اثر تیمار نیکل و سرب بر محتوای کلروفیل و تجمع این فلزات در گیاه یونجه (*Medicago sativa*)

فریبا امینی* و محمدرضا امیرجانی[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۸)

چکیده

با توجه به مسأله آلودگی ناشی از فلزات سنگین از جمله نیکل و سرب و خطرات ناشی از این آلودگی برای گیاهان و در نتیجه انسان‌ها پژوهش حاضر با هدف بررسی میزان انباشته‌سازی این دو فلز در این گیاه و اثر آنها بر فرآیند فتوسنتز از طریق بررسی تغییر محتوای کلروفیل انجام گردید. بذرگیاه یونجه رقم قره یونجه درون گلدان کشت گردید و گیاهان حاصل پس از ۲۱ روز با غلظت‌های ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی مولار کلرید نیکل و کلریدسرب تیمار گردیدند و سپس در دو مرحلهٔ ۲ و ۱۵ روز پس از تیمار میزان کلروفیل برگ‌ها و فلزات سنگین جذب شده در اندام هوایی و ریشه بررسی و مقایسه گردید. نتایج نشان داد که میزان کلروفیل کل در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میزان نیکل و سرب در گیاهان تیمار شده با فلزات سنگین نسبت به گیاهان شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته و این افزایش در بخش‌های هوایی نسبت به ریشه‌ها در هر دو تیمار و در غلظت‌های مختلف هر تیمار بیشتر بود. به نظر می‌رسد گیاه یونجه تا حدی به‌عنوان یک گیاه انباشتگر فلزات نیکل و سرب عمل می‌کند. این تجمع در بخش‌های هوایی از این جهت می‌تواند اهمیت داشته باشد که تغذیه دام‌ها از برگ این گیاهان در محیط‌های آلوده به این فلزات می‌تواند سلامت این دام‌ها و در نهایت انسان‌ها را تهدید کند.

واژه‌های کلیدی: انباشتگر، فتوسنتز، فلزات سنگین، یونجه

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: f-amini@araku.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]

مقدمه

در طی تکامل، موجودات زنده و محیط شیمیایی اطرافشان به‌طور پویا با هم برهمکنش داشته‌اند. فلزات سنگین نقش مهمی در آلودگی‌های محیطی که نتیجه فعالیت‌های انسانی مانند استخراج معادن، ذوب و آبکاری فلزات، انرژی و تولید سوخت، کشاورزی افراطی، زباله‌های لجن و عملیات نظامی دارند (۲۲). سطح فلزات سنگین بیوسفر به‌طور فزاینده‌ای از زمان شروع انقلاب صنعتی در حال افزایش است و سمیت فلزات سنگین و آلودگی‌های محیطی ناشی از آنها شامل آسیب به زمین‌های زراعی است (۱۰). این فلزات برای مصرف‌کنندگان اولیه وثانویه در نهایت انسان خطراتی را ایجاد می‌کنند (۳۷).

از فلزات سنگینی که سهم عمده در آلودگی‌های محیطی بر عهده دارند می‌توان از نیکل و سرب نام برد. گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که گیاهان می‌توانند فلزات سنگین نیکل و سرب را از محیط جذب کرده و در ریشه و اندام‌های هوایی تجمع دهند (۱۷، ۲۷، ۲۸، ۳۱). فلزات پس از ورود به گیاه می‌بایستی به‌طور فعال در سلول‌های ویژه و اجزاء سلولی به‌صورت بی اثر ذخیره شوند. این امر به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های اصلی مقاومت به فلزات سنگین در نظر گرفته می‌شود (۱۱). تجمع و دفع دو استراتژی اساسی در پاسخ گیاهان به افزایش غلظت فلزات سنگین هستند (۳۵). برخی مطالعات فقدان تخصص یافتگی در جذب فلزات را در گیاه یونجه نشان می‌دهد. این مسأله پدیده رایج در گونه‌های دیگر نیز هست (۲). هم‌چنین مشخص شده است گیاه یونجه توانایی رشد خوب در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بیش از ۵۰ppm را دارد (۲۶). بافت‌های گیاهی نقش مهمی در تعدیل سمیت فلزات سنگین از جمله سرب ایفاء می‌کنند. برگ‌های گیاهان تفاوت گسترده‌ای در توانایی تجمع سرب بسته به سن برگ دارند. حداکثر محتوای سرب در برگ‌های پیر و حداقل آن در برگ‌های جوان دیده می‌شود (۱۴). اینگل و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی گیاه *Alyssum lesbiacum* (بیش انباشتگر نیکل) پس از تیمار با نیکل عمدهٔ تغییراتی را که شامل پروتئین‌های واکنش به شوک حرارتی، تعدادی پروتئین‌های متابولیسم گوگرد که در بیوسنتز سیستئین و گلوتاتیون نقش دارند و یا پروتئین‌های مسئول محافظت در برابر گونه‌های فعال اکسیژن را عنوان نمودند (۱۳). هم‌چنین آنها بیان کردند که آنزیم مانوز-۶-فسفات دهیدروژناز که در بیوسنتز مانیتول نقش دارد نیز بر اثر تیمار نیکل افزایش پیدا می‌کند. در دیگر جنس‌های بیش انباشتگرهای نیکل، گلوتاتیون، از عوامل مهم مقابله با تنش اکسیداتیو، به‌طور دایم و زیاد نسبت به گیاهان غیر انباشتگر تولید می‌شود (۷).

از جمله فرآیندهایی که تحت تأثیر تنش ناشی از فلزات سنگین قرار می‌گیرد فتوسنتز و رنگیزه‌های فتوسنتزی است. فتوسنتز یکی از حساس‌ترین فرآیندهای متابولیکی نسبت به سمیت سرب است و مطالعات متعددی بازدارندگی فتوسنتز در گیاهان مختلف رشد یافته تحت تنش سرب را گزارش کرده‌اند. سرب کاهش فتوسنتز را ممکن است از طریق بازگشایی روزنه، آسیب به سازماندهی فراساختاری کلروپلاست، تغییر در متابولیت‌های فتوسنتزی، جایگزینی یون‌هایی مانند منیزیم و منگنز و غیره با سرب در کلروپلاست و ممانعت از ساختن یا تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی القاء کند. سمیت سرب هم‌چنین تنش اکسیداتیو را از طریق تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید القاء می‌کند (۳۰). به‌علاوه مشخص شده است که فرآیند فتوسنتز به‌طور منفی تحت تأثیر سرب قرار گرفته و همهٔ غلظت‌های سرب تثبیت کربن را کاهش می‌دهند (۳۴).در بررسی تنش غلظت‌های متفاوت از نیکل، سرب و روی در ذرت، فتوسنتز خالص کاهش یافته و میزان کاهش در غلظت‌های بالاتر و مدت زمان بیشتر تیمار، قابل ملاحظه تر بود (۱۲). مونی و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند میزان کلروفیل کل در برگ‌های گیاهان *Phaseolus vulgaris* که در تیمار با شکل معدنی نیکل رشد کرده بودند کاهش یافته است (۲۱). کاهش فتوسنتز در تیمار با شکل آلی نیکل در برگ‌های کلم نیز

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]

گزارش شده است (۲۰). هم‌چنین کاهش میزان کلروفیل با فلز سنگین دیگری مانند کادمیوم به‌وسیله پراساد و همکاران (۲۰۰۴) در *Riccia* sp گزارش گردیده است (۲۹). با توجه به مسأله آلودگی ناشی از فلزات سنگین از جمله نیکل و سرب و خطرات ناشی از این آلودگی برای گیاهان و در نتیجه انسان‌ها و از طرفی دیگر اهمیت گیاه یونجه به‌عنوان گیاه علوفه‌ای که غذای عمدهٔ دام‌ها را تشکیل می‌دهد، پژوهش حاضر با هدف بررسی میزان انباشته‌سازی این دو فلز در این گیاه و اثر آنها بر فرآیند فتوسنتز از طریق بررسی تغییر محتوای کلروفیل انجام گردید.

مواد و روش‌ها

ابتدا بذر گیاه یونجه (*Medicago sativa*) رقم قره یونجه در گلدان با نسبت ۱:۱ خاک به پرلیت کشت شد. خاک مورد استفاده ازخاک زراعی مخصوص کشت یونجه بود که از عمق ۱۰-۱۵ سانتی‌متری سطح زمین برداشته شد و پس از عبور از صافی به نسبت مساوی با پرلیت مخلوط گردید و به مقدار مساوی به گلدان‌های با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر منتقل گردیدند و با آب مقطرخیس شدند. سپس بذرهای رقم قره یونجه به تعداد ۱۰ بذر در هر گلدان با فواصل مساوی کشت گردیدند و گلدان‌ها با محلول هوگلند(جدول ۱) با غلظت یک دوم آبیاری گردیدند و در اتاقک رشد با فتوپریود ۱۶ساعت نورو۸ ساعت تاریکی، نور۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه منتقل گردیدند. دما در دوره‌های نور-تاریکی به‌ترتیب ۲۱-۱۸ درجه سانتی‌گراد بود. گلدان‌ها هر۳ روز یک‌بار با مقادیر مساوی از محلول هوگلند آبیاری شدند و به‌مدت ۲۱ روز و تا رسیدن به مرحله ۲-۳ برگی درهمین شرایط نگهداری گردیدند.(برای ساخت عناصرminor ابتدا باید $KH2Po_4$ را وزن نموده و داخل بالن ۱۰۰۰ ریخته و در کمی آب مقطر حل کرده و PH آن با KOH به ۶/۸ رسانده می‌شود سپس بقیه محلول‌ها را اضافه کرده و به حجم رسانده می‌گردد).

تیمار فلزات سنگین نیکل و سرب

تیمارگیاهان ۳ هفته‌ای درمرحله ۲-۳ برگی بدین صورت انجام گرفت که غلظت‌های۲، ۴، ۶، ۸ میلی‌مولار از هر یک از دو فلزنیکل وسرب به‌صورت ترکیبات $NiCl_2$ و $PbCl_2$ درمحلول هوگلند با یک دوم غلظت با pH ۶/۵-۷ تهیه گردیدند. برای جلوگیری از ایجاد رسوب، درهنگام تهیه محلول $PbCl_2$ به جای استفاده از KH_2PO4 در محلول هوگلند از KCl با غلظت مولار مساوی استفاده گردید. جهت آبیاری گیاهان با فلزات سنگین از زیرگلدانی‌های با ارتفاع ۵ سانتی‌متر استفاده گردید و برای جلوگیری از تجمع تراکمی فلزات در گیاه و جلوگیری از ایجاد خطا در آزمایش محلول‌های تیمار در زیرگلدانی‌ها ریخته شد. هر روز محلول‌ها بررسی و کمبود محلول‌های تیمار زیرگلدانی‌ها با آب مقطر جایگزین گردید. هر ۵ روز یک‌بار نیز محلول درون زیرگلدانی‌ها با محلول تیمار جدید تعویض گردید. برداشت گیاهان تیمار شده در دو مرحله و در روزهای دوم و پانزدهم تیمار انجام گرفت و مقدار کلروفیل کل توسط روش آرنون (۱۹۴۹) سنجش گردید (۱).

اندازه‌گیری غلظت عناصر

آماده‌سازی نمونه‌ها

برای اندازه‌گیری عناصر ریشه، ابتدا زدودن عناصر از سطح بر روی آنها انجام شد تا عناصر متصل به سطح ریشه کاملاً زدوده شود. برای این منظور ریشه‌ها بلافاصله پس از برداشت و جدا نمودن قطعات جامد متصل به آنها، به‌مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۵ میلی‌مولار $CaSO_4$ و یک میلی‌مولار MES-KOH با pH ۵/۷ که بر روی یخ سرد شده بود قرار گرفتند و هر چند دقیقه به آرامی به هم زده شدند. پس از آن ریشه‌ها با آب مقطر شسته شده و به‌مدت ۵ دقیقه در محلول دوم با ترکیب ۵ میلی‌مولار $CaSO_4$، ۱۰ میلی‌مولار Na_2EDTA ، pH 5.7 و یک میلی‌مولار MES-KOH با pH ۵/۷ که بر روی یخ سرد شده بود قرار داده شدند. پس از آن به‌مدت یک دقیقه در آب مقطر غوطه‌ور شدند. پس از برداشت و خشک کردن سطحی آنها توسط

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]

جدول ۱. روش تهیه یک لیتر محلول هوگلند

KNo_3	۲۰۲ g/L	۲/۵ mL
$Ca(NO_3)_2$	۲۳۶g/۰/۵L	۲/۵ mL
$MgSo_4.7H_2o$	۴۹۳ g/L	۱ mL
NH_4No_3	۸۰ g/L	۱ mL
Iron	۱/۵g /۱۰۰mL	۱/۵ mL
Minors:		
H3Bo3	۲/۸۶ g/L	
$MnCl_2.4H2o$	۱/۸۱ g/L	
$ZnSo_4.7H2o$	۰/۲۲ g/L	
$CuSo_4.7H2o$	۰/۰۷۹ g/L	۱/۵ mL
$H_3Moo_4.H2o$	۰/۰۹ g/L	
$No_2Moo_4.2H2o$	۰/۱۲ g/L	
(KH_2Po_4)	۱۳۶ g/L	

دستمال کاغذی، به‌مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و سپس برای اندازه‌گیری غلظت عناصر، هضم اسیدی شدند. در مورد بخش‌های هوایی نیز پس از برداشت، چند بار توسط آب مقطر دوبار تقطیر شستشو شده، خشک گردیده و مشابه ریشه‌ها خشک گردیدند و برای اندازه‌گیری غلظت عناصر در آنها هضم اسیدی شدند.

اندازه‌گیری غلظت عناصر

به نمونه‌های خشک شده پس از توزین، درون لوله‌های پلاستیکی یا لوله‌های شیشه‌ای شستشو شده با اسید کلریدریک ۳/۵٪ ، ۲ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۰٪ اضافه شد و به‌مدت ۱۲ ساعت در شرایط آزمایشگاه قرار داده شدند. سپس به‌مدت ۴-۳ ساعت در دمای ۹۰ درجه حرارت داده شدند تا کلیه بافت‌ها کاملاً متلاشی شوند. پس از سرد شدن به نمونه‌ها ۱ میلی‌لیتر H_2O_2 ۳۰ ٪ اضافه شد و مجدداً به‌مدت ۲۰ دقیقه یا تا زمانی‌که محلول کاملاً شفاف به‌دست آید در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در نهایت پس از سرد شدن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف شدند و با آب مقطر کاملاً خالص حجم نمونه‌ها به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. اندازه‌گیری غلظت عناصر در نمونه‌ها توسط دستگاه (Inductively ICP-(Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry AES (IRIS Advantage HX Duo, ThermoFisher, Dreieich, Germany) انجام شد.

آنالیزهای آماری

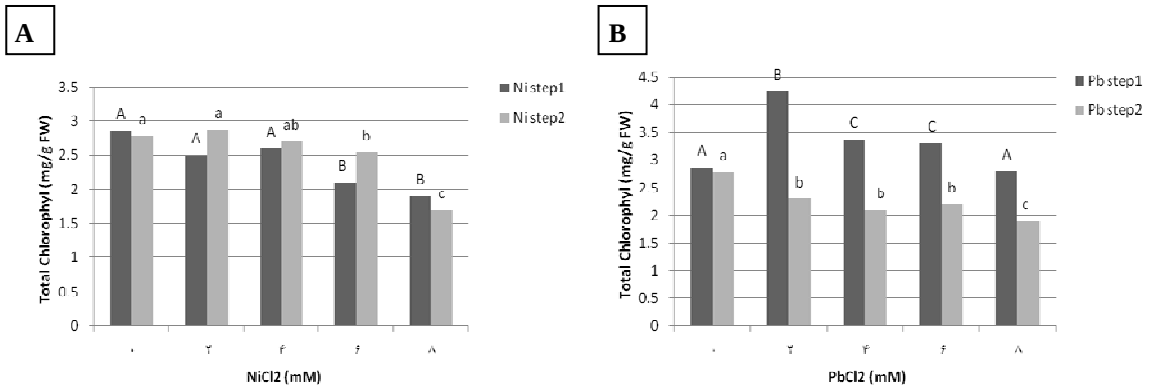
کلیه آزمایش‌ها براساس طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. جهت آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS۱۵، برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

همان‌گونه که شکل ۱، A نشان می‌دهد تیمار گیاه یونجه با فلز نیکل در روزهای دوم و پانزدهم تیمار منجر به کاهش محتوای کلروفیل این گیاه گردید. این کاهش در هر دو روز دوم و پانزدهم برای غلظت‌های ۲و ۴ میلی‌مولار نیکل معنی‌دار نبود اما در غلظت‌های ۶ و ۸ میلی‌مولار کاهش معنی‌دار نسبتاً یکسانی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]



شکل ۱. تأثیر غلظت‌های مختلف نیکل (A) و سرب (B) بر مقدار کلروفیل کل برگ گیاه یونجه پس از دو(Step1) و ۱۵ روز تیمار(Step2). مقادیر شامل میانگین سه تکرارست. حروف غیرمشترک بیانگر معنی‌دار بودن $P<0.05$ براساس تست دانکن می‌باشد.

نسبت به سایر تیمارها نشان داد. حداکثر کاهش درتیمار ۸ میلی‌مولار ملاحظه شد. در تیمار سرب تغییر محتوای کلروفیل در روزهای دوم و پانزدهم تیمار روند متفاوتی را نشان داد بدین صورت که تیمار ۸ میلی‌مولار سرب در روز دوم تغییر معنی‌داری در محتوای کلروفیل یونجه نسبت به تیمار صفر ایجاد نکرد اما در غلظت ۲، ۴ و ۶ میلی‌مولار منجر به افزایش کلروفیل گیاه یونجه گردید که بیشترین افزایش مربوط به تیمار ۲ میلی‌مولار بود. در حالی‌که در روز پانزدهم تیمار سرب محتوای کلروفیل کل را کاهش داد. این کاهش در غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ میلی‌مولار سرب نسبت به غلظت صفر نسبتاً یکسان بود و بیشترین کاهش در غلظت ۸ میلی‌مولار مشاهده گردید (شکل ۱، B).

تیمار گیاه یونجه با دو فلز سنگین نیکل و سرب منجر به افزایش غلظت این عناصر در ریشه و اندام هوایی گردید که این افزایش در اندام هوایی نسبت به ریشه بیشتر بود. تیمار نیکل در روز دوم در غلظت‌های ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار به‌ترتیب موجب یک روند افزایشی در غلظت نیکل در گیاه یونجه گردید اما غلظت ۲ میلی‌مولار اثر معنی‌داری در محتوای نیکل این گیاه در این مرحلهٔ تیمار نداشت. در ریشه در همین مرحله (روز دوم) غلظت‌های ۴ و ۶ میلی‌مولار نیکل افزایش نسبتاً یکسانی در غلظت نیکل ریشه ایجاد نمود اما همانند اندام هوایی در روز دوم حداکثر افزایش در غلظت ۸ میلی‌مولار مشاهده گردید. پس از ۱۵ روز، تیمار ۲و ۴ میلی‌مولار نیکل موجب افزایش نسبتاً یکسانی در غلظت این فلز در اندام هوایی گیاه یونجه گردید و این افزایش در غلظت ۶ میلی‌مولار بیشتر بود که نهایتاً حداکثر افزایش در غلظت ۸ میلی‌مولار دیده شد. تیمار نیکل در روز پانزدهم در غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ اثر تقریباً مشابهی در افزایش غلظت نیکل ریشه داشت و حداکثر افزایش مجددا در غلظت ۸ میلی‌مولار تیمار مشاهده گردید (شکل ۲). تیمار سرب در غلظت‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار در روزهای دوم و پانزدهم تیمار به‌ترتیب منجر به ایجاد یک روند افزایش در غلظت سرب اندام هوایی و ریشهٔ گیاه یونجه گردید بدین شکل که بیشترین افزایش مقدار سرب در این دو مرحلهٔ تیمار در غلظت ۸ میلی‌مولار تیمار سرب مشاهده گردید (شکل ۳).

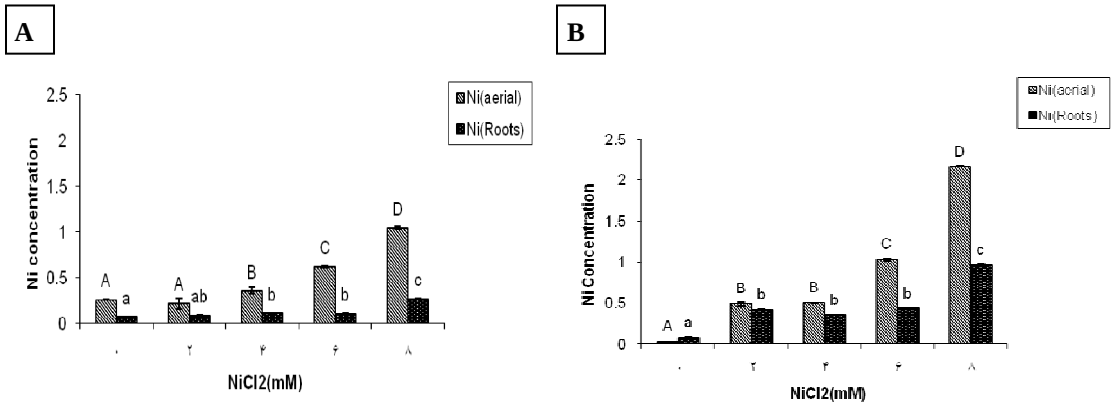
بحث

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که تیمار نیکل در روزهای دوم و پانزدهم و تیمار سرب در روز پانزدهم محتوای کلروفیل را کاهش داده است. این کاهش را می‌توان این‌گونه توضیح داد که فلزات سنگین فرآیندهای متابولیکی را از طریق ممانعت از عمل آنزیم‌ها کاهش می‌دهند. کاهش محتوای کلروفیل در اثر استرس ناشی از فلزات سنگین ممکن است

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]

نتیجهٔ ممانعت آنزیم‌های مسئول در بیوسنتز کلروفیل باشد (۳۸). هم‌چنین اثر سرب بر سنتز کلروفیل از طریق ممانعت از γ-آمینو



شکل ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف نیکل بر مقدار نیکل بخش هوایی و ریشه‌های گیاه یونجه پس از ۲(A) و ۱۵ روز تیمار(B). حروف غیرمشترک نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($P<0.05$) بین تیمارها در هر بخش گیاه براساس آزمون دانکن است. مقادیر شامل میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

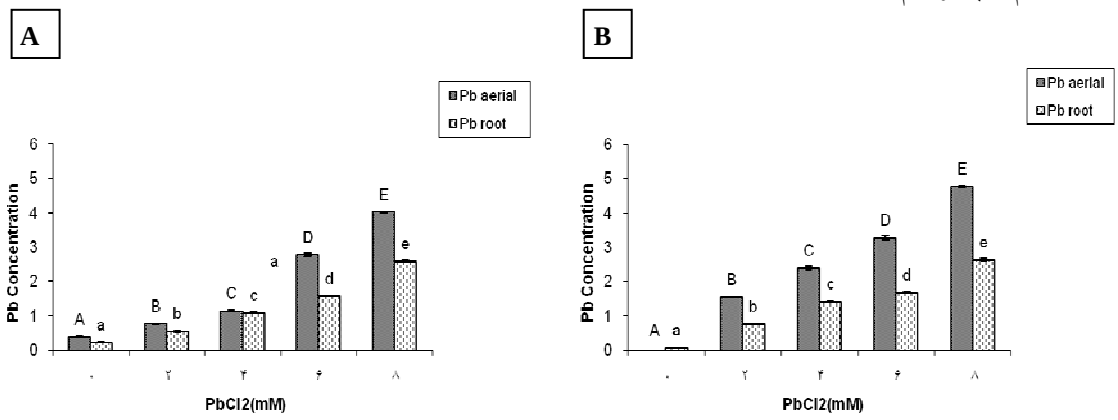
لوولینیک اسید دهیدراتاز است که این ممانعت فعالیت فتوسنتزی گیاهان را از طریق کاهش محتوای کلروفیل کاهش می‌دهد (۹). به‌علاوه غلظت بالای سرب سنتز کلروفیل را از طریق مختل کردن جذب دیگر یون‌های اساسی مانند منیزیم و آهن به‌وسیله گیاهان (۴) و یا با افزایش فعالیت کلروفیلاز (۵) کاهش می‌دهد. برخی دیگر از فلزات سنگین مانند کادمیوم از تشکیل کلروفیل از طریق تداخل با تولید پروتوکلروفیلید جلوگیری می‌کنند (۲۹). نشان داده شده است که گیاهانی که در معرض یون‌های سرب قرار داشته‌اند کاهش مقدار فتوسنتز در نتیجهٔ تغییر شکل کلروپلاست، جلوگیری از سنتز کلروفیل، ممانعت از انتقال الکترون، جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین به‌علاوه کمبود دی اکسیدکربن در نتیجه بسته شدن روزنه‌ها را نشان می‌دهند (۳۴).

سنگار و پاندی (۱۹۹۶) ادعا نمودند غلظت ۵۰ میلی‌مولار سرب درون برگ به اندازه‌ای کافی است که بتواند سنتز کلروفیل را ممانعت کند (۳۳). نتایج به‌دست آمده در این پژوهش با بسیاری از یافته‌ها در این مورد مشابه است. از جمله این‌که مشخص شده است محتوای کلروفیل کل گیاه لوبیا به‌طور پیش‌رونده‌ای با افزایش غلظت سرب، مس، کادمیوم و جیوه کاهش می‌یابد (۳۸). گیاهانی که در معرض سرب قرار گرفته‌اند کاهش کلروفیل و راندمان فتوسنتزی را از خود نشان داده‌اند (۱۲ ، ۱۶). هم‌چنین به‌کارگیری سرب موجب کاهش تثبیت کربن در تمامی غلظت‌های سرب گردیده است. افزایش محتوای کلروفیل در روز دوم تیمار با سرب مشابه نتایجی است که کامل (۲۰۰۸) با تیمار گیاه باقلا با سرب به‌دست آورده است. آنها دریافتند که سرب در مقادیر پایین محتوای کلروفیل را در دوره زمانی ۲۴ ساعت افزایش می‌دهد ولی غلظت‌های بالای آن سبب کاهش معنی‌دار کلروفیل در ۲۴ ساعت می‌شود (۱۷). نیترایی و همکاران (۲۰۰۳) نیز دریافتند که به‌کارگیری غلظت‌های پایین کادمیوم، سرب، نیکل و DCMU با یکدیگر در محلول غذایی و یا به‌صورت اسپری روی برگ‌ها سنتز کلروفیل را تسهیل می‌کند (۲۳). هم‌چنین به‌کارگیری سرب و کادمیم در دو واریتهٔ گندم کلروفیل کل را افزایش داد (۲۴). به‌علاوه ساروای و همکاران (۲۰۰۲) افزایش محتوای کلروفیل در مرکز فتوسیستمII و هم‌چنین کمپلکس پروتئین – کلروفیل b/a جمع‌کننده نور فتوسیستمII را در غلظت پایین تیمار سرب مشاهده نمودند (۳۲).

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]

افزایش غلظت نیکل و سرب ریشه و اندام هوایی گیاه یونجه در روزهای دوم و پانزدهم تیمار با مطالعات مشابه سازگار است. توانایی ریشه و ساقه‌های یونجه در تجمع یون



شکل ۳. تأثیر غلظت‌های مختلف سرب بر مقدارسرب بخش هوایی و ریشه‌های گیاه یونجه پس از ۲ (A) و ۱۵ روز تیمار(B). حروف غیرمشترک نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($P<0.05$) بین تیمارها در هر بخش گیاه براساس آزمون دانکن است. مقادیر شامل میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

نیکل از محلول‌های آبکی در بسیاری از گیاهان ثابت شده است (۸). به‌علاوه گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که گیاهان می‌توانند سرب را از محیط جذب کنند و آن را در ریشه انباشته سازند (۱۵). پرالتا و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند غلظت عناصر در بافت‌های گیاهی به‌وسیله غلظت فلزات سنگین در خاک و pH تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۲۷). هم‌چنین نشان دادند که گیاه یونجه قادر است نیکل را تا ۴۳۷ppm هنگامی‌که این فلز در غلظت ۵۰ ppm با فلزات کادمیوم، مس و روی در محیط مخلوط شده باشد در خود تجمع دهد. مالکووسکی و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که غلظت سرب در ریشهٔ جوانه‌های غلات با افزایش غلظت سرب در محلول افزایش می‌یابد (۱۹). بنابراین به نظر می‌رسد گیاه مورد پژوهش (یونجه) تا حدی به‌عنوان یک گیاه انباشتگر فلزات نیکل و سرب عمل می‌کند. برخلاف نتایج به‌دست آمده توسط کامل (۲۰۰۸) در گیاه باقلا که نشان داد که سرب بیشتر در قسمت‌های ریشه تجمع می‌یابد تا قسمت‌های هوایی (۱۷)، نتایج به‌دست آمده در این پژوهش مشخص کرد که گیاه یونجه تجمع فلزات سنگین نیکل و سرب را در بخش هوایی بیش از ریشه‌ها انجام داده است. غلظت زیاد فلزات در بخش‌های هوایی در مقایسه با ریشه‌ها نشان‌دهنده توانایی ویژهٔ گیاه در جذب از خاک و انتقال فلزات و ذخیره‌سازی آنها در بخش‌های هوایی است (۳۶).

توانایی بالای انتقال فلزات از ریشه به اندام‌های هوایی به احتمال زیاد به‌علت سیستم‌های انتقال فلزات کارآمد (۳۹) و احتمالاً توقف فلزات در واکوئل و آپوپلاست برگ است (۱۸). باید اضافه نمود که گیاهان ظرفیت بسیار بالایی در جذب فلزات به‌وسیله ریشه و جابجایی و ذخیره‌سازی آنها در اندام هوایی دارند (۲۵). جابجایی سرب از ریشه به اندام هوایی از طریق بارگیری در ریشهٔ زایلم و جابجایی به بخش‌های هوایی گیاه توسط جویبار تعرقی صورت می‌گیرد (۳). زلجاسکوو همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که در غلظت بالای سرب در محیط کشت، انتقال سرب از ریشه‌ها به اندام هوایی افزایش می‌یابد که این افزایش ممکن است به‌علت اختلال در غشای پلاسمایی در نتیجه غلظت‌های بالای سرب و کاهش در ممانعت از انتقال سرب از خاک به گیاه و درون

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]

گیاه باشد (۴۰). نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که غلظت بالای فلزات سنگین نیکل وسرب در محیط منجر به بالا رفتن غلظت این عناصر در بافت‌های گیاه یونجه و کاهش محتوای کلروفیل در این گیاه گردید. به نظر می‌رسد گیاه یونجه تا حدی به‌عنوان یک گیاه انباشتگر فلزات نیکل و سرب عمل می‌کند. این تجمع در بخش‌های هوایی از این جهت می‌تواند اهمیت داشته باشد که تغذیه دام‌ها از برگ این گیاهان در محیط‌های آلوده به این فلزات می‌تواند سلامت این دام‌ها و در نهایت انسان‌ها را تهدید کند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از حوزه معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه اراک که حمایت مالی و اجرایی این تحقیق را به عهده داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

1. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
2. Baker, A. J., Mcgrath, S. P., Reeves, R. D and Smith, A. J. C. 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. *In:* Terry, N., Ban˜ uelos, G. (Eds.), Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. Lewis Publishers, CRC Press LLC, Boca Raton Florida, pp. 85–108.
3. Briat, J. F. and Lebrun, M. 1999. Plant responses to metal toxicity. *Comptes Rendus Acad. Sci. Ser. IIISci*. 322: 43-54.
4. Bruzynski, M. 1987. The influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings. *Acta Physiologia Plantarum* 9: 229-238.
5. Drazkiewicz, M. 1994. Chlorophyll-occurrence, functions, mechanism of action, effects of internal and external factors. *Photosynthetica* 30: 321-331.
6. Ernst, W. H. O. Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic level, in: G. Schurman, B. Markert (Eds.). *Ecotoxicology Journal* Wiley & Sons, Inc. and Spectrum Akademischer Verlag, 1998, pp. 587–619.
7. Freeman, J. L., Persans, M. W., Nieman, K., Albrecht, C., Peer, W., Pickering, I. and Salt, D. E. 2004. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in Thlaspi nickel hyperaccumulators. *Plant Cell* 16: 2176-2191.
8. Gardea–Torresdey, J. L., Tiemann, K. J., Gonzales, J. H., Cano–Aguilera, I., Henning, J. A. and Townsend, M. S. 2000. Ability of *Medicago sativa* (alfalfa) to remove nickel ions from aqueous solution. *Proceedings of the 10 th Annual Conference on Hazardous Waste Research* 239-248.
9. Geebelen, W., Vangronsveld, J., Adriano, D. C., Van Poucke, L. C. and Clijsters, H., 2002. Effects of Pb-EDTA and EDTA on oxidative stress reactions and mineral uptake in *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum* 115: 377-384.
10. Gisbert, G., Ros, R., Haro, A. D, Walker, D. J., Bernal, M. P, Serrano R, et al. 2003. A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochemal Biophysics Commun* 303: 440– 445.
11. Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53: 1-11.
12. Heckathorn, S.A., J.K. Mueller, S. LaGuidice, Zhu, B., Barrett, T., Blair B. and Dong, A. 2004. Chloroplast small heat-shock proteins protect photosynthesis during heavy metal stress. *American Journal Botany* 91: 1312-1318.
13. Ingle, R. A., Smith, J. A. C. and Sweetlove, L. J. 2005. Responses to nickel in the proteome of the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*. BioMetals. 18: 627-641.
14. Islam, E., Liu, D., Li, T., Yang, X., Jin, X., Mahmood, Q., Tian, S. and Li, J. 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of Elsholtzia argyi. *Journal of Hazardous Materials* 154: 914–926.
15. Jarvis, M. D. and Leung, D. W. 2002. Chelated lead transport in *Pinus radiate*. An ultrastructural study. *Environmental Experimental Botany* 48: 21-32.
16. Kambhampati, M. S., Begonia, G. B. Begonia M. F. T and. Bufford, Y. 2005. Morphological and physiological responces of Morning glory (*Ipomoea lacunose* L.) grown in a lead- and chelate-amended soil. *International Journal of Environmental. Research Public Health* 2: 299-303.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]

17. Kamel, H. A. 2008. Lead Accumulation and its Effect on Photosynthesis and Free Amino Acids in *Vicia faba* Grown Hydroponically. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2(3): 438-446.
18. Lasta, M. M., Pence, N. S., Garvin, D. F., Ebbs, S. D. and Kochina, L. V. 2000. Molecular physiology of zinc transport in the Zn hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens Journal of Experimental Botany* 51: 71 –79.
19. Malkowski, E., Kita, A., Galas, W., Karcz, W. and Kuperberg, M. 2002. Lead distribution in corn seedling (*Zea mays* L.) and its effect on growth and the concentrations of potassium and calcium. *Plant and Soil* 37: 69-76.
20. Molas, J. 2002. Canges of chloroplast ultra structure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni (ll) complexes. *Environmental Experimental Botany* 47: 115-126.
21. Monni, S., Uhlig, C., Junttila, O., Hansen, E. and Hynynen, J. 2001. Chemical composition and ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to above ground element application. *Environmental Pollution* 112: 417–426.
22. Nedelkoska, T. V. and Doran, P. M. 2000. Characteristics of heavy metal uptake by plants species with potential for phytoremediation and phytomining. *Minerals Engineering* 13: 549–561.
23. Nyitrai, P., Bóka, K., Gáspár, L., Sárvári, E., Lenti, K and. Karesztes, A. 2003. Characterization of the stimulating effect of low-dose stressors in maize and bean seedlings. *Journal of Plant Physiology* 160: 1175-1183.
24. Oncel, I., Keles, Y. and Ustun, A. S. 2000. Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. *Environmental Pollution* 107: 315–320.
25. Ozturk, L., Karanlik, S., Ozkutlu, F., Cakmak, I. and Kochian, L. V. 2003. Shoot biomass and zinc/cadmium uptake for hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species in response to growth on a zinc-deficient calcareous soil. *Plant Science* 164:1095 – 1101
26. Peralta, J. R., Gomez, E., Gardea-Torresdey, J. L., Tiemann, K. J., Armenda´ riz, V., Herrera, I., Walton, J., Carrillo, G., Parsons, J. G., 2001b. Effect of metal concentration and soil pH upon heavy metal uptake and plant growth in alfalfa. Hazardous Substance Research Center 2001 Conference, Manhattan, Kansas (Abstract).
27. Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., Gomez, E., Tiemann, K. J., Parsons, J. G., Carrillo, G., 2002. Effect of mixed cadmium copper, nickel and zinc at different pHs upon alfalfa growth and heavy metal uptake. *Environmental Pollution* 119: 291–301.
28. Peralta-Videa, J. R., Rosa, G. D. L., Gonzalez, J. H. and Gardea-Torresdey, J. L. 2004. Effects of the growth stage on the heavy metal tolerance of alfalfa plants. *Advances in Environmental Research* 8: 679–685.
29. Prasad, S., Dwivedi, R., Zeeshan, M. and Singh, R. 2004. UV-B and cadmium induced changes in pigments, photosynthetic electron transport activity, antioxidant levels and antioxidative enzyme activities of *Riccia* sp, *Acta Physiology Plant* 26: 423-430.
30. Reddy, A. M., Kumar, S.G., Jyonthsnakumari, G., Thimmanaik, S. and Sudhakar, C. 2005. Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) and bengalgram (*Cicer arietinum* L.). *Chemosphere* 60: 97–104.
31. Ruley, A. T., Sharma, N. C., Sahi, S. V., Singh, S. R. and Sajwan, K. S. 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. *Environmental Pollution* 144: 11-18.
32. Sarvari, E., Gaspar, L., Fodor, L., Cseh, E., Kropfl, K., Varga, A. and Baron, M. 2002. Comparison of the effects of Pb treatment on thylakoide development in poplar and cucumber plants. *Acta Biological Szeged*. 46: 163-165.
33. Sengar, R.S. and. Pandy, M. 1996. Inhibition of chlorophyll biosynthesis by lead in greening *Pisum sativum* leaf segments. *Biologia Plantarum* 38: 459-462.
34. Sharma, P. and Dubey, R. S. 2005. Lead toxicity in plants, Brazilian *Journal of Plant Physiology* 17: 35–52.
35. Vogel-Mikusˇ K., Drobne, D. and Regvar, M. 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycres *Thlapi praecox* Wulf (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environmental Pollution* 133: 233–242.
36. Wei, C. Y., Chen, T. B. and Huang, Z. C. 2002. Cretan bake (*Pteris cretica* L): an Arsenic accumulating Plant. *Acta Ecol Sin*. 22: 777– 82.
37. Zeller, S. and Feller, U. 1999. Long-distance transport of cobalt and nickel in maturing wheat. *European Journal of Agronomy* .10: 91–98.
38. Zengin, F. K. and Munzuroglu, O. 2005. Effects of some heavy metaleson chlorophyll, proline and som antioxidant and chemicals in Bean (*Phaseolus vulgaris* L) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensla Series Botanica*. 47(2): 157–164.
39. Zhao, F. J., Hamon, R. E., Lombi, E., McLaughlin, M. J. and McGrath, S. P. 2002. Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany*.53: 535– 543.
40. Zheljazkov, V. D., Craker, L. E. and Xing, B. 2006. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. *Environmental and Experimental Botany*. 58: 9–16.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2]