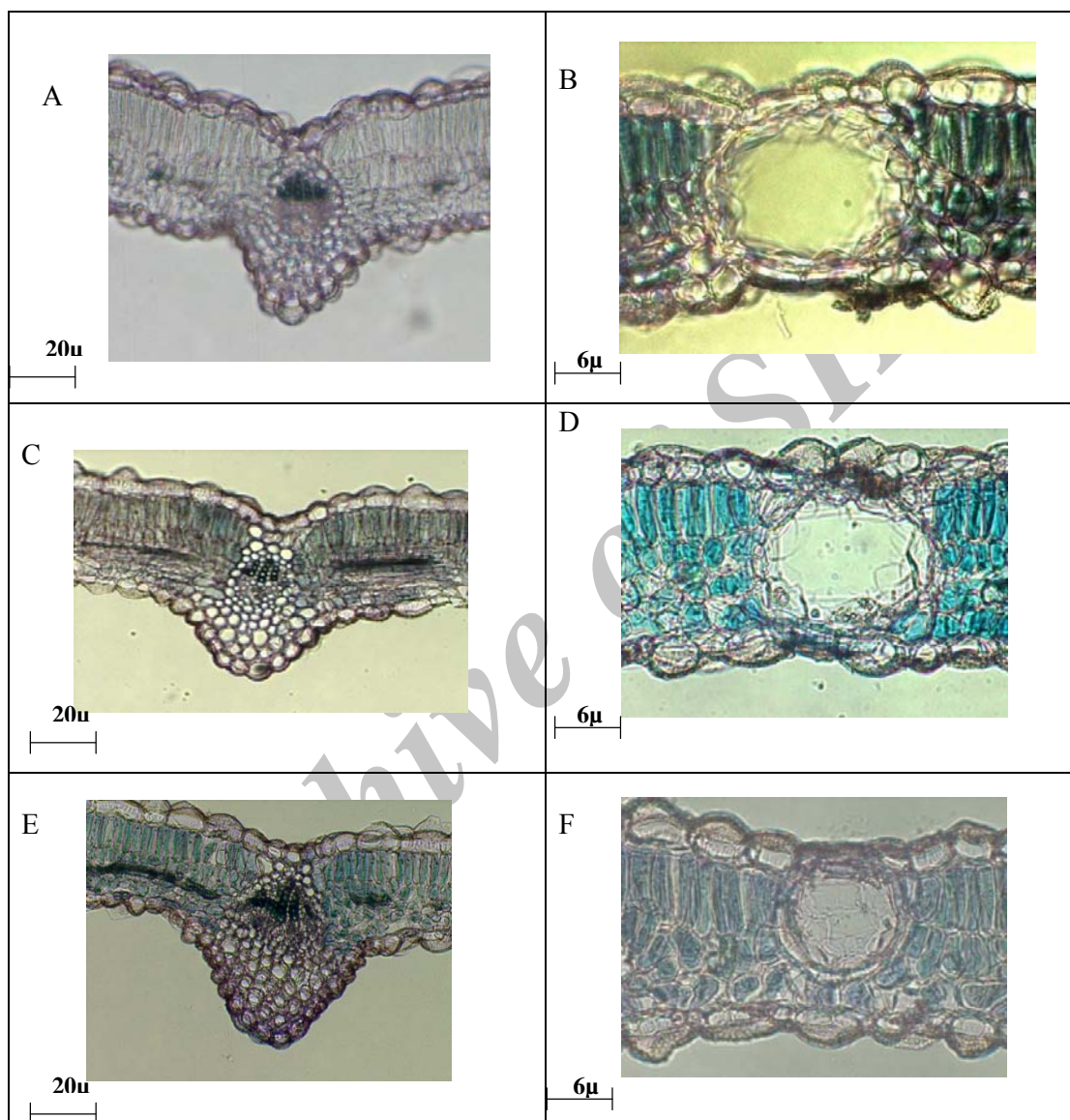
تیمارهای فلزات سنگین منجر به ظهور علائمی شبیه به علائم استرس خشکی از قبیل افزایش ضخامت پهنک و مزوفیل نردبانی، افزایش اندازه سلول‌های اپیدرم فوقانی، افزایش تعداد روزنه‌ها و کاهش قطر دهانه آنها در ساختار برگ می‌شود (۴). فراوان بودن بافت مزوفیل نردبانی،

علائم مورفولوژیک در هر دو تیمار آلودگی خاک و محلول پاشی بر سطح برگ مشابه و شامل چروکیدگی، بروز نکروز در نوک برگ‌های جوان و گسترش آن به تمام سطح برگ، قهوه‌ای یا سیاه شدن برگ‌های مسن و خمیدگی راسی ساقه بود. در گونه‌های گیاهی مختلف علائم مورفولوژیک یکسانی در سمیت سایر فلزات سنگین نیز گزارش شده است. نکروز و تغییر رنگ برگ‌ها شایع‌ترین علامت سمیت فلزات سنگین می‌باشد که به ترتیب به علت تولید انواع فعال اکسیژن، تخریب سلول‌ها، کاهش فتوسنتز و افزایش ترکیبات فنولی است (۲۴، ۲۳، ۱). آلودگی سرب در محیط رشد گیاهان اغلب منجر به کاهش تقسیم سلولی، تخریب هسته سلول‌ها، زردی برگ‌های جوان و کاهش میزان فتوسنتز می‌گردد (۲، ۱).

جذب و تجمع فلزات در غلظت‌های بالا منجر به تغییرات ساختاری و فراساختاری می‌گردد. در میان اندام‌های گیاهی برگ‌ها در مقابل استرس‌های محیطی حساس‌تر می‌باشند، اما در عین حال از انعطاف‌پذیری بیشتری برای سازگاری با شرایط محیطی نیز برخوردارند.

منظور کاهش هدایت آب و  $CO_2$  در برگ است که این امر منجر به کاهش تعرق و کاهش سرعت فتوسنتز در برگ‌های تحت تیمار فلزات سنگین می‌شود.

برگ را در مقابل استرس کم آبی محافظت می‌کند (۲۲) و همچنین منجر به افزایش جذب سطحی  $CO_2$  می‌گردد (۱۸). بنابراین ظهور اشکال زروفیت در ساختار برگ به



شکل ۱۱ - تصاویر برش عرضی برگ تحت تیمار محلول پاشی سرب

A, C, E: رگبرگ اصلی و بافت کلانشیم، A:  $0/724$  میلی مولار، C:  $1/44$  میلی مولار، E:  $2/9$  میلی مولار

B, D, F: اپیدرم فوقانی، اپیدرم تحتانی و بافت مزوفیل و کانال ترش‌چی

B:  $0/724$  میلی مولار، D:  $1/44$  میلی مولار، F:  $2/9$  میلی مولار

ضخامت برگ و مزوفیل نردبانی افزایش می‌یابد (۴). یکی از تفاوت‌های عمده آناتومیکی مشاهده شده در این مطالعه

همچنین گزارش شده است که با افزایش غلظت کادمیم، طول روزنه‌ها و اندازه سلول‌های اپیدرم فوقانی همانند

۲۴). بنابراین افزایش اندازه سلول‌ها در بافت‌های مختلف برگ که در این مطالعه مشاهده شد می‌تواند به دلیل افزایش تعداد واکوئل‌ها در اثر تنش فلز سرب باشد. فضاهای بین سلولی و بافت کلانشیم از مکان‌های عمده تجمع فلزات سنگین در گیاهان هستند (۲۴). به نظر می‌رسد که افزایش فضاهای بین سلولی و بافت کلانشیم در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک آوده و ۲/۹ میلی‌مولار سرب در محلول پاشی یک مکانیسم مقاومتی در مقابل افزایش غلظت سرب و تجمع آن در بافت‌های برگ باشد.

تغییرات قطر کانال‌های ترش‌چی برگ در دو تیمار اسپری و آلودگی خاک بود. در آلودگی خاک قطر کانال‌های ترش‌چی در غلظت‌های مختلف سرب تفاوت معناداری نداشت اما در تیمار اسپری با افزایش غلظت سرب قطر کانال‌های ترش‌چی کاهش یافت.

گزارش شده است که اپیدرم برگ، بافت‌های نگهدارنده و آوندهای برگ مکان‌های ذخیره فلزات می‌باشند و مکان ذخیره فلزات در سلول‌ها نیز واکوئل‌ها می‌باشند. در اثر ذخیره سازی فلزات تعداد واکوئل‌های سلول افزایش یافته و این امر موجب افزایش اندازه سلول‌ها می‌گردد (۲۵ و

## منابع

- ۲- حیدری ر، خیامی م، فرودنیاط (۱۳۸۴) اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از آلودگی سرب در دانه رسته‌های زیست‌شناسی ایران. جلد ۱۸، ۲۳۶-۲۲۸. مجله (*Zea mays* L.). ذرت
- ۱- مینویی س، مینایی تهرانی د، سمیعی ک، فریور ش (۱۳۸۷) مطالعه تغییرات ماکروسکوپی و میکروسکوپی تأثیر فلز کادمیوم بر گیاه گندمی (*Chlorophytum comosum*). مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۱، ۷۴۷-۷۳۷.
- 3- Alloway, B.J. (1990) Heavy metals in soils: Lead. Black and Glasgow. Ltd. London. 177-196.
- 4- Cai, Q. and Shi, G. (2009) Leaf plasticity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to heavy metal stress. Environmental and Experimental Botany 67: 112-117.
- 5- Campbell, M.H., Briese, D.T and Delfosse, E.S. (1995) *Hypericum perforatum* L. Biology of Australian weeds. 1: 149-167.
- 6- Campbell, M.H., May, C.E., Southwell, I.A., Tomlinson, J.D and Michael, P.W. (1997) Variation in *Hypericum perforatum* L. in new south wales. Plant Protection Quarterly. 12(2): 259-266.
- 7- Cariny, T. (1995) The re-use of contaminated land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher. 219.
- 8- Duke, J. (1991) CRC Handbook of Medicinal Herb. CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida. 677.
- 9- Harrison, R. M. and Laxen, D. P. H. (1977) A comparative study on methods for soil analysis of total lead in soil. Water, Air & Soil Pollution. 8: 387-392.
- 10- Husnu, K. (1997) Industrial Utilization of Medicinal and Aromatic plant. Acta Hort. 503: 177-192.
- 11- Kopittke, M., Asher, P. J., Mensies, N. (2007) Toxic effect of Pb<sup>2+</sup> on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). Environmental pollution. 10: 1-8.
- 12- Kovačević, G., Kastori, R., Merkulov, L. (1999) Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead, and nickel. Biol. Plant. 42: 119-123.
- 13- Li, Q., Yu, L., Deng, Y., Li, W., Li, M., Cao, J. (2007) Leaf epidermal characters of *Lonicera japonica* and *Lonicera confuse* and their ecology adaptation. J. For. Res. 18: 103-108.
- 14- Mozafarian, V. (1996), A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser Publisher.
- 15- Pais, I and Jones, J. (2000) The Handbook of Trace elements. St. Lucie Press. 115-116.
- 16- Papadakis, I.E., Giannakoula, A., Therios, I. N., Bosabalidis, A.M., Moustakas, M., Pellet, D. M., Grunes, D. L., Kolochian, L. V. (1995) Organic acid exudation as an aluminium-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.) Planta. 196: 788-795.
- 17- Radusiene, J. and Bagdonaite, E. (2001) Phenotypic Variation in *Hypericum Perforatum* L. and *H. maculatum* crantz Wild Populations Lithuania. The
- 18- Rhizopoulou, S., Psaras, G.K. (2003) Development and structure of drought-tolerant

- leaves of the Mediterranean shrub *Capparis spinosa* L. Ann. Bot. 92: 377– 383.
- 19- Sharma, P and Dubey, R. (2005) Lead toxicity in plant. Plant physiology. 17: 32-52 .
- 20- Schulz, V., Hansel, R. and Tyler, V. E. (1998) Rational phytotherapy. Springer- Verlag. Berlin Heidelberg.
- 21- Shepherd, T. and Griffiths, D. (2006) The effects of stress on plant cuticular Waxes. New Phytologist 171: 469–499.
- 22- Terashima, I. (1992) Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis. Photosynthesis
- 23-Tukiendorf, A., Wojcik, M.,Vongronsveld, J., Dhaen, J. (2005) Cadmium tolerance in *Thlaspi caerolescens* .II. Localization of cadmium in *T. caerolescens*. Environmental and Experimental Botany. 53: 163-171.
- 24-Vollenweider, S., Cosio, C., Gunthardt-Georg, M., Keller, C. (2006) Localization and effects of cadmium of cadmium- tolerant willow (*Salix viminalis*) II. Microlocalization and cellular effects of cadmium. Environmental and Experimental Botany. 58: 25-40.
- 25-Vollenweider, S., Cosio, C., Keller, C. (2006) Localization and effects of cadmium of cadmium- tolerant willow (*Salix viminalis*) I. Macrolocalization and phytotoxic effects of cadmium. Environmental and Experimental Botany. 58: 64-74.
- 26-Zarinkamar, F (2008). Iranian Atlas of Foliar Anatomy. Tehran: Noorbakhsh, Press.

## Effects of lead toxicity on foliar anatomy in *Hypericum perforatum* L.

Ghelich S.<sup>1</sup>, Zarinkamar F.<sup>1</sup> and Lebaschi M.H.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Plant Science Dept., Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of Iran

<sup>2</sup>Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. of Iran

### Abstract

Lead is one of the hazardous heavy metals environmental pollutants. According to the environmental protection agency (EPA), Pb is the most common heavy metal contaminant in the environment. The current study was undertaken to determine the effects of Pb toxicity in leaves of *Hypericum perforatum* L. Plants divided to 2 groups that first group treated by contaminant soils with 75, 150, 300, 600, 800, 1000, 1500 mg/kg Pb in soil and second group treated by foliar spray with 0.724, 1.44 and 2.9 mM Pb. This experiment was conducted under greenhouse condition. Results indicated that most of structural changes in soil pollution have been happened in epiderm, mesophyll, collenchyma and vascular bundles tissues. In foliar spray also epiderm, mesophyll, collenchyma and vascular bundles and secretory cavities have been changed.

**Keywords:** *Hypericum perforatum* , Lead, Leaf anatomy, Toxicity