

بررسی سمیت مس بر رشد و تحمل گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*) رقم های سان-۳۳

حمید نورانی آزاد^{۱*}، داریوش چوبینه^۲، محمدرضاحاجی باقری^۳، فرشید کفیل زاده^۴

۱. مربی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۲. مربی زیست شناسی سلولی، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۳. کارشناس ارشد باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، استهبان، ایران
۴. استادیار زیست شناسی دریا، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

محل انجام تحقیق: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی جهرم، ایران

*مسئول مکاتبات: حمید نورانی آزاد، جهرم، میدان شهید چمران، بلوار رضوان، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی، پست الکترونیکی: noorani@jia.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۱۳

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۲۴

چکیده

مس که یکی از عناصر کم مصرف ضروری برای رشد و نمو طبیعی گیاهان محسوب می شود، یکی از فلزات سنگین است که مقدار زیاد آن در اکثر گیاهان ایجاد مسمومیت می کند. در این تحقیق، اثرات سمیت مس بر رشد و تحمل گیاه آفتابگردان رقم های سان ۳۳ بررسی شد. آزمایش در شرایط هیدروپونیک انجام شد. تیمارهای صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس با چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۲۱ روز بر روی گیاهان اعمال گردید. تحت تنش سمیت مس، مقادیر وزن خشک اندام های هوایی و ریشه، کلروفیل های a و b و کارتنوئیدهای برگ، قندهای محلول و نشاسته در ریشه و اندام های هوایی، میزان مالون دی آلدئید و پراکسیداز برگ ها و تجمع مس در ریشه و اندام های هوایی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت مس، وزن خشک ریشه نسبت به شاهد، کاهش معنی دار یافت. کاهش وزن خشک اندام های هوایی در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد، معنی دار بود. کلروفیل a و b برگ ها به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار نسبت به شاهد، کاهش معنی دار داشت. کاهش کارتنوئید برگ ها در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار در معنی دار بود. قندهای محلول ریشه و اندام های هوایی نسبت به شاهد، افزایش معنی داری یافت. کاهش نشاسته در اندام های هوایی، متناسب با شدت تنش در محیط رشد، معنی دار بود. در حالی که کاهش آن در ریشه تنها در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار مس در مقایسه با شاهد، معنی دار بود. میزان مس در ریشه و اندام های هوایی با افزایش غلظت آن در محیط، افزایش معنی دار یافت و تجمع آن در ریشه، بیشتر از اندام های هوایی بود. افزایش مالون دی آلدئید برگ ها، همراه با افزایش مس، معنی دار بود. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ ها همراه با شدت تنش در محیط رشد به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار، نسبت به شاهد معنی دار بود. انباشتگی مس در ریشه ها، فعال شدن دفاع ضد اکسیدانی و افزایش قندهای محلول در اندام های گیاه می تواند از ساز و کارهای تحمل به سمیت مس باشد.

واژه های کلیدی: تحمل سمیت مس، کلروفیل، پراکسیداز، آفتابگردان

مقدمه

گیاه به دلیل سازگاری وسیع و دارا بودن بیشترین مقدار روغن دانه (۴۰ تا ۵۰ درصد) به عنوان مهم ترین

آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*) نقش مهمی در تامین روغن نباتی مورد نیاز کشور دارد. این

بیشتر از اندام‌های هوایی متاثر می‌سازد؛ زیرا بخش زیادی از آن در ساختار دیواره سلولی یا در فضای بین غشا و دیواره سلولی ریشه تجمع می‌یابد و ایجاد سمیت می‌کند. مکانیسم‌های تحمل سمیت مس در گیاهان عالی، شامل اجتناب از مس و یا محدود کردن جذب آن، غیرمتحرک کردن در دیواره سلولی و نگهداری آن در مکان‌هایی، از سلول به صورت ترکیبات پیچیده محلول است (۴). مطالعات فیزیولوژیک زیادی به منظور یافتن گونه‌های گیاهی با ویژگی تحمل و انباشته‌گری عناصر فلزی سنگین و بررسی ساز و کارهای فیزیولوژیک تحمل این عناصر انجام شده است (۹،۸). احتمال می‌رود در بین ارقام مختلف گیاهی، نمونه‌های جالب‌توجهی از پاسخ گیاهان و روش‌های فیزیولوژیک به کار رفته به عنصر مس یافت شود. از این رو، بررسی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و میزان تحمل ناشی از افزایش این فلز سنگین حایز اهمیت است. بدین ترتیب، مطالعه حاضر، با هدف اثر سمیت افزایش مس بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک، تغییر در میزان برخی ترکیبات شیمیایی و میزان تحمل یک رقم از گیاهک‌های آفتابگردان در محیط کشت هیدروپونیک و در شرایط اتاق رشد، انجام شده است.

مواد و روش‌ها

کشت دانه‌ها

بذرهای سالم گیاه آفتابگردان (*Helianthns annuus* L.) رقم‌های سان ۳۳ (Hisun-33) از موسسه کشت و توسعه دانه‌های روغنی سازمان تحقیقات کشاورزی فارس تهیه گردید و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم تجاری ۲۰ درصد، به مدت ۵ دقیقه به کمک آب مقطر سترون شستشو داده شد. بذرهای ضدعفونی شده جهت کشت جوانه‌زنی، به محیط کشت ماسه‌ای سترون به مدت یک هفته منتقل گردید. آبیاری آن‌ها به کمک آب مقطر انجام شد. از هفته دوم به بعد، آبیاری به کمک محلول غذایی هوگلند ۰/۵ درجه به مدت دو هفته صورت گرفت. پس از این مدت، گیاهک‌های مشابه و یکسان، از محیط ماسه، جدا و به ظروف دارای

محصول دانه روغنی مطرح است و کیفیت روغن دانه آن نیز بالاست (۱). فلزات سنگین، از جمله منابع آلاینده خاک هستند که در صورت تجمع در خاک و جذب به وسیله گیاه، به زنجیره غذایی وارد می‌شوند و مسمومیت‌هایی را در گیاهان و یا افراد تغذیه کننده از آن‌ها ایجاد می‌کنند (۲). مهم‌ترین منابع فلزات سنگین در خاک، سنگ‌های مادری یا رخنمون‌های سنگی مربوط به دوران‌های زمین‌شناسی است. از دیگر منابع آلودگی فلزات سنگین در خاک، فعالیت‌های صنعتی، مانند استخراج و تصفیه سنگ‌های معدنی، آبکاری فلزات، تولید سوخت و انرژی و کاربرد آفت‌کش‌ها و کودها است (۳). تعدادی از فلزات سنگین، از جمله مس برای رشد و نمو طبیعی گیاهان ضروری هستند. با این حال، غلظت بالای آن‌ها در خاک می‌تواند باعث ایجاد علائم سمیت و بازدارندگی رشد در گیاه گردد (۴). آثار سمی فلزات سنگین در گیاهان، ناشی از تولید انواع مختلف اکسیژن فعال، مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل است. این اشکال مختلف اکسیژن فعال معمولاً با ایجاد و آسیب‌های غشایی، فرایندهای مختلف سلولی را دچار اختلال می‌کنند (۵). مس فلزی است که در غلظت‌های بالا موجب بروز تنش اکسیداتیو می‌شود. یکی از علائم آثار سمی این فلز در گیاه، پراکسید شدن لیپیدهای غشایی است که موجب تغییر ساختار غشای سلولی و بازدارندگی رشد گیاه می‌شود. از نشانه‌های پراکسید شدن لیپیدهای غشایی، تشکیل مالون دی‌آلدهید (MDA) است که یکی از فرآورده‌های حاصل از تجزیه اسیدهای چرب اشباع شده است (۶). سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل تنش‌های اکسیداتیو، مجهز به یک سیستم جاروب کننده رادیکال‌های آزادند که این آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز، را شامل می‌شود (۷). گزارش شده است که سمیت مس، موجب بازدارندگی تعداد زیادی از آنزیم‌ها شده و در فرایندهای حیاتی گیاه، از جمله فتوسنتز، ساخت رنگیزه‌های گیاهی و تمامیت غشا مداخله می‌کند. علاوه بر این، سمیت مس، معمولاً رشد ریشه را

محلول غذایی هوگلند منتقل شد. در هر ظرف، یک لیتر محلول غذایی و ۶ گیاه قرار داده شد.

تیمارهای مس

تیمارهای مس در مقادیر صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار با افزودن سولفات مس به محلول غذایی هوگلند ۰/۵ درجه اعمال گردید. برای هر تیمار، چهار تکرار در نظر گرفته شد. pH محلول غذایی روی ۷/۵ تنظیم گردید. تمام مطالعات، در شرایط اتاق رشد با دمای روز/شب ۱۸/۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰-۶۵ درصد، دوره روشنایی و تاریکی ۱۸ و ۶ ساعت و شدت نور ۷۰۰۰ لوکس انجام شد. هوادهی گیاهک‌ها روزانه به مدت ۲ ساعت و تجدید محلول‌های غذایی، هفته‌ای دوبار صورت گرفت. تبخیر روزانه آب محیط با افزودن آب مقطر به محیط کشت جبران گردید. پس از گذشت ۳ هفته از اعمال دوره تنش، گیاهک‌های باقی‌مانده از محلول‌های غذایی خارج شد. ریشه و اندام‌های هوایی کلیه نمونه‌ها از یکدیگر جدا و با آب مقطر بدون یون شسته شدند. نمونه‌های مورد استفاده برای تعیین رشد گیاهی، در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیدند و وزن خشک آن‌ها به کمک ترازوی دیجیتال با دقت ± 0.001 گرم اندازه‌گیری شد و مواد تازه گیاهی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پس از قرار گرفتن در نیتروژن مایع در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA)

میزان پراکسیداسیون لیپیدها با تعیین مقدار مالون دی آلدئید به وسیله تست TBA و با استفاده از ضریب تصحیح $155 \text{ mM}^{-1} \text{ CM}^{-1}$ صورت گرفت (۱۰).

اندازه‌گیری قندهای محلول و نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه

میزان قندهای محلول و نشاسته، با استفاده از روش فنل اسیدسولفوریک (۱۱) اندازه‌گیری شد. در این روش، به ۰/۱ گرم از ماده خشک اندام‌های گیاهی

به‌طور جداگانه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد تا قندهای محلول آن آزاد شود. سپس از محلول رویی برای اندام‌های هوایی به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر و برای ریشه، یک میلی‌لیتر برداشته و با آب مقطر، حجم آنها به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از اضافه کردن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، میزان جذب به کمک اسپکتروفتومتر Shimadzu-uv-160A در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد و در پایان آزمایش، میزان قند نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد. برای اندازه‌گیری نشاسته، محلول اتانول محتوی نمونه‌های گیاهی که در آزمایش قبل استفاده شده بود، صاف و از رسوب خشک شده آن برای اندازه‌گیری نشاسته استفاده گردید. در پایان این آزمایش به روش فنل-اسیدسولفوریک در طول موج ۴۸۵ نانومتر مقدار جذب را خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد و معادله به دست آمده برای قندهای محلول، قندهای نامحلول آن اندازه‌گیری شد.

استخراج و سنجش آنزیمی

از بافت‌های تازه گیاه جهت استخراج آنزیم استفاده شد. بافت‌ها در هاون و با بافر پتاسیم فسفات $\text{Na}_2\text{EDTA } 0.1\text{mM}$ (pH7 100mM) ، 0.2mM اسکوربیک اسید و یک درصد پلی وینیل پلی پیرولیدون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد همگن گردید و سپس با سانتریفوژ مدل Hermle-Z200A-Germany در 12000 g به مدت یک ساعت سانتریفوژ شدند (۱۲). سنجش‌های آنزیمی در مایع رویی به کمک اسپکتروفتومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. مقدار پروتئین نمونه‌ها با روش براد فورد، (۱۳) اندازه‌گیری شد.

برای سنجش آنزیم پراکسیداز، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندازه‌گیری شد. محیط واکنش آنزیم، شامل بافر فسفات پتاسیم (50mM pH7) ، 0.1mM Na_2EDTA ، 5mM پراکسید هیدروژن و 30mM گایاکول بود. واکنش با اضافه کردن مقدار مناسب عصاره آنزیمی در حجم

تحلیل شد. نتایج داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS Ver.9 بررسی گردید.

نتایج

در گیاهک‌های تحت تیمار سولفات مس، علائم سمیت به صورت کلروز در برگ‌ها، به ویژه در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار دیده شد. وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاهک‌ها همراه با افزایش مقادیر مس در محیط رشد، کاهش معنی‌دار نشان داد. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، میانگین کاهش رشد در اندام‌های هوایی را در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میکرومول مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود. متوسط کاهش وزن خشک ریشه نیز بین شاهد و کلیه تیمارها معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). نتایج حاصل از اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی پس از اعمال تیمارهای مختلف مس، کاهش آن‌ها را نشان داد. بر اساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این کاهش در تیمارهای مختلف، معنی‌دار بود. آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که متوسط کاهش کلروفیل‌های a و b در برگ، به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار سولفات مس، در تیمارهای دیگر در مقایسه با شاهد، معنی‌دار است. کاهش کاروتنوئیدهای برگ در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). قندهای محلول ریشه و اندام‌های هوایی، همراه با افزایش میزان مس در محیط رشد، افزایش یافت. بر اساس تجزیه واریانس، این افزایش در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است. آزمون دانکن نشان داد که متوسط افزایش قندهای محلول اندام‌های گیاه بین شاهد و کلیه تیمارها در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است (جدول‌های ۱ و ۲). میزان نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه گیاهک‌ها، همراه با افزایش میزان سولفات مس، کاهش یافت. این کاهش براساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است. آزمون دانکن، کاهش نشاسته را در اندام‌های هوایی بین شاهد و کلیه تیمارها در سطح احتمال

نهایی سه میلی‌لیتر مخلوط آغاز گردید. افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد (۱۴).

سنجش میزان مس در اندام‌های هوایی و ریشه

برای سنجش میزان مس در برگ و ریشه، از روش جذب اتمی استفاده شد. مقدار ۰/۵ گرم از ماده خشک گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و به خوبی هضم شد. سپس محلول اسیدی گرم شد تا بخارات آن خارج شود. در مرحله بعد، حجم محلول به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و به کمک کاغذ صافی، صاف گردید. میزان مس محلول، به کمک دستگاه جذب اتمی واریان مدل spectr AA 220 اندازه‌گیری شد. جهت تعیین غلظت یون، محلول استاندارد، قبل از سنجش نمونه به دستگاه تزریق گردید و نمودار استاندارد آن رسم شد و غلظت مجهول محلول به کمک نرم‌افزار دستگاه Spectr AA تعیین شد (۱۵).

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، شامل کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها، از برگ‌های تازه گیاهک‌ها پس از اعمال دوره تنش، استفاده شد. محاسبه غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها به کمک روش لیچ تتالر (۱۶) صورت گرفت. در این روش، میزان جذب رنگیزه‌های فتوسنتزی در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر به کمک اسپکتروفوتومتر خوانده شد و به کمک معادلات لیچ تتالر (۱۶) که در زیر آمده است، اندازه‌گیری گردید:

$$\begin{aligned} \text{Chla} &= 12.21(A_{663}) - 2.81(A_{646}) \\ \text{Chlb} &= 20.13(A_{646}) - 5.03(A_{663}) \\ \text{Car.} &= (1000A_{470} - 3.27[\text{Chla}] - 104 [\text{Chlb}]) / 227 \end{aligned}$$

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها به کمک طرح آماری کاملا تصادفی و با استفاده از جدول تجزیه واریانس و آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، تجزیه و

یک درصد، معنی‌دار نشان داد. همچنین، کاهش نشاسته در ریشه‌ها در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). افزایش تجمع مس در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه‌ها همراه با افزایش غلظت مس در محیط، دیده شد و تجمع آن در ریشه‌ها بیشتر از اندام‌های هوایی گیاه بود. تجزیه واریانس، تجمع مس در اندام‌های هوایی و ریشه را در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار نشان داد. با آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، میانگین این افزایش در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی بین شاهد و تیمارهای دیگر، معنی‌دار است (جدول‌های ۱ و ۲). مالون دی‌آلدئید برگ‌ها همراه با افزایش تیمارهای مس، افزایش یافت. تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این افزایش را معنی‌دار نشان داد. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، متوسط این افزایش بین شاهد و تیمارهای دیگر، معنی‌دار است (جدول‌های ۱ و ۲). فعالیت پراکسیداز برگ‌ها، همراه با افزایش غلظت سولفات مس در محیط رشد، افزایش شدید یافت. بر اساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این افزایش معنی‌دار است. آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، متوسط افزایش فعالیت پراکسیداز برگ‌ها را بین شاهد و کلیه تیمارها، به‌جز در تیمار ۲۵ میکرومولار سولفات مس، معنی‌دار نشان داد (جدول‌های ۱ و ۲).

بحث

ساز و کارهای فیزیولوژیک تحمل سمیت عناصر فلزی در گیاهان، پیچیده است و به گونه گیاهی، نوع و غلظت عنصر و شرایط محیطی، مانند شدت نور و pH خاک بستگی دارد. با تعیین میزان تحمل یا حساسیت گونه‌های مختلف به غلظت مسموم‌کننده عنصر فلزی معینی در شرایط کنترل‌شده کشت، می‌توان پتانسیل‌های متفاوت گیاهان برای بردباری و تجمع مقادیر بالای فلزات سنگین را ارزیابی نمود (۸). نتایج این پژوهش نشان داد که آثار مسمومیت با مس، به‌صورت زردی در برگ‌ها و کاهش رشد به

ویژه در غلظت‌های بالاست. فلزات سنگین به روش‌های مختلف، مانع رشد گیاهان می‌شوند. این فلزات با کاهش تورژسانس سلولی، باعث کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلول می‌شوند و از سوی دیگر، با تجمع در دیواره سلولی و ورود به سیتوپلاسم، در سوخت و ساز طبیعی سلول ایجاد اختلال کرده، باعث کاهش رشد می‌شوند (۶). فلزات سنگین با القای تولید انواع مختلف اکسیژن واکنش‌گر، آسیب‌های شدید به سلول وارد می‌کنند (۱۷). مطالعه حاضر، تولید مالون دی‌آلدئید در برگ‌ها و افزایش آن همراه با افزایش غلظت مس در محیط کشت، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو ناشی از مس را در رقم مورد مطالعه تأیید می‌کند. نتایج مشابهی توسط محققین دیگر به دست آمده است (۱۸،۶). به نظر می‌رسد افزایش پراکسید هیدروژن در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین، با تحریک واکنش Haber-weiss و تولید OH^- ، موجب پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب‌های غشایی می‌گردد که در نهایت، منجر به کاهش رشد گیاه نیز می‌شود (۱۹). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ‌ها با افزایش غلظت مس در محیط رشد، کاهش می‌یابد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار مس، به‌خصوص در غلظت‌های بالای این فلز، می‌تواند نشان‌دهنده وسعت آسیب‌های اکسیداتیو باشد. این کاهش می‌تواند به‌دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه‌های دیگر باشد. فلزات سنگین با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین‌های کمپلکس LHClI در سطح رونویسی، روند تشکیل این کمپلکس را مختل می‌سازند (۲۰). میزان کاروتنوئیدها نیز بر اثر تنش مس، کاهش یافت. کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو القا شده دارند و به همین دلیل از بین می‌روند. این رنگیزه‌ها در سمیت‌زدایی کلروفیل نقش دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۲۱). در این مطالعه، افزایش قندهای محلول همراه با افزایش غلظت مس، در اندام‌های هوایی و ریشه مشاهده شد. افزایش قندهای محلول

پپیچیده داده و یا به اندام هوایی منتقل شود (۴). نشان داده شده است که مقدار بالای اسید مالیک در ریشه‌های گیاه گون می‌تواند عاملی برای تحمل ریشه این گیاه به مقادیر بالای مس باشد (۲۵). احتمال دارد یکی از دلایل تحمل نسبی گیاه مورد مطالعه نسبت به غلظت‌های مسموم‌کننده مس، ممانعت از انتقال این عنصر به اندام‌های هوایی و بخش‌های دیگر گیاه باشد. علاوه بر این، نشان‌دهنده نقش ریشه‌ها در نگهداری مس اضافی است. در این مطالعه، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ‌ها همراه با افزایش غلظت مس در محیط مشاهده شد. فلزاتی چون مس، روی و سرب، عامل اصلی تولید انواع اکسیژن فعال بوده و پیامد اصلی سمیت آن‌ها، تولید تنش‌های اکسایشی است. جهت جلوگیری از تجمع مواد سمی نظیر پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپراکسید، بافت‌های گیاهی با سنتز آنتی‌اکسیدان‌های دربردارنده مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، به مبارزه با آن‌ها می‌پردازند. در بین این آنزیم‌ها، پراکسیدازها با انتقال هیدروژن از یک دهنده آنتی‌اکسیدان به پراکسید هیدروژن، نقش عمده‌ای دارند (۲۶). افزایش فعالیت پراکسیداز در سلول ممکن است نقش کلیدی در مکانیسم دفاعی مربوط به سمیت فلزات داشته و به‌صورت بخشی از یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد در تنش‌های اکسیداتیو عمل کند (۷).

در گیاهان، در شرایط تنش ناشی از شوری، سرما، خشکی و فلزات سنگین، گزارش شده است (۲۲). تجمع قندهای محلول در شرایط تنش، به تنظیم اسمزی درون سلول کمک می‌کند و موجب حفظ و نگهداری مولکول‌های زیستی و غشاها می‌شود. همچنین، گیاه با افزایش قندهای محلول در شرایط تنش، علاوه بر حفظ پتانسیل اسمزی قادر خواهد بود تا ذخیره کربوهیدراتی خود را برای متابولیسم پایه سلولی در حد بهینه نگه دارد (۲۳). تجمع بیشتر قندهای محلول در ریشه‌ها می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت تنظیم اسمزی در مکان‌های جذب باشد. کاهش نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه در اثر تنش مس می‌تواند به دلیل تجزیه شدن آن به قندهای ساده‌تر و در نتیجه، تجمع قندهای محلول در سلول باشد. همچنین ممکن است تنش حاصل از مقدار زیاد فلزات سنگین، فعالیت آنزیم‌هایی را که در ساخته شدن نشاسته نقش دارند، مختل و از سنتز نشاسته، جلوگیری کند (۲۴). نتایج نشان داد مس در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه انباشته می‌شود که بخش زیادی از این تجمع، در ریشه‌هاست. انباشتگی مس در ریشه، یکی از ساز و کارهای تحمل برخی گونه‌ها محسوب می‌شود. در این گیاهان، بخش زیادی از مس جذب شده، متصل به دیواره سلولی باقی می‌ماند. گزارش شده است که ۹۰ درصد کل مس در ریشه‌ها، در ساختار دیواره سلولی، یا در فضای بین دیواره و غشا متمرکز شده و ایجاد سمیت می‌کند؛ بدون آن که با مواد آلی، تشکیل ترکیبات

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر صفات اندازه گیری شده.

میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک اندام‌های هوایی	وزن خشک ریشه	مالون دی آلدهید برگ	کلروفیل a برگ	کلروفیل b برگ	کارتونوئید برگ
تیمار	۴	۲۸/۲**	۱۲/۳۰**	۸/۸۳**	۵/۹۸**	۷/۱۳**	۴/۷۰**
خطا	۱۵	۳/۰۸	۱/۲۳	۰/۲۹	۰/۰۹۱	۰/۲۵	۰/۳۰
میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	قندهای محلول ریشه	قندهای محلول اندام‌های هوایی	نشاسته ریشه	نشاسته اندام‌های هوایی	مس ریشه	مس اندام‌های هوایی
تیمار	۴	۵۴/۷۱**	۳۲/۱۲**	۲۹/۹**	۲۱/۷**	۲۰۱۶/۹۰**	۷۳۸/۴۰**
خطا	۱۵	۲/۸۸	۱/۱۳	۰/۱۵	۰/۱۱	۲۷/۱۴	۱۲/۱۷

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۲- میانگین صفات اندازه گیری شده در تیمارهای مختلف مس.

۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	صفر (شاهد)	تیمارهای مس (میکرومول)	
					صفات اندازه گیری شده	
۱۳/۹b	۱۷/۹b	۲۱/۵a	۲۳/۷a	۲۴/۷a	وزن خشک اندام های هوایی (میلی گرم در بوته)	
۷/۷c	۸/۷bc	۹/۴b	۱۰/۳b	۱۲/۶ a	وزن خشک ریشه (میلی گرم در بوته)	
۳/۲۰c	۵/۶۳b	۵/۸۰b	۷/۳۰a	۷/۷۳a	کلروفیل a برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)	
۳/۰۱c	۳/۱۶c	۴/۵۶b	۵/۲۰ab	۵/۸۰a	کلروفیل b برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)	
۰/۲۱c	۰/۷۰b	۲/۲۳a	۲/۷۳a	۲/۸۶a	کارتنوئید برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)	
۶۹/۱۲e	۶۵/۶۹d	۴۱/۷۰c	۲۶/۸۰b	۵/۶۹a	قندهای محلول ریشه (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	
۱۲/۰۴d	۱۰/۳۰d	۸/۴۰c	۵/۳۶b	۴/۱۴a	قندهای محلول اندام های هوایی (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	
۲۴/۲۱e	۳۰/۹۴d	۴۴/۲۷c	۵۹/۱۷b	۶۶/۱۳a	نشاسته اندام های هوایی (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	
۱۸/۴۶c	۲۲/۵۰b	۳۸/۱۲a	۳۹/۱۷a	۴۰/۱۹a	نشاسته ریشه (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	
۱۴۸۸/۷e	۱۴۳۹/۱۰d	۱۰۲۴/۴c	۹۱۳/۱b	۸۵۲/۸a	مس در ریشه ها (میکروگرم در گرم وزن خشک)	
۱۱۷/۲۷c	۱۱۳/۷۲b	۱۰۸/۴۹b	۱۰۷/۱۵b	۸۳/۹۰a	مس در اندام های هوایی (میکروگرم در گرم وزن خشک)	
۲۵/۲۶e	۲۱/۱۳d	۱۶/۴۳c	۱۲/۹۲b	۷/۸۱a	مالون دی آلدهید برگ (نانومول بر گرم وزن تر)	
۴/۶d	۳/۷c	۲/۳b	۱/۲a	۰/۸a	پراکسیداز برگ ها (واحد میلی گرم پروتئین)	

اعداد دارای حروف غیر مشابه هر ردیف، در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.

نتیجه گیری

قندهای محلول در اندام های هوایی، به ویژه در ریشه ها نشان دهنده سازش گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. همچنین کاهش رنگیزه های فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ ها نشان از آثار سمیت مس و تولید رادیکال های آزاد دارد که آسیب های اکسیداتیو و کاهش رشد را موجب می شود.

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، تنش ناشی از افزایش مس در محیط رشد، باعث بروز تنش اکسیداتیو، پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی و تغییر در ساختار غشای سلول ها و در نتیجه، بازدارندگی رشد گیاه می شود. علاوه بر این، با توجه به مقادیر مس جذب شده و تجمع آن در ریشه ها به نظر می رسد که رقم مورد مطالعه، گیاهی با تحمل نسبی در مقابل تنش ناشی از افزایش این فلز باشد. افزایش

منابع مورد استفاده

- Scheiner, J. D., Lavado, R.S., 2002. Sunflower nitrogen requirement and N fertilizer recovery in Western pampas , Argentinian. *Eur J Agron* 17: 73-79.
- Antoniadis, N., Alloway, B. J., 2001. Availability of Cd, Ni, Hg and Zn to rye grass in sewage sludge treated soils at different temperatures. *Water, Air and Soil Pollut* 132: 201-204.
- Raven, K. P., Loeppert, R. H., 1997. Trace element composition of fertilizers and soil amendments. *J Environ Qual* 26: 551-557.
- Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2 nd edition, Academic press.
- Pereira, J. G., Molina, S. M., Azevedo, R. A., 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to Cd in *crotalaria juncea*. *Plant and Soil* 239: 123-132.
- Molassiotis, A., Tanoug, G., Patakas, A., 2005. Effects of 4-month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. *J Plant Nutrition* 25: 843-860.
- Cho, V. H., Park, J. O., 2000. Mercury-induced oxidative stress in tomato seeding. *Plant Science* 126: 1-9.
- Lasat, M. M., Baker, A. J. M., 1996. Physiological characterization of roots

- Zn²⁺ absorption and translocation to shoot in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. *Plant Physiol* 112: 1715-1722.
9. Tolra, R. P., Poschenrieder, C. Barcelo, J., 1996. Zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. II. Influence on organic acids. *J Plant Nutr* 19: 1541-1550.
 10. Chaparzadeh, N., Amico, M. L. D., Khavari-nejad, R. A., 2004. Antioxidative responses of calendula officinalis under salinity conditions. *Plant physiology and Biochemistry* 42: 695-701.
 11. Kochert, G., 1978. Carbohydrate determination by the sulfuric acid method. In: L. Helebust, J. A., Craigie, J. S. (ed): *Hand book of physiological methods*. PP. 96-97. Cambridge Univ. press, Cambridge.
 12. Kang, G., Wang, G., Sun, G., 2003. Salicylic acid changes activities of H₂O₂ metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Envi Exp Bot* 50: 9-15.
 13. Bradford, M. M., 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
 14. Fielding, J. L., Hall, J., 1978. A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in roots of *Pisum sativum*. *J Experimental Bot* 29: 981-989.
 15. Woodies, T. C., Hunter, G. B., Johnson, F., 1977. Statistical studies of matrix effects on the determination of Cu and Pb in fertilizer and material and plant tissue by flame atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry Acta* 90: 127-136.
 16. Lichtenthaler, H. K., Welburn, W. R., 1994. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem Soc Tran* 11: 591-592.
 17. Madhava Rao, K. V., Sresty, T. V. S., 2000. Antioxidative parameters in the pigeon pea in response to Zn and Ni stresses. *Plant Science* 157: 113-128.
 18. Laspina, N. V., Groppa, M. D., 2003. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science* 238: 116-126.
 19. Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Trends Plant Science* 7: 405-410.
 20. Tziveleka, L., Kaldis A., 1999. The effect of Cd on chlorophyll and light harvesting complex II biosynthesis in greening plant. *Nature Forsch* 54: 740-745.
 21. Sanitata, L. Gabriella, R., 1999. Response to Cd in higher plants—Review *Envi Exp Bot* 45: 105-130.
 22. Dubey, R. S., 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. In: pesarakli, M. (ed) *Hard book of photosynthesis*. Dekker, NewYork, PP. 859-876.
 23. Dubey, R. S., Singh, A. K., 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugars metabolizing enzyme in rice plants. *Biol Plant* 42: 233-239.
 24. Badr, A., Patricia, G. M., 2003. Effect of Cu on growth in Cucumber plants and its relationship with carbohydrate accumulation and change in ion contents. *Plant Science* 166: 1213-1218.
 25. Van Assche, F. V., Clijsters H., 1994. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environment* 13: 195-206.

گونه‌های انباشته‌گر این عناصر، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز.

۲۶. مظفری بازرگان، ع. ۱۳۸۳. جداسازی و شناسایی عوامل همبند کننده عناصر سنگین در تعدادی از