تأثیر غلظت‌های مختلف مس و سرب بر تغییرات روزنه، خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه لاله‌عباسی (*Mirabilis jalapa*)

مهدیه نادوکی[۱]، وحیدرضا صفاری[۲*] و مهدی سرچشمه‌پور[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲)

چکیده

با توجه به خطرات زیست‌محیطی عناصر سنگین، استفاده از گیاهان برای پالایش محیط زیست در دهه‌های اخیر مورد توجه قرارگرفته است. در این پژوهش به‌منظور بررسی امکان استفاده از گیاه لاله‌عباسی، برای کشت در خاک‌های آلوده به عناصر سرب و مس، آزمایشی شامل چهار سطح سرب (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰ و۸۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) و چهار سطح مس (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰ و۸۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. کاربرد هر دو عنصر باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و صفات مورفولوژیک گیاه شد. صفات روزنه‌ای نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر این عناصر کاهش یافتند. همچنین افزایش معنی‌داری در فاکتورهایی از قبیل غلظت قند احیا، پرولین، تجمع سرب و مس در ریشه و ساقه و همچنین فعالیت آنزیم‌های مورد ارزیابی مشاهده شد. بیشترین تجمع عناصر فوق، در ریشه‌های گیاه مذکور بود. غلظت‌های سرب و مس ریشه در بالاترین سطوح، نسبت به شاهد به‌ترتیب ۳۲ و ۲۲ برابر و در اندام هوایی نیز نسبت به شاهد ۶ و ۳/۶ برابر افزایش یافتند. به‌علاوه فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز، در بالاترین سطوح کاربردی هر دو عنصر سنگین نسبت به شاهد به‌ترتیب ۲/۷، ۲/۵ و ۲/۴ برابر افزایش یافت. این درحالی بود که غلظت پرولین تحت تنش، بیش از ۹ برابر افزایش یافت. نتایج نشان می‌دهد که لاله‌عباسی می‌تواند به‌عنوان یک گیاه باغچه‌ای متحمل به غلظت‌های مختلف سرب و مس در مناطق آلوده به این فلزات استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، پرولین، تنش، عناصرسنگین

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۳. استادیار، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: safariv@uk.ac.ir

مقدمه

فلزات سنگین از آلاینده‌های مهم زیست‌محیطی به‌شمار می‌روند. این فلزات عناصری هستند که به‌طور طبیعی در خاک به‌میزان کم وجود دارند و تعدادی از آنها در مقادیر کم به‌عنوان عنصرغذایی ضروری برای گیاهان محسوب می‌شوند. تمامی این فلزات در غلظت‌های زیاد برای گیاهان سمی هستند و انباشته شدن آنها در زنجیره غذایی می‌تواند زندگی بشر را به مخاطره اندازد (۱۷). آلودگی محیط زیست به فلزات از طریق منابع متفاوتی است و شامل فعالیت‌های صنعتی، استخراج معادن، خالص‌سازی و تصفیه فاضلاب‌ها و همچنین امور کشاورزی از قبیل استفاده از سموم و مواد شیمیایی آلوده هستند (۲۲).

مس یکی از گسترده‌ترین فلزات مورد استفاده در صنایع الکتریکی و نیز صنعت آبکاری است (۱۵). این عنصر یکی از فلزات ضروری در بسیاری از آنزیم‌هاست و به‌طور طبیعی در بافت‌های گیاهی تا ۱۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک گیاه وجود دارد، ولی زمانی که غلظت آن کم یا زیاد می‌شود، مشکلات ناشی از آن نیز افزایش می‌یابد. تقریباً همه موجودات زنده به مس نیاز دارند و به‌عنوان یک کوفاکتور برای فرایندهای بیولوژیکی مانند تنفس، انتقال آهن، حفظ تنش اکسیداتیو، متابولیسم سلولی، انتقال پیام DNA و رشد و توسعه مناسب سلولی نقش ایفا می‌کند. شکل سمی مس بیشتر به‌صورت Cu^{+2} است و باعث ایجاد تغییراتی در ساختار پروتئین و فعالیت‌های کاتالیتی می‌شود. این فلز در غلظت‌های بالا از رشد گیاه ممانعت به‌عمل آورده، به عملکرد رنگدانه کروماتین آسیب وارد می‌کند و از فتوسنتز جلوگیری کرده، ممکن است باعث پیری زودرس در گیاهان شود. از دیگر اثرات مضر مس، تغییر دادن نفوذپذیری پوسته غشای سلول‌هاست و منجر به نشت پتاسیم و برخی محلول‌ها می‌شود (۳۶). زیان سرب نیز بیشتر ناشی از توان جابه‌جایی کم آن در محیط زیست و رسوب‌پذیری بالای آن است (۱۸). سمیت سرب به این دلیل است که بسیاری از جنبه‌های رفتاری متابولیسمی کلسیم را تقلید کرده و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند (۲۷). اختلالاتی که در اثر سمیت سرب در سطح گیاه ایجاد می‌شود شامل بی‌نظمی‌های میتوزی، چسبندگی کروموزوم‌ها و تخریب میکروتوبول‌های دوک میتوزی در مرحله پرومتافاز هستند که درنهایت منجر به مهار تقسیم سلولی می‌شود. همچنین غلظت‌های بالای سرب سبب اختلال در قابلیت نفوذپذیری غشای پلاسمایی، تونوپلاست و غشای کلروپلاست می‌شود (۲۹).

روش‌های سنتی برای پاکسازی مکان‌های آلوده معمولاً گران هستند و در دراز مدت کارایی چندانی ندارند و باعث آلودگی محلول خاک می‌شوند. همه فعالیت‌های بیولوژیکی را حذف می‌کنند و خاک‌ها را برای رشد گیاه غیر قابل استفاده می‌کنند (۷). از بین استراتژی‌های پاکسازی خاک، گیاه‌پالایی می‌تواند ارزان‌ترین و ساده‌ترین گزینه اصلاحی برای پروژه‌های طولانی‌مدت باشد. گیاه‌پالایی استفاده از گیاهان بیش‌اندوز و تجمع‌دهنده برای جلوگیری، تخریب و یا استخراج مواد سمی از بستر آب یا خاک است (۲۶). ساده‌ترین شکل پاکسازی و اصلاح زمین‌های آلوده با محصولات غیر غذایی، به‌ویژه در شهرها و مناطق مسکونی، استفاده از پالایشگرهای طبیعی همانند گل‌ها و گیاهان زینتی است. گیاهان زینتی یک گروه از گیاهان عالی هستند و بیشتر آنهایی که جزو زنجیره غذایی بشر نباشند و دارای خصوصیات بیش‌اندوزی باشند، می‌توانند برای اصلاح خاک‌های آلوده استفاده شوند. تاکنون گیاهان زیادی به‌عنوان گیاهان اصلاح‌کننده شناخته شده‌اند، اما گزارش‌های اندکی روی گیاهان زینتی که بتوانند خاک‌های آلوده را اصلاح کنند وجود دارد (۳۸). گیاهانی که به‌منظور گیاه‌پالایی در خاک‌های آلوده به‌کار می‌روند، باید دارای خصوصیاتی نظیر سازگاری اکولوژیک با محیط خاک و اقلیم مورد نظر، رشد سریع، مورفولوژی مناسب ریشه، توانایی تحمل فلزات سنگین و رادیونوکلئیدها باشند. همچنین این گیاهان باید توانایی زیادی در جذب این فلزات و عناصر از خاک داشته باشند. برخی از گیاهان دارای چنین توانایی‌هایی هستند، ولی تاکنون تعداد معدودی از آنها مورد استفاده قرار گرفته‌اند، لذا مطالعات برای شناسایی و انتخاب گیاهان مناسب دارای اهمیت

خاصی است (۳۳).

لاله‌عباسی با نام علمی *Mirabilis jalapa* از خانواده Nyctaginaceae و از گیاهان بستری مرسوم در فضاهای سبز ایران است که می‌تواند ترجیحاً فلزات را در ریشه تجمع داده و تحرک و جابه‌جایی آن را در خاک کاهش دهد و از این طریق می‌تواند برای کشت در مناطق آلوده به این عناصر استفاده شود (۹). پنگ و همکاران (۳۹) نیز گزارش کردند که این گیاه توانایی پالایش آلودگی ناشی از ترکیبات آلی نظیر نفت خام را در غلظت‌های مساوی یا پایین‌تر از ۱۰۰۰۰ میلی گرم نفت خام بر کیلوگرم خاک را در آزمایش‌های گلخانه‌ای بدون نشان دادن علائم مسمومیت دارد. با توجه به افزایش روزافزون آلودگی بسترهای کشت به‌ویژه در مناطق شهری و صنعتی و کارایی ساده و کم‌هزینه پالایشگری مداوم این خاک‌ها توسط گیاهان زینتی، گیاه لاله‌عباسی به‌دلیل سازگاری با بیشتر مناطق آب‌وهوایی ایران، زیست‌توده و قابلیت رشد بالا و همچنین انتقال قابل توجه عناصرسنگین به اندام‌های خود برای این پروژه انتخاب شد. در این مطالعه علاوه بر بررسی توانایی این گیاه در انتقال دو عنصر سرب و مس به اندام‌های هوایی و ریشه‌ها از خاک آلوده، برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان مورد تیمار نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت گلدانی در سال ۱۳۹۲ در مجتمع گلخانه‌های تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، به‌صورت فاکتوریل و متشکل از دو فاکتور بود که هریک در چهار سطح و سه تکرار اجرا شدند. فاکتور اول شامل چهار سطح سرب (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک) بود که از منبع نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) و فاکتور دوم نیز شامل چهار سطح مس (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم مس بر کیلوگرم خاک) بود که از منبع سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O$) تهیه شد. برای آزمایش از بذر لاله عباسی ابلق الوان استفاده شد.

خاک مورد استفاده دارای بافت لوم شنی بود که از الک چهار میلی‌متری عبور داده شده و برای خروج شوری چندین بار شسته و پس از خروج نمک مورد استفاده قرار گرفت. برخی ویژگی‌های خاک مذکور، در ذیل آورده شده است (جدول ۱). مقدار چهار کیلوگرم خاک برای هر گلدان توزین و درون کیسه‌های پلاستیکی ریخته و تا حد ظرفیت مزرعه آبیاری شد. محلول‌های آبی پس از تهیه، به خاک درون کیسه‌های پلاستیکی اضافه شدند. ابتدا خاک گلدان‌ها با عنصر سرب و بعد از یک هفته به‌منظور آلودگی بهتر، تیمارهای مورد نظر با عنصر مس نیز آلوده شدند.

بعد از حدود یک ماه از آلوده شدن خاک‌ها و آبیاری مداوم و تحت کنترل گلدان‌ها در طول این مدت، خاک هر تیمار به درون گلدان‌ها انتقال یافتند. سپس بذرها در گلدان‌ها کاشته شدند. گلدان‌ها بر اساس میزان تبخیر و تعرق تا حدود ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه، به گونه‌ای آبیاری شدند که زهاب از انتهای گلدان‌ها خارج نشود. پس از کامل شدن مراحل رشد گیاهان و طی یک دوره ۱۳۰ روزه، نمونه‌برداری‌های لازم برای تعیین صفات مورد ارزیابی از قبیل کلروفیل کل، کاروتنوئید، قند احیا، پرولین، غلظت سرب و مس در ساقه و ریشه، صفات مورفولوژیک گیاه مانند طول ساقه، تعداد و طول روزنه، وزن خشک ساقه و ریشه و همچنین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز صورت گرفت.

غلظت کلروفیل و کاروتنوئید

برای سنجش غلظت کلروفیل و کاروتنوئید، ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون‌چینی حاوی ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده و سپس جذب آنها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. نتایج با استفاده از رابطه‌های مربوطه محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر تعیین شد (۳۰).

جدول ۱. برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده در آزمایش

هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	کربن آلی (درصد)	pH	مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	سرب
۰/۹۷	۰/۸۲	۷/۵۵	۰/۸۳	۱/۵۱

غلظت قندهای احیا کننده

به‌منظور تهیه عصاره گیاهی برای تعیین این شاخص، ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاه با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی سائیده و سپس به بشر کوچکی منتقل شد و روی اجاق برقی قرار داده شد تا حرارت ببیند. به محض رسیدن به نقطه جوش، حرارت قطع و محتوای بشر به کمک کاغذ صافی واتمن صاف شد. دو میلی‌لیتر از هر عصاره به لوله آزمایش منتقل و پس از افزودن دو میلی‌لیتر محلول سولفات مس، سرلوله‌ها با پنبه مسدود شد و در حمام آب گرم با حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از مشاهده رنگ قرمز آجری در انتهای لوله آزمایش، لوله‌ها سرد شده و دو میلی‌لیتر محلول فسفومولیبدیک اسید به آنها افزوده شد و پس از چند لحظه رنگ آبی پدیدار شد. سپس شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر تعیین و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت قندهای احیا کننده محاسبه شد (۴۵).

غلظت پرولین

برای تعیین این شاخص از روش نین هیدرین اسید استفاده شد (۵). ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول سه درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده شد و عصاره حاصل سانتریفیوژ و دو میلی‌لیتر از مایع رویی با دو میلی‌گرم معرف نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک خالص مخلوط و در حمام آب گرم و سپس برای قطع انجام کلیه واکنش‌ها در حمام آب سرد قرار گرفت. سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و پس از تشکیل دو لایه کاملاً مجزا، از لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری غلظت پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر و با استفاده از منحنی استاندارد استفاده شد.

اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین

ابتدا دو گرم نمونه گیاهی خشک در کروزه سیلیسی ریخته شد و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج ساعت قرار گرفت. سپس مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک دو مولار به خاکستر اضافه شد. محتویات کروزه با استفاده از کاغذ صافی ریز به داخل بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری صاف و بعد از شستشوی کافی توسط آب مقطر به حجم رسید. برای اندازه‌گیری غلظت عناصر از اسپکتروفتومتری جذب اتمی استفاده شد. ابتدا با استفاده از نمودار استاندارد مربوطه توسط نرم‌افزار ویژه دستگاه، منحنی غلظت – جذب ترسیم و سپس غلظت محلول‌های مجهول با استفاده از آن تعیین شد (۴۱).

تعداد و طول روزنه

به‌منظور تعیین این شاخص، نمونه‌برداری از اپیدرم برگ‌ها، از بوته‌های در حال رشد انجام شد. لایه‌ای نازک از لاک شفاف و رقیق شده با استون روی سطح آنها کشیده شد و پس از خشک شدن، با استفاده از نوار چسب شفاف از برگ جدا و روی لام قرار داده شد. این کار موجب شد که تصویر اپیدرم برگ روی چسب نواری انتقال یابد. اسلاید آماده شده توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰X × ۴۰X مورد مشاهده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری طول روزنه‌ها از یک عدسی چشمی مجهز به میکرومتر استفاده و تعداد روزنه‌ها در مساحت $۹۴۹۸۵۰\mu m^2$ از سطح برگ اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم بر اساس ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) است. بر این اساس سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار

(pH=۷)، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۲ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با برداشتن فویل آلومینیومی و قراردادن نمونه‌ها در مقابل نور شروع و پس از ۱۰ دقیقه نور قطع شده و بلافاصله جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم علاوه‌بر شاهد (برای صفرکردن دستگاه اسپکتروفتومتر)، نیاز به نمونه کنترل نیز است. میزان فعالیت آنزیم SOD نمونه‌ها در مقایسه با کنترل سنجیده می‌شود. اختلاف جذب نمونه‌ها و کنترل در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده مهار احیا نوری NBT در حضور آنزیم SOD موجود در نمونه است. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی بر حسب سنجش آنزیم در پروتئین کل (میلی‌گرم) در ۵۰ میکرولیتر عصاره به‌دست آمده از روش برادفورد بیان شد (۲۰).

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب‌اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت (۴۶). بر اساس این روش مخلوط واکنش سه میلی‌لیتر و شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آب‌اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با افزودن آب اکسیژنه به مخلوط، واکنش شروع و کاهش در جذب آب‌اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت این آنزیم بر اساس روش ناکانو و آسادا (۳۴) اندازه‌گیری شد. در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک‌اسید و کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت دو دقیقه اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX)

فعالیت این آنزیم بر اساس روش کچپا و همکاران (۲۸)، اندازه‌گیری شد. در این روش مخلوط واکنش حاوی دو میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۳۰۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۵ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر به‌مدت سه دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها به‌روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجمع عناصرسنگین در ریشه و اندام هوایی گیاه

تفاوت‌های معنی‌داری در نتیجه اثر تیمارهای سرب و مس و اثر متقابل آنها در تجمع عناصرسنگین در این گیاه که اصلی‌ترین هدف این پژوهش بود، مشاهده شد. کمترین غلظت سرب در ریشه و ساقه تیمار شاهد و تیمارهای حاوی سطوح مختلف مس بدون حضور سرب مشاهده شد. پایین‌ترین غلظت سرب ریشه در تیمارهای نام‌برده با کل سطوح مختلف مس در حضور ۲۰۰ میلی‌گرم سرب نیز اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. بالاترین غلظت این عنصر نیز در ریشه و ساقه مربوط به کلیه تیمارهای حاوی سطوح مختلف مس در حضور ۸۰۰ میلی‌گرم سرب بود. با افزایش غلظت سرب و در حضور غلظت‌های مختلف مس، ورود این عنصر به ریشه و اندام هوایی روند صعودی در جذب نشان داد. به‌علاوه در ریشه این گیاه بالاترین غلظت عنصر مذکور نسبت به ساقه دیده شد (جدول ۲). همچنین بیشترین غلظت مس در ریشه مربوط به تیمار ۸۰۰ میلی‌گرم مس در حضور ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم سرب و در ساقه مربوط به کلیه تیمارهای حاوی سطوح مختلف سرب با ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم مس مشاهده شد و کمترین آن نیز در ریشه و ساقه گیاه شاهد و تیمارهای حاوی سطوح مختلف سرب بدون حضور مس بود. با افزایش غلظت مس در محیط کشت، ورود

جدول ۲. مقایسه میانگین برهم‌کنش سطوح مختلف سرب و مس بر غلظت این عناصر در ساقه و ریشه گیاه لاله‌عباسی

تیمار (mg/kg)		تجمع سرب در ساقه	تجمع مس در ساقه	تجمع سرب در ریشه	تجمع مس در ریشه
سرب	مس	(mg/kg DW)	(mg/kg DW)	(mg/kg DW)	(mg/kg DW)
صفر	۰	۲/۶^{d}	۳/۵^{e}	۵/۵^{c}	۳/۸^{d}
	۲۰۰	۲/۷^{d}	۷/۴^{d}	۵/۷^{c}	۳۰/۱^{c}
	۴۰۰	۳/۰^{d}	۸/۳^{cd}	۶/۲^{c}	۳۲/۴^{c}
	۸۰۰	۲/۸^{d}	۱۱/۶^{a}	۵/۷^{c}	۶۳/۰^{b}
۲۰۰	۰	۵/۶^{c}	۳/۲^{e}	۱۷/۳^{c}	۳/۶^{d}
	۲۰۰	۵/۴^{c}	۸/۷^{cd}	۲۱/۶^{c}	۲۹/۹^{c}
	۴۰۰	۵/۴^{c}	۹/۶^{bc}	۲۴/۸^{c}	۳۴/۶^{c}
	۸۰۰	۵/۶^{c}	۱۱/۵^{a}	۲۲/۷^{c}	۶۷/۰^{b}
۴۰۰	۰	۷/۶^{b}	۳/۷^{e}	۵۰/۹^{b}	۳/۰^{d}
	۲۰۰	۷/۵^{b}	۸/۹^{cd}	۵۰/۹^{b}	۳۷/۱^{c}
	۴۰۰	۸/۱^{b}	۱۱/۲^{ab}	۵۴/۸^{b}	۳۹/۲^{c}
	۸۰۰	۸/۳^{b}	۱۲/۲^{a}	۵۴/۰^{b}	۷۲/۹^{ab}
۸۰۰	۰	۱۳/۹^{a}	۳/۶^{e}	۱۶۰/۸^{a}	۴/۵^{d}
	۲۰۰	۱۴/۰^{a}	۸/۹^{cd}	۱۶۱/۰^{a}	۳۵/۱^{c}
	۴۰۰	۱۵/۲^{a}	۱۱/۳^{ab}	۱۶۶/۹^{a}	۴۰/۹^{c}
	۸۰۰	۱۵/۷^{a}	۱۲/۷^{a}	۱۷۶/۸^{a}	۸۲/۲^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح پنج درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

این عنصر به گیاه افزایش یافت (جدول ۲). در پژوهشی که روی گل همیشه‌بهار و ختمی‌زینتی در تیمار صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب به‌صورت محلول‌پاشی انجام شد، میزان غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه همیشه‌بهار به‌ترتیب ۲۵۰ و ۷۵۰ و برای گل ختمی‌زینتی ۳۲۰ و ۸۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد (۳۱). گل زینتی قرنفل نیز به‌عنوان یک گیاه برای تجمع مس در مکان‌های آلوده شناخته شده و غلظت مس با تیمارهای ۰/۴ تا ۴۰ میکرومولار، در ساقه و ریشه آن به‌ترتیب ۱۴۶ و ۱۶۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمده است (۴۹). مطالعات انجام گرفته در ایالات متحده نشان داد درخت گز در اطراف معادن مس، توانایی تجمع این عنصر را به‌میزان ۱۰۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک در ریشه دارد (۲۳). توانایی گیاه خردل نیز در تجمع عنصر مس در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به‌ترتیب ۳۷۷۱ و ۸۷۱ میلی‌گرم مس بر کیلوگرم وزن خشک در ریشه و شاخساره بود (۳). شایان ذکر است که گیاهان کشت شده در تمامی تیمارهای به‌کار رفته در این پژوهش مراحل رشد و نمو خود را به شکل عادی طی کرده و از نظر ظاهر به استثناء ارتفاع ساقه‌ها و کاهش رنگ برگ‌ها در سطوح بالای سرب و مس، اختلاف قابل توجهی را نسبت به شاهد نشان ندادند.

غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئید

تجزیه داده‌ها نشان می‌دهد که تأثیر تیمارهای سرب و مس بر این دو رنگیزه معنی‌دار است، به نحوی که بالاترین غلظت کلروفیل و کاروتنوئید مربوط به تیمارهای شاهد و کمترین آن در بالاترین غلظت سرب و مس با ۸۰۰ میلی‌گرم دو عنصر ذکرشده، مشاهده شد (جدول ۳). در گیاهان تحت تیمار عناصر سنگین، علائم سمیت به‌صورت زردی در سطح برگ‌ها به‌ویژه

جدول ۳. مقایسه میانگین برهم‌کنش سطوح مختلف سرب و مس بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه لاله‌عباسی

تیمار (mg/kg)		پرولین	کلروفیل کل	کاروتنوئید	قندهای احیا کننده
سرب	مس	(µm/g FW)	(mg/g FW)	(mg/g FW)	(mg/g FW)
صفر	۰	۳/۵^{i}	۲/۲۲^{a}	۵/۱^{a}	۱/۱^{k}
	۲۰۰	۷/۰^{h}	۲/۰۴^{b}	۴/۴^{bc}	۱/۶^{ij}
	۴۰۰	۱۲/۰^{g}	۱/۸۳^{c}	۴/۲^{bcd}	۱/۸^{hi}
	۸۰۰	۱۷/۵^{e}	۱/۳۸^{e}	۳/۲^{f}	۲/۸^{e}
۲۰۰	۰	۶/۹^{h}	۲^{b}	۴/۵^{b}	۱/۴^{j}
	۲۰۰	۱۰/۴^{g}	۱/۸۱^{c}	۴/۱^{cd}	۱/۸^{hij}
	۴۰۰	۱۴/۰^{f}	۱/۶۶^{d}	۳/۹^{de}	۲/۳^{fg}
	۸۰۰	۱۹/۶^{d}	۱/۱۹^{f}	۲/۸^{g}	۳/۳^{d}
۴۰۰	۰	۱۰/۵^{g}	۱/۷۷^{c}	۴/۱^{cd}	۲/۱^{gh}
	۲۰۰	۱۵/۰^{f}	۱/۵۹^{d}	۳/۷^{e}	۲/۵^{ef}
	۴۰۰	۱۷/۵^{e}	۱/۳۹^{e}	۳/۳^{f}	۲/۸^{e}
	۸۰۰	۲۵/۷^{c}	۰/۹۸^{g}	۲/۳^{h}	۳/۹^{c}
۸۰۰	۰	۱۷/۸^{e}	۱/۴^{e}	۳/۲^{f}	۲/۸^{e}
	۲۰۰	۲۱/۳^{d}	۱/۱۹^{f}	۲/۸^{g}	۳/۴^{d}
	۴۰۰	۲۷/۵^{b}	۰/۹۲^{g}	۲/۳^{h}	۴/۵^{b}
	۸۰۰	۳۲/۷^{a}	۰/۶۷^{h}	۱/۴^{i}	۴/۹^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح پنج درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

در تیمار ۸۰۰ میلی‌گرم سرب و مس دیده شد. بنابراین روند تغییر در غلظت این دو رنگیزه نشان می‌دهد که با افزایش سطوح کاربردی سرب و مس، غلظت آنها نیز کاهش پیدا می‌کند. کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار سرب می‌تواند به‌دلیل آسیب‌های اکسیداتیو باشد. به‌علاوه این کاهش می‌تواند به‌دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه‌های دیگر باشد. تجزیه زیستی کلروفیل نیز در حضور فلزات سنگین از عوامل مهم کاهش کلروفیل محسوب می‌شود (۲۱). همچنین سرب، ساخته شدن کلروفیل را از طریق کاهش جذب عناصر ضروری نظیر منیزیم و آهن متوقف (۸) و تجزیه کلروفیل را با افزایش دادن فعالیت آنزیم کلروفیلاز افزایش می‌دهد (۱۳). بر اساس گزارش لیو و همکاران (۳۲)، با کاربرد پنج میلی‌گرم مس بر لیتر در گیاه زینتی امین‌الدوله رنگیزه‌های فتوسنتزی افزایش معنی داری را نسبت به شاهد نشان دادند، اما در غلظت های بالاتر عنصر، غلظت این رنگیزه‌ها کاهش یافت.

غلظت پرولین و قندهای احیا کننده

نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای سرب و مس و نیز اثر متقابل آنها بر پرولین و قندهای احیاکننده معنی‌دار شده است. کم‌ترین غلظت پرولین در گیاه شاهد و بالاترین غلظت این اسیدآمینه در تیمار حاوی ۸۰۰ میلی‌گرم سرب در برهم‌کنش با ۸۰۰ میلی‌گرم مس مشاهده شد. روند تغییرات غلظت پرولین در این پژوهش نشان داد که با افزایش سطوح عناصر سنگین، غلظت این ماده نیز در گیاه افزایش پیدا می‌کند (جدول ۳). در گیاهان انباشته شدن پرولین در اثر قرارگرفتن در

برابر فلزات سنگین بسیار شایع است (۱۱). اگرچه غلظت پرولین موجود در گیاه کاملینا تحت تیمار سطوح مختلف مس و گیاه شاهد تفاوت معنی‌داری گزارش نشد (۴۴) در مطالعه نورانی آزاد و همکاران (۳۵)، افزایش پرولین همراه با افزایش غلظت سرب در اندام‌های هوایی و ریشه یک رقم گلرنگ مشاهده شد. گزارش شده است که ازجمله سازوکارهای دفاعی در مقابل فلزات سنگین، سنتز و انباشته شدن آمینواسیدهایی نظیر پرولین است که تنظیم‌کننده اسمزی و کاهش‌دهنده سمیت ناشی از فلزات سنگین است (۲).

همچنین کمترین غلظت قند احیا در تیمار شاهد و بیشترین آن در تیمار حاوی ۸۰۰ میلی‌گرم سرب و مس بود و اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نشان دادند (جدول ۳). افزایش قندهای محلول در شرایط تنش ناشی از شوری، خشکی، سرما و فلزات سنگین گزارش شده است (۱۴). بسیاری از فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازند (۴۸). با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به‌دنبال تجمع عناصر سنگین در سلول‌ها، غلظت قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه‌بر 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. این نتایج با نتایج ورما و دوبی (۴۷) تحت تنش سرب روی برنج همخوانی دارد.

تعداد و طول روزنه

سطوح مختلف عناصرسنگین فوق، روی تعداد و طول روزنه در این گیاه تفاوت‌های معنی‌داری نشان دادند. طبق داده‌های حاصل، بیشرین تعداد روزنه در تیمار شاهد دیده شد که با تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم مس اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همچنین کمترین تعداد روزنه در بالاترین غلظت‌های اعمالی سرب و مس مشاهده شد که شاهد نسبت به آن تا دو برابر افزایش نشان داد. بیشترین طول روزنه نیز در تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به غلظت‌های بالای سرب و مس در برهم‌کنش با همدیگر مشاهده شد. طول روزنه تیمار ۸۰۰ میلی‌گرم سرب در حضور ۸۰۰ میلی‌گرم مس در مقایسه با تیمار شاهد بیش از ۲۸ درصد کاهش نشان داد (جدول ۴). به عبارتی با افزایش سطوح کاربردی این عناصر، تعداد و طول روزنه‌ها در سطح رویی برگ‌های گیاه کاهش پیدا می‌کند. به‌طورکلی روزنه‌ها به‌عنوان نمایشگرهای زیستی آلودگی محیطی عمل می‌کنند. در آزمایشی با تیمار جوانه‌های ۱۵ روزه در دو گونه عدس و ماش با عناصر سنگین نشان داده شد که اندازه دهانه روزنه در گیاه شاهد در مقایسه با تیمارها بزرگ‌تر بود و در تیمارها اندازه دهانه روزنه کاهش یافته بود (۴). در پژوهش انجام شده توسط پژوهشگران، مس دارای اثر منفی بر روزنه‌ها در گیاه آویشن بود و باعث کاهش اندازه روزنه شد (۳۷). در گیاه اکالیپتوس نیز کاهش تعداد روزنه‌ها در مقابل تنش عناصر سنگین در سطح رویین و زیرین برگ مشاهده شد (۴۲) که با نتایج ما همسو است.

وزن خشک ساقه و ریشه و طول ساقه

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اثر تیمار فلزات سنگین بر وزن خشک ساقه و ریشه و طول گیاه معنی‌دار است. طول ساقه تحت سطوح مختلف آلودگی سرب و مس نسبت به تیمار شاهد، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. طبق نتایج، با افزایش غلظت‌های مختلف سرب و مس، در طول ساقه کاهش دیده می‌شود (جدول ۴). وزن خشک ساقه و ریشه نیز در تیمار غلظت‌های مختلف سرب و مس، نسبت به شاهد در سطح یک درصد به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند. با توجه به جدول ۴ مشاهده می‌شود که با افزایش سمیت عناصر مذکور، وزن خشک ساقه و ریشه نیز کاهش می‌یابد.

کارتاگلیس و بابالوناس (۲۴) بیان کردند که ارتفاع گیاه و بیومس ساقه و ریشه در گوجه‌فرنگی با افزایش غلظت مس به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. همچنین در ارتفاع اندام هوایی

جدول ۴. مقایسه میانگین برهم‌کنش سطوح مختلف سرب و مس بر صفات مورفولوژیک گیاه لاله‌عباسی

تیمار (mg/kg)		طول ساقه (cm)	طول روزنه (µm)	تعداد روزنه	وزن‌خشک ساقه (g)	وزن‌خشک ریشه (g)
سرب	مس					
صفر	۰	۴۹/۲^{a}	۱۰/۵^{a}	۱۴/۳^{a}	۳/۵۰^{a}	۰/۴۸^{a}
	۲۰۰	۴۶/۰^{ab}	۹/۳^{b}	۱۳/۰^{ab}	۲/۹۸^{ab}	۰/۴۳^{ab}
	۴۰۰	۴۴/۰^{bcd}	۸/۸^{bcd}	۱۱/۰^{c}	۲/۵۰^{bc}	۰/۳۸^{abc}
	۸۰۰	۴۰/۷$^{c-g}$	۸/۱$^{d-g}$	۹/۳$^{c-h}$	۱/۷۹$^{c-f}$	۰/۲۹^{cde}
۲۰۰	۰	۴۴/۷^{bc}	۹/۲^{bc}	۱۲/۷^{b}	۲/۴۹^{bc}	۰/۳۹^{abc}
	۲۰۰	۴۳/۲$^{b-e}$	۸/۶$^{c-f}$	۱۰/۷^{cd}	۲/۳۰^{bcd}	۰/۳۴^{bcd}
	۴۰۰	۴۰/۰$^{d-h}$	۸/۰^{efg}	۹/۷$^{c-g}$	۱/۹۱$^{c-f}$	۰/۳۲^{cde}
	۸۰۰	۳۷/۸^{fgh}	۸/۱$^{d-g}$	۸/۷$^{e-h}$	۱/۷۳$^{c-f}$	۰/۲۷^{de}
۴۰۰	۰	۴۳/۰$^{b-e}$	۸/۷$^{b-e}$	۱۰/۳^{cde}	۲/۲۵$^{b-e}$	۰/۳۸^{abc}
	۲۰۰	۴۱/۷$^{b-f}$	۸/۰^{efg}	۱۰/۰$^{c-f}$	۱/۷۵$^{c-f}$	۰/۳۱^{cde}
	۴۰۰	۴۱/۰$^{c-g}$	۷/۸^{g}	۹/۰$^{d-h}$	۱/۶۸$^{c-f}$	۰/۳۰^{cde}
	۸۰۰	۳۷/۵^{fgh}	۷/۶^{g}	۸/۳$^{f-i}$	۱/۳۹^{ef}	۰/۲۴^{de}
۸۰۰	۰	۳۹/۰$^{e-h}$	۸/۰^{efg}	۹/۰$^{d-h}$	۱/۶۱$^{c-f}$	۰/۲۸^{cde}
	۲۰۰	۳۷/۰^{gh}	۷/۹^{fg}	۸/۰^{ghi}	۱/۵۶^{def}	۰/۲۶^{de}
	۴۰۰	۳۶/۰^{h}	۷/۷^{g}	۷/۷^{hi}	۱/۳۵^{f}	۰/۲۳^{de}
	۸۰۰	۳۵/۶^{h}	۷/۵^{g}	۷/۰^{i}	۱/۲۸^{f}	۰/۲۲^{e}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح پنج درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

و وزن خشک برگ و ساقه ذرت پس از اعمال غلظت‌های مختلف سرب، نتایج نشان‌دهنده کاهش بیومس خشک و ارتفاع گیاه در اثر سرب بود (۴۰). ال‌تیب و همکاران (۱۶) نیز بیان کردند که مس باعث کاهش وزن خشک ساقه و ریشه آفتابگردان زینتی می‌شود. اعمال غلظت‌های مختلف مس در کلم زینتی نیز باعث کاهش معنی‌دار طول گیاه و وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاه شد (۱).

فعالیت آنزیم‌های مختلف

سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو مجهز به یک سیستم جاروب کننده رادیکال‌های آزاد است (۱۰). مطالعات زیادی که روی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی انجام شده، نشان داده‌اند که برای محافظت در برابر اثرات سمی گونه‌های فعال اکسیژن به عملکرد ترکیبی SOD، CAT و POX نیاز داریم (۱۹).

در بررسی اثر سرب و مس بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه، تجزیه داده‌ها حاکی از تأثیر معنی‌دار دو عامل سرب و مس و اثرات متقابلشان در سطح یک درصد بر فعالیت این آنزیم بود. افزایش غلظت سرب و مس، افزایش فعالیت آنزیمی در گیاه را موجب شده بود. اما با توجه به افزایش بیشتر در جذب سرب نسبت به مس، می‌توان گفت سرب فعالیت آنزیم مربوطه را بیش از مس موجب شده است (جدول ۵). در بررسی اثر سرب و مس بر فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نیز تجزیه داده‌ها نشان‌دهنده اثر معنی‌دار سرب و مس بر فعالیت این آنزیم‌ها بود و افزایش غلظت سرب و مس اثر افزایشی بر فعالیت این آنزیم‌ها داشته

جدول ۵. مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف سرب و مس بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت برگ گیاه لاله‌عباسی

تیمار (mg/kg)		سوپراکسیددیسموتاز	پراکسیداز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
سرب	مس	(Unit/mg)	(Unit/mg)	(Unit/mg)	(Unit/mg)
صفر	۰	۱۲۷۵^{j}	۲۲۶^{j}	۱۰۳^{i}	۸۶۳^{j}
	۲۰۰	۱۶۱۴^{i}	۲۶۸^{hi}	۱۳۴^{h}	۱۱۴۵^{i}
	۴۰۰	۱۹۸۲^{h}	۲۸۰^{gh}	۱۵۱^{g}	۱۲۷۴^{h}
	۸۰۰	۲۴۹۵^{e}	۳۲۰^{e}	۱۸۵^{d}	۱۵۱۰^{e}
۲۰۰	۰	۱۷۲۷^{i}	۲۵۹^{i}	۱۳۲^{h}	۱۱۴۳^{i}
	۲۰۰	۱۸۸۰^{h}	۲۸۴^{g}	۱۶۱^{f}	۱۳۲۰^{gh}
	۴۰۰	۲۱۸۹^{g}	۳۰۳^{f}	۱۶۹^{ef}	۱۳۸۸^{fg}
	۸۰۰	۲۸۴۹^{c}	۳۴۰^{d}	۲۰۱^{c}	۱۶۴۵^{d}
۴۰۰	۰	۱۹۰۵^{h}	۲۹۰^{fg}	۱۵۱^{g}	۱۲۶۲^{h}
	۲۰۰	۲۳۳۸^{f}	۳۰۱^{f}	۱۷۸^{de}	۱۴۴۶^{ef}
	۴۰۰	۲۵۳۳^{e}	۳۱۷^{e}	۱۸۴^{d}	۱۵۱۶^{e}
	۸۰۰	۳۱۴۱^{b}	۳۵۸^{c}	۲۱۷^{b}	۱۷۷۳^{b}
۸۰۰	۰	۲۶۵۷^{d}	۳۳۰^{de}	۱۸۴^{d}	۱۵۱۴^{e}
	۲۰۰	۲۸۸۳^{c}	۳۳۹^{d}	۲۱۰^{bc}	۱۶۷۶^{cd}
	۴۰۰	۳۱۰۰^{b}	۳۷۲^{b}	۲۱۷^{b}	۱۷۴۹^{bc}
	۸۰۰	۳۴۱۲^{a}	۳۹۶^{a}	۲۵۴^{a}	۲۰۴۳^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح پنج درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

است (جدول ۵). در اثر شرایط تنش، اکسیژن فعال در گیاه افزایش می‌یابد در این شرایط گیاه مکانیزم‌های متفاوتی را برای حذف و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن به‌کار می‌گیرد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین آنزیم در فرایند سمیت‌زدایی به‌شمار می‌رود (۱۹) و واکنش تبدیل رادیکال‌های سوپراکسید به H_2O_2 و O_2 را کاتالیز می‌کند (۱۲). کاتالاز آنزیم مهم دیگری است که در شرایط تنش اکسیدی فعال می‌شود. این آنزیم قادر به هضم و حذف H_2O_2 است (۲۵). بدین ترتیب پراکسیداز هیدروژن (H_2O_2) که محصول سمی حاصل از عملکرد SOD است، توسط این آنزیم یا پراکسیداز تبدیل شده یا مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۹). نشان داده شده که سرب باعث افزایش فعالیت پراکسیداز در گیاهان زراعی شده (۴۳) که با نتایج ما همخوانی دارد. همچنین گیاهان داتوره و گونه‌ای سلمه در برابر تنش فلز مس توانستند آنزیم‌های دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی تولید کنند (۶). پژوهش انجام شده توسط کیم و همکاران روی گیاه کاملیا نشان داد که این گیاه در برابر غلظت‌های بالای مس، موجب فعالیت بیشتر آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز شد (۲۶).

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش بیانگر این موضوع است که گیاه لاله‌عباسی توانایی مقاومت و تجمع غلظت‌های بالای فلزاتی نظیر سرب و مس را در اندام‌های مختلف خود دارد. تحمل زنده‌مانی بالای گیاه در این شرایط بدون آنکه علائم مسمومیت قابل توجهی نشان دهد و همچنین جذب قابل‌توجه مس و به‌ویژه سرب در اندام‌های خود به‌ویژه در ریشه، پتانسیل

این گیاه زینتی و سازگار با اقلیم ایران را برای به‌کارگیری در فضای سبز مناطق آلوده شهری، شهرک‌های صنعتی و مناطق مسکونی نزدیک معادن آشکار می‌سازد. با توجه به خصوصیات ویژه خاک‌های مناطق مرکزی و جنوب ایران که از نظر اسیدیته و وجود املاح شرایط خاصی دارند، نتایج این پژوهش به‌عنوان پیش‌زمینه‌ای برای پالایش فلزات سنگین توسط لاله‌عباسی می‌تواند در آزمایش‌های تکمیلی و به‌ویژه پژوهش‌های مرتبط با آب‌کشت به‌منظور تعیین دقیق‌تر آستانه تحمل این گیاه به دو عنصر مس و سرب استفاده شود.

منابع مورد استفاده

1. H. M. Sarcheshmehpour and V. R. Saffari. 2011. The possibility of using Helianthus annuus and Brassica oleracea for phytoremediation of soils contaminated by copper. *In:* Proceeding of the 5th National Conference and Exhibition of Environmental Engineering. Tehran, Iran. (In Farsi).
2. Alia , P. and J. Matysik. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology* 138: 554-558.
3. Ariyakanon, N. and B. Winaipanich. 2006. Phytoremediation of copper contaminated soil by *Brassica juncea* L. and Bidens alba L. DC. Var. Radiata. *Journal of Science Research Chulalongkorn University* 31(1): 49-56.
4. Azmat, R., S. Haider and M. Riaz. 2009. An inverse relation between Pb^{+2} and Ca^{+2} ions accumulation in Phaseolus mungo and Lens culinaris under Pb stress. *Pakistan Journal of Botany* 41(5): 2289-2295.
5. Bates, L. R., P. Waldern and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
6. Boojar, M. M. and F. Goodarzi. 2007. The copper tolerance strategies and the role of antioxidative enzymes in three plant species grown on copper mine. *Chemosphere* 67(11): 2138-2147.
7. Burns, R. G., S. Rogers and I. McGhee. 1996. Contaminants and the soil environment in the Australasia- Pacific region. pp. 361-410. *In:* R. Naidu, R. S. Kookana, D. P. Oliver, S. Rogers and M. J. McLaughlin (Eds.), Contaminants and the soil environment. Kluwer Academic Publishers, London.
8. Burzynski, M. 1987. The influence of lead calcium on absorption and reduction of K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} and Fe^{2+} in cucumber seedlings. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 53: 77-86.
9. Carucci, A., A. Cao, G. Fois and A. Muntoni. 2005. Phytoremediation of zinc and lead contaminated soils using Mirabilis jalapa. pp. 329-338. *In:* Calabrese, E.J., P.T. Kostecki and J. Dragun (Eds.), contaminated soils, sediments and water. Springer, Boston, MA.
10. Cho, U. H. and J. O. Park. 2000. Mercury- induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Science* 156: 1-9.
11. Costa, G. and L. Morel. 1994. Water relation gas exchange and amino acid content in cd-treated lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry* 32: 561-570.
12. Del-Rio, L. A., D. S. Lyon, I. Olah, B. Glick and M. Salin. 1983. Immunocytochemical evidence for a peroxisomal localization of manganese superoxide dismutase in leaf protoplasts from a higher plant. *Planta* 158: 216-224.
13. Drazkiewicz, M. 1994. Chlorophyll- occurrence, functions, mechanism of action effects of internal and external factors. *Photosynthetica* 30: 321-331.
14. Dubey, R. S. 1997. Photosynthesis in plants under stressfull conditions. pp. 859-876. *In:* Pessarakli, M. (Ed.), Hand Book of Photosynthesis. Dekker, New York.
15. Ducic, T. and A. Polle. 2005. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1): 103-112.
16. El-Tayeb, M. A., A. E. El-Enany and N. L. Ahmed. 2006. Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation* 50: 191-199.
17. Fuleky, G. and S. Barna. 2008. Biotesting of heavy metal pollution in the soil. *Journal of Earth and Environmental Sciences* 3(2): 93-102.
18. Garbisu, C. and I. Alkorta. 2001. Phytoextraction: acost- effective plant based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology* 779: 229- 236.
19. Garnczarska, M. and L. Ratajczak. 2000. Metabolic responses of Lemna minor to lead ions, II. Induction of antioxidant enzymes in roots. *Acta Physiologiae Plantarum* 22: 429-432.

20. Giannopolitis, C. N. and S. K. Reis. 1997. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
21. Hegedus, A., S. Erdel and G. Horvath. 2001. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barely seedling under lead stress. *Plant Science* 160: 1085-1093.
22. Jimenez, E., J. M. Penalosa, R. Manzano, R. Carpena, O. R. Gamarra and E. Esteban. 2009. Heavy metals distribution in soils surrounding an abandoned mine in NW Madrid (Spain) and their transference to wild flora. *Journal of Hazardous Materials* 162: 854-859.
23. Jorgge, L., R. Jose, H. Lu, A. S. Ellis and J. Sneddon. 2008. Screening the phytoremediation potential of native plants growing on mine tailings in Arizona, USA. *Environmental Science and Engineering* 8: 90-98.
24. Karataglis, S. and D. Babalonas. 1985. The toxic effects of copper on the growth of *Solanum lycopersicum* L. collected from Zn and Pb-soil. *Angewandte Botanik* 59: 45-52.
25. Khatun, S., M. B. Ali, E. J. Hahn and K. Y. Paek. 2008. Cooper toxicity in withania somnifera: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Environmental and Experimental Botany* 64: 279-285.
26. Kim, S. H. and I. S. Lee. 2005. Phytoremediation of Cu-contaminated soil and water by Commelina communis. *The Korean Journal of Ecology* 28(1): 7-13.
27. Klute, A. 1986. Method of Soil Analysis. Part1: Physical methods. pp. 432-449, American Society of Agronomy Soil Science Society of America.
28. Kochba, J., S. Lavee and S. P. Roy. 1977. Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and nonembryogenic Shamouti orange ovular callus lines. *Plant and Cell Physiolgy* 18: 463-467.
29. Li, T., E. Islam, X. Yang, D. Liu, X. Jin and F. Meng. 2007. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotype Elsholtzia argyi. *Journal of Hazardous Materials* 147: 806-816.
30. Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350- 382.
31. Liu, J. N., Q. X. Zhou, T. Sun, L. Ma and S. Wang. 2008. Growth responses of three ornamental plants to Cd and Cd-Pb stress and their metal accumulation Characteristics. *Journal of Hazardous Materials* 151: 261-267.
32. Liu, Z., W. Chen and X. He. 2011. Cadmium-induced changes in growth and antioxidative mechanisms of medicine plant (*Lonicera japonica* Thumb). *Journal of Medicinal Plants Research* 5(8): 1411-1417.
33. Mulligan, C. N., R. N. Young and B. F. Gibbs. 2001. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology* 60: 193–207.
34. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
35. Noorani Azad, H., M. R. Hajibagheri, F. Kafilzadeh and M. Najafian. 2011. The study of some of the physiological and biochemical characteristics of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to lead toxicity. *Journal of Plants and Ecosystems* 27: 63-74. (In Farsi).
36. Ortiz calderon, C., O. Alcaide and J. Likao. 2008. Copper distribution in leaves and roots of plants growing on copper mine- tailing storage facility in northern chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 81: 489-499.
37. Panou- Filotheou, H., A. M. Bosabalidis and S. Karataglis. 2001. Effect of copper toxicity on leaves of Oregano (*Origanum vulgare* subsp. Hirtum). *Annals of Botany* 88: 207-214.
38. Peer, W. A., I. R. Baxter and E. L. Richards. 2005. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. pp. 299-340. *In:* Klomp, L. W. J., E. Martinoia and M. J. Tamas (Eds.), Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification: from Microbes to Man. Topics in Current Genetics, New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
39. Peng, S., Q. Zhou, Z. Cai and Z. Zhang. 2009. Phytoremediation of petroleum contaminated soils by Mirabilis jalapa L. in greenhouse plots experiment. *Journal of Hazardous Materials* 168: 1490- 1496.
40. Ramezani, M. and S. Ghasemi. 2011. Investigation of lead phytoremediation in soil by corn (*Zea mays* L.). *In:* Proceeding of 1st National Conference on Phytoremediation. Kerman, Iran. (In Farsi).
41. Rothery, E. 1988. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizer. Mulgrave Victor, Varian Australia.
42. Shariat, A., M. H. Assareh and A. Ghamari-Zare. 2010. Effects of cadmium on some physiological characteristics of Eucalyptus occidentalis. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science* 14(53): 145-154. (In Farsi).

43. Sharma, P. R. and S. Dubey. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1): 35-52.
44. Shengoil, T., P. Shaolin, Z. Yugiongl, H. Jinlin and Z. Jiang. 2006. The effects of copper stresses on the growth and physiological characterics for Commelina communis. *Chinese Agricultural Science Bulletin* 9-19.
45. Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry* 195(1): 19-23.
46. Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
47. Verma, S. and R. S. Dubey. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia Plantarum* 44(1): 117–123.
48. Zhang, W. H. and S. D. Tyerman. 1999. Inhibition of water channels by $HgCl_2$ in intact Wheat root cells. *Plant Physiolgy* 120: 849-857.
49. Zheng, Y., L. Wang and A. D. Mike. 2004. Response to copper toxicity for three ornamental crops in solution culture. *HortScience* 93(5): 1116-1120.

Journal of Crop Production and Processing
Vol. 9, No. 3, Fall 2019, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Effect of Different Concentrations of Copper and Lead on Stomata Changes, Morphological and Biochemical Characteristics of Four O'Clock (*Mirabilis jalapa*)

M. Nadouki[1], V. R. Saffari[2*] and M. Sarcheshmeh Pour[3]

(Received: October 29-2015 ; Accepted: December 23-2018)

Abstract

In recent decades cultivation of plants as a tool to manage the polluted areas by heavy metals has received an increased attention. In order to evaluate the possibility of using Four o'clock plant as a phytoremediator in soils polluted by Cu and Pb, an experiment was conducted using four levels of Cu and Pb (0, 200, 400, and 800 mg/kg) concentrations, as a factorial experiment based on a completely random design in the Research Greenhouse of Shahid Bahonar University of Kerman, Iran. Results showed that pollution by each of these metals alters photosynthetic pigments concentration and morphological traits of plants. Stomatal characteristics were significantly decreased by these heavy metals. Significant increases were also found in concentration of reducing sugars and proline, Pb and Cu accumulation in stems and roots and also activities of antioxidative enzymes. High levels of metal accumulation were found in roots. Compared to the control condition, plants which were grown under the highest levels of pollutions accumulated 32 and 22 times more Cu and Pb, respectively, in root tissue and 6 and 3.6 times more in the shoot tissue. Superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase activities were also increased up to 2.7, 2.5 and 2.4 times in plants grown in the soil polluted with the highest level of both metals. Meanwhile, proline concentration increased 9 times in plants grown under the same conditions. These Results showed that this species can be used as a Cu and Pb tolerant ornamental plant in Cu and Pb polluted conditions.

Keywords: Enzyme, Heavy metals, Proline, Stress

1, 2. MSc. Student and Associate Professor, Respectively, Department of Horticultural Sciences, Factually of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Soil Science, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran.
*: Corresponding Author, Email: safariv@uk.ac.ir