



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی"

دوره دوم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۹۴

<http://arpe.gonbad.ac.ir>

اثر نیکل بر شاخص‌های رشد، محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، قندهای محلول،

پرولین و میزان انباشتگی نیکل در گیاه گشنیز

مژگان تقریبیان^۱، وحید پوزش^{۲*}، مهدی خورشیدی^۳

^{۱،۲،۳}گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه دامغان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۳۰

چکیده

وجود فلزات سنگین هم‌چون نیکل، آرسنیک و آلومینیوم یکی از مهم‌ترین عوامل بروز تنش‌های محیطی محسوب می‌شوند. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر فلز سنگین نیکل (نیترات نیکل) بر روی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و رشدی گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) بود. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار، شامل چهار سطح موجودی فلز نیکل در محلول غذایی هوگلند (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ میکرومولار) بود. پس از گذشت دو هفته از اعمال تیمار، گیاهان برای انجام آزمایش‌های لازم برداشت شدند. نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد که، با افزایش غلظت نیکل، وزن خشک ریشه و بخش هوایی، طول ریشه اصلی و ارتفاع بخش هوایی کاهش یافت. نتایج مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی حاکی از کاهش مقدار کلروفیل a و b، پروتئین و افزایش میزان قندهای محلول، آنتوسیانین، پرولین، ترکیبات کاروتنوئیدی به‌طور معنی‌دار بود. بررسی اثرات کاربرد فلز نیکل بر سطح انباشتگی آن در اندام‌های مختلف گیاه نشان از افزایش سطح آن در هر دو اندام ریشه و بخش هوایی گیاه داشت؛ به‌طوری‌که ریشه‌ها مقادیر بیشتری از نیکل را نسبت به اندام‌های هوایی انباشته کردند. نتایج گویای این مطلب است که، انباشتگی نیکل در ریشه بیشتر از بخش هوایی می‌باشد (نسبت انتقال کمتر از ۱) و بنابراین نمی‌تواند به‌عنوان یک گیاه ذخیره‌کننده مطرح گردد.

واژه‌های کلیدی: گشنیز، تنش محیطی، فلز سنگین، نیترات نیکل

*نویسنده مسئول: poosesh@du.ac.ir

مقدمه

امروزه در نتیجه فعالیت‌های بشر هم‌چون مصرف کودهای شیمیایی و سوخت‌های فسیلی، تولید فاضلاب و پسماندهای تصفیه خانه‌ها مشکلات بسیار زیاد زیست محیطی بروز نموده است که تاثیرات زیادی بر عملکرد گیاهان داشته است (Prasad, 2004). همچنین، تنش‌های محیطی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای کاهش دهنده‌ی عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند (Upendra and Bandyopadhyay, 2006). وجود فلزات سنگین، با مقادیر مختلف در پوسته زمین، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل بروز تنش‌های محیطی می‌تواند منجر به بروز تغییرات رشدی در گیاه شده، سبب تولید انواع اکسیژن‌های واکنش‌گر شوند. این فلزات به وسیله گیاهان جذب و به اندام هوایی منتقل می‌شوند که این امر می‌تواند منجر به اختلال در متابولیسم و کاهش رشد شود (Smialowicz *et al.*, 1988).

از جمله فلزات سنگینی که به‌عنوان آلاینده‌های مهم مطرح هستند می‌توان از سرب، کادمیوم، کروم، مس، جیوه، نیکل، روی و آرسنیک نام برد (Prasad and Strzaka, 2002; Kabata-Pendias, 2001 and Pendias, 2001). در این میان نیکل از جمله عناصر طبیعی هست که به فرم‌های مختلف در محیط‌های آبی، خاکی و همچنین در پیکره گیاهان و جانوران وجود دارد. نیکل از جمله فلزات سمی هست که با افزایش آلودگی‌های زیست محیطی، ورود آن‌ها به زنجیره غذایی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Nikel and Cempel, 2006). غلظت بالای نیکل به‌عنوان عاملی تنش‌زا برای گیاهان به‌شمار می‌رود که می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدود کننده‌ی رشد، ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تاثیر قرار دهد (Smialowicz *et al.*, 1984; Baycu *et al.*, 2006).

مقدار نیکل در خاک‌ها بین ۵ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و به‌طور متوسط ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است. نیکل مانند فلزات دو ظرفیتی، جذب سطحی کانی‌های رسی شده و با کاتیون‌های کلسیم، منیزیم، آهن و روی رقابت می‌کند، لذا میزان زیاد نیکل در محیط ریشه خاک‌های آلوده، ممکن است به کمبود آهن و روی در گیاه منجر شود (Brooks, 1998). یون نیکل دو ظرفیتی با غلظت‌های مختلف در فاضلاب خام صنایع مانند آب‌کاری و فلزات غیرآهنی یافت می‌شود. براساس استاندارد مقررات زیست محیطی ایران حداکثر غلظت قابل قبول برای فلز نیکل در پساب خروجی صنایع ۲ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (Mirbagheri *et al.*, 2010).

گشنیز با نام علمی *Coriandrum sativum* L. گیاهی است علفی و یک‌ساله با ارتفاع بین ۲۰ تا ۱۴۰ سانتی‌متر از خانواده چتریان که منشا اصلی آن نواحی جنوب غربی آسیا بوده و امروزه در نواحی مختلف آسیا، اروپا و حتی آمریکا نیز کشت می‌شود (Singh *et al.*, 2003; Ramadan and Morsel, 2002). دانه گشنیز بوی مطبوعی دارد که ناشی از اسانس آن می‌باشد. امروزه در صنایع

داروسازی از مواد موثره آن، برای مداوای دل درد و نفخ شکم استفاده می‌شود (Carrubba et al., 2002). پژوهش‌های متعددی در رابطه با انباشتگی غلظت‌های مختلف فلزات سنگین در گیاه گشنیز انجام گرفته است (Jassir et al., 2005; Sinha et al., 2006). گیاه گشنیز برای بیشتر فلزات سنگین به‌عنوان یک گیاهی با توان انباشت‌گری متوسط مطرح شده است (Angelova et al., 2005). با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، اطلاعاتی در رابطه با واکنش گیاه گشنیز به آلودگی فلز سنگین نیکل بدست نیامد.

با توجه به این‌که مطالعه مکانیسم‌های رشد و نمو و همچنین تعیین آستانه تحمل گیاهان در واکنش به تنش فلز نیکل می‌تواند در یافتن گیاهان مناسب برای پالایش مناطق آلوده بسیار مفید باشد و درک صحیحی از مقاومت گیاه به تنش نیکل فراهم نماید، هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف فلز نیکل بر تغییرات صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گشنیز تحت شرایط کنترل شده تعیین شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه دامغان (دوره نوری شامل ۱۴ ساعت روز و ۱۰ ساعت شب؛ دمای هوا در طول روز 28 ± 3 و در طول شب 20 ± 3 درجه سانتی گراد) در سال ۱۳۹۲ اجرا گردید. بذره‌های گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. ابتدا بذره‌های سالم به‌وسیله محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد و محلول بنومیل یک در هزار ضدعفونی گردید. همچنین کلیه وسایل از جمله پتری دیش‌ها و کاغذ صافی در اتوکلاو استریل شدند. برای تهیه تیمارهای عنصر نیکل از نمک نیترات نیکل (NiNO_3) استفاده و بر اساس غلظت‌های زیر تهیه گردید (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار نیکل). برای کاشت بذر از سینی نشا استفاده شد. پس از جوانه‌زنی بذرها، گیاهچه‌های یکنواخت و با رشد مناسب (در مرحله‌ی ۴ تا ۵ برگ) برای انتقال به محیط هیدروپونیک حاوی محلول غذایی نیم هوگلند انتخاب شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت و سازگاری گیاهچه‌ها با شرایط هیدروپونیک، تیمارهای مورد نظر اعمال شدند. تهویه‌دهی محیط رشد به کمک پمپ هوا صورت می‌گرفت. پس از گذشت ۲ هفته از اعمال تیمارها، گیاهان از محلول غذایی خارج شده و برای انجام سنجش‌های مورد نیاز، به آزمایشگاه منتقل شدند. به‌منظور تعیین وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه، نمونه‌های مورد نظر در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفته، سپس نمونه‌ها با ترازوی دیجیتالی (۴ صفر) اندازه‌گیری شدند.

برای سنجش کلروفیل از روش لیچتن‌تالر (Lichtenthaler, 1987) استفاده شد. ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد و به مدت ۵ دقیقه با ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و سپس جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV.2100.PC) به ترتیب در طول موج‌های ۶۴۶، ۶۶۳، ۴۷۰ نانومتر خوانده شد.

از روش واگنر (Wagner, 1979) جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های برگ استفاده شد. بدین‌منظور ۰/۱ گرم از بافت برگ‌ی را در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً سائیده و عصاره به لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت، سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول (قسمت شفاف روی محلول) در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای سنجش پروتئین ابتدا پروتئین‌ها نمونه‌های گیاهی در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد استخراج شدند. به این منظور نیم گرم بافت تر اندام هوایی در یک هاون چینی محتوی سه میلی‌لیتر بافر فسفات با $\text{pH}=7/5$ به‌طور کامل سائیده شد. محلول همگن به‌دست آمده را به دو قسمت کرده و درون دو سری میکروتیوپ ریخته و درون سانتریفوژ یخچال‌دار به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس به لوله‌های آزمایش مقدار یک دهم میلی‌لیتر عصاره پروتئینی و سه میلی‌لیتر معرف برادفورد افزوده و سریعاً ورتکس شد. مقدار جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV.2100.PC) در طول موج ۵۹ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1975).

در سنجش قند میزان قندهای محلول به روش فنل سولفوریک و براساس هیدرولیز اسیدی قندهای محلول و ایجاد ترکیب فورفورال که با فنل تولید یک کمپلکس رنگی می‌کند اندازه‌گیری شد (Somogy, 1952). ۰/۲ گرم از بافت تر گیاه را به همراه ۵ میلی‌لیتر آب مقطر درون هاون چینی سائیده و سپس درون سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه، قرار داده، سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و به آن نیم میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۱/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه کرده و پس از ورتکس کردن و گذشت یک ساعت، مقدار جذب نمونه، در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد (Bradford, 1976; Zadeh et al., 2008). اندازه‌گیری پرولین به روش باتس و وندرلیچ (Bates and Wunderlich, 1973) انجام شد. ۰/۰۲ گرم از بافت تازه را در سه میلی‌لیتر محلول سه درصد اسید سولفوسالسیلیک منوهیدرات سائیده و مخلوط یکنواختی تهیه گردید. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از مایع رویی را با یک میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک خالص گلاسیال مخلوط کرده و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار دادیم. بعد از این مدت

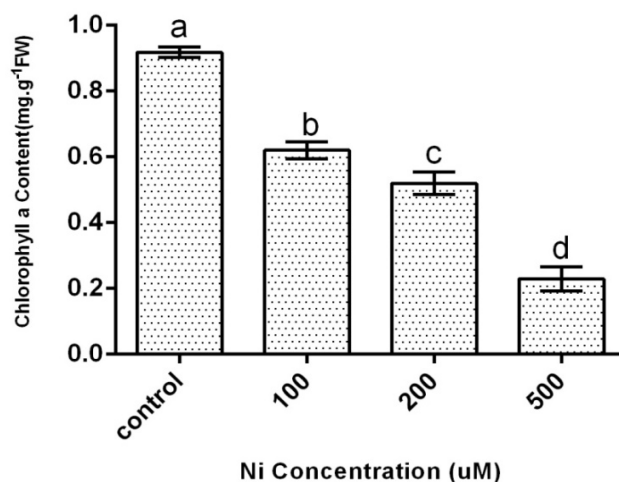
جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوای مخلوط در حمام یخ، سرد گردید و سپس جذب محلول را در ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Bathes and Wunderlich, 1973).

برای اندازه‌گیری مقدار نیکل موجود در بخش هوایی و ریشه گیاه، از پودر خشک گیاهی خاکستر تر تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. در این مرحله ۰/۵ گرم از بافت خشک برگ را جدا نموده با ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک (HNO_3) غلیظ مخلوط کرده آن‌گاه درب ظرف‌ها را گذاشته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم، سپس در زیر هود روی هیت‌ر با دمای ملایم ظرف‌ها را بدون درب قرار داده تا زمانی که ۲ میلی لیتر از محلول مورد نظر باقی‌ماند سپس ۲ میلی لیتر محلول را با ۲۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده و از کاغذ صافی عبور داده و با استوانه مدرج حجم آن را با آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر می‌رسانیم. نیکل موجود در خاکستر تر گیاه به وسیله اسپکتروفتومتر جذب اتمی اندازه‌گیری شدند (Gupta, 1999). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad 6 انجام شد. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

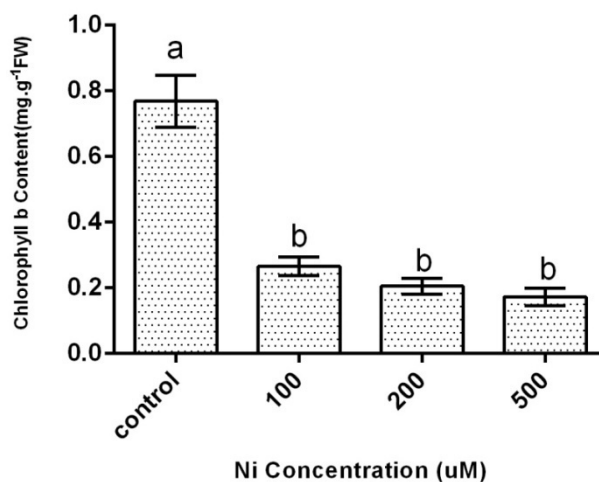
نتایج و بحث

اثر نیکل بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه و واریانس نشان داد که با افزایش غلظت نیکل مقدار کلروفیل a و b به‌طور معنی‌داری (سطح احتمال ۵ درصد) کاهش یافته است (شکل‌های ۱ و ۲). به‌طوری‌که بیشترین مقدار کلروفیل‌ها در تیمار شاهد و کمترین مقدار در غلظت ۵۰۰ میکرومولار نیکل مشاهده شد. کاهش مقدار کلروفیل b در گیاهان تحت تیمار نیکل نسبت به گروه شاهد معنی‌دار، ولی تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای مختلف نیکل مشاهده نشد. کاهش مقدار کلروفیل a و b بیانگر افزایش میزان تنش‌های اکسیداتیو است، لذا می‌تواند ناشی از پراکسیداسیون غشای کلروپلاست‌ها توسط فلزات سنگین باشد (Prasad *et al.*, 2001). همچنین فلزات سنگین با جلوگیری از جذب عناصر ضروری مثل منیزیم و آهن می‌توانند از سنتز کلروفیل جلوگیری کنند. از طرف دیگر فلزات سنگین می‌توانند در مراحل مختلف سنتز کلروفیل اختلال ایجاد نمایند که نتیجه آن کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تنش است (Prasad and Freitas, 2003). همچنین، بیش بود فلزات سنگین با ایجاد محدودیت در لیگاندهای پروتئینی N-S- سبب تخریب دستگاه فتوسنتز می‌شوند، بنابراین فعالیت کلروفیل‌از افزایش و منجر به تخریب کلروفیل می‌شود (Sharma and Dubey, 2005). در بررسی اثر کلرید نیکل و سولفات کادمیوم بر وضعیت کلروفیل گیاهان آبی گونه‌هایی نظیر *Lemna trisulca* و *Ceratophyllum demersum*، مشاهده شد که به‌دلیل جایگزینی این عناصر

سنگین با منیزیوم موجود در حلقه پورفیرینی مقدار کلروفیل کاهش می‌یابد (Kupper *et al.*, 1996). فلزات سنگین سبب مهار فعالیت آنزیم ۵ آمینولووینیک اسید هیدراتاز شده که کاهش تجمع کلروفیل به دنبال دارد (Prasad and Freitas, 2003; Ouzoundi *et al.*, 1995).

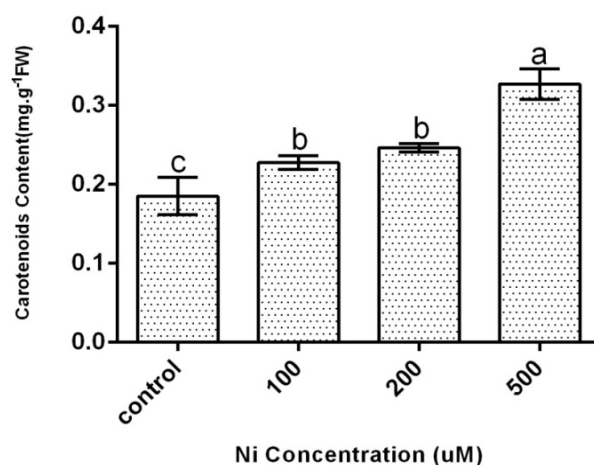


شکل ۱- تاثیر نیکل بر میزان کلروفیل a (مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است) (میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)



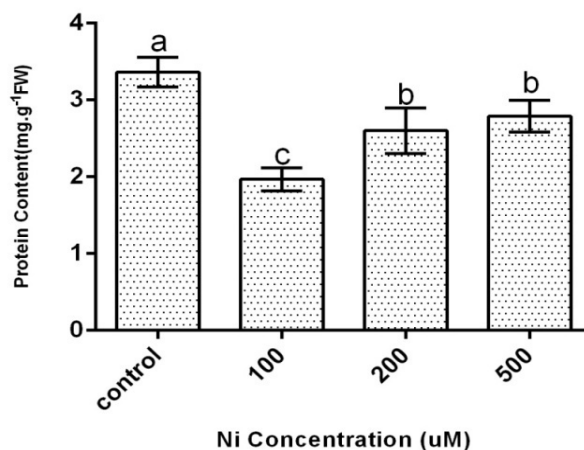
شکل ۲- تاثیر نیکل بر میزان کلروفیل b (مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است) (میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از سنجش کاروتنوئید نشان داد که، با افزایش غلظت فلز نیکل، مقدار کاروتنوئید به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (شکل ۳). کاروتنوئیدها علاوه بر این که رنگیزه‌های کمکی هستند، نقش‌های مهم دیگری از جمله توان آنتی‌اکسیدانی، محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها را بر عهده دارند (Pandey and Sharma, 2002).



شکل ۳- تاثیر نیکل بر میزان کاروتنوئید (مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است)
(میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

اثر نیکل بر مقدار پروتئین: مقدار پروتئین گیاه گشنیز با افزایش نیکل در محلول‌های تیمار نسبت به شاهد، کاهش معنی‌داری (سطح احتمال ۵ درصد) نشان داد. مقدار پروتئین در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار نیکل به‌ترتیب ۱/۹۷، ۲/۶ و ۲/۷۹ میلی‌گرم پروتئین در هر گرم وزن تر بافت گیاهی بود. بیشترین کاهش نسبت به شاهد مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار بود (شکل ۴). کاهش اولیه محتوای پروتئین می‌تواند به علت کاهش در سنتز بعضی پروتئین‌ها و یا احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک باشد (Panda and Khan, 2003). مشاهده شده است که تحت شرایط تنش، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌توانند با صدمه زدن به پروتئوم گیاه باعث نابودی شمار زیادی از پروتئین‌های گیاه به‌شوند (Turgut *et al.*, 2004). همچنین فلزات سنگین با اختلال در فرآیند تثبیت نیتروژن از طریق مهار فعالیت‌های آنزیم‌هایی مانند گلوتامین سینتاز و گلوتامات سینتاز و نیترات ردوکتاز و فرآیند احیا نیترات سبب کاهش تولید پروتئین شده و رشد را متوقف می‌کند (Panda and Khan, 2003).

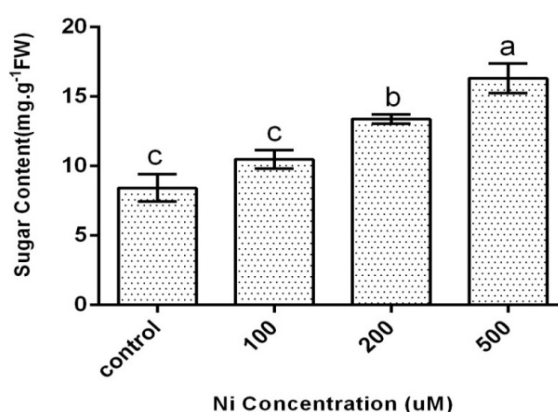


شکل ۴- تاثیر نیکل بر میزان پروتئین (مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است)
(میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

یکی از دلایل افزایش محتوای پروتئین در غلظت ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار نیکل نسبت به ۱۰۰ میکرومولار می‌تواند ناشی از افزایش سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی باشد. همچنین یک سری دیگر از پروتئین‌هایی که در پاسخ به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابند، پروتئین‌های شوک گرمایی هستند. این پروتئین‌ها براساس جرم مولکولی تقسیم‌بندی می‌شوند و وظیفه‌ی محافظت و ترمیم پروتئین‌ها تحت شرایط تنش را برعهده دارند (Feder and Hofmann, 1999)، از جمله این پروتئین‌ها می‌توانیم پروتئین HSP70 را نام ببریم که در هسته و سیتوپلاسم و همچنین در غشای پلاسمایی یافت می‌شود و در حفاظت غشا بر علیه خسارت ناشی از فلزات سنگین نقش دارد (Robinson *et al.*, 1993). همچنین ترکیبات پروتئینی هم‌چون فیتوکلاتین‌ها و متالوتیونین‌ها می‌توانند از طریق کلاته شدن با فلزات در سیتوزول به رفع مسمومیت ناشی از تنش فلزات سنگین کمک نمایند (Hall, 2002; Cobbett and Goldsbrough, 2002). یکی از مکانیسم‌های مهم دیگر در سمیت‌زدایی فلزات سنگین در اکثر گیاهان سبز و جلبک‌ها تولید پرولین است. از جمله کارهای صورت گرفته در یاخته‌های تحت تنش توسط پرولین، کاهش آسیب به پروتئین‌های یاخته‌ای می‌باشد (Saleh, 2002).

اثر نیکل بر مقدار قند: بررسی تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که، با افزایش غلظت فلز نیکل در محیط هیدروپونیک، مقدار قند در گیاه گشنیز تحت تنش به‌طور معنی‌داری (سطح احتمال ۵ درصد)

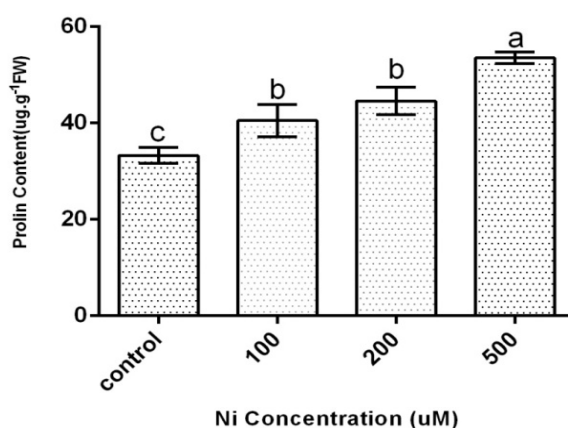
افزایش یافته است (شکل ۵). افزایش در میزان قندهای محلول، تحت شرایط تنش ناشی از شوری، خشکی، سرما، فلزات سنگین توسط دابی (Dubey, 1997) نیز گزارش شده است. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و اختلال در سرعت تعرق برگ‌ها به دنبال تجمع فلز سنگین در سلول‌ها، محتوای قندهای احیاکننده در گیاه افزایش می‌یابد. این پدیده احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت با فلز سنگین است. علاوه بر نقش قندها در تنظیم فشار اسمزی، تصور می‌شود با افزایش قندها، گیاه به‌تواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب نگه دارد (Zhang. and Tyerman, 1999). بنابراین، به نظر می‌رسد افزایش غلظت نیکل در گیاه گشنیز و اختلال در انتقال آب سبب افزایش غلظت قندهای محلول در گیاه شده است.



شکل ۵- تاثیر نیکل بر میزان قند (مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است)
(میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

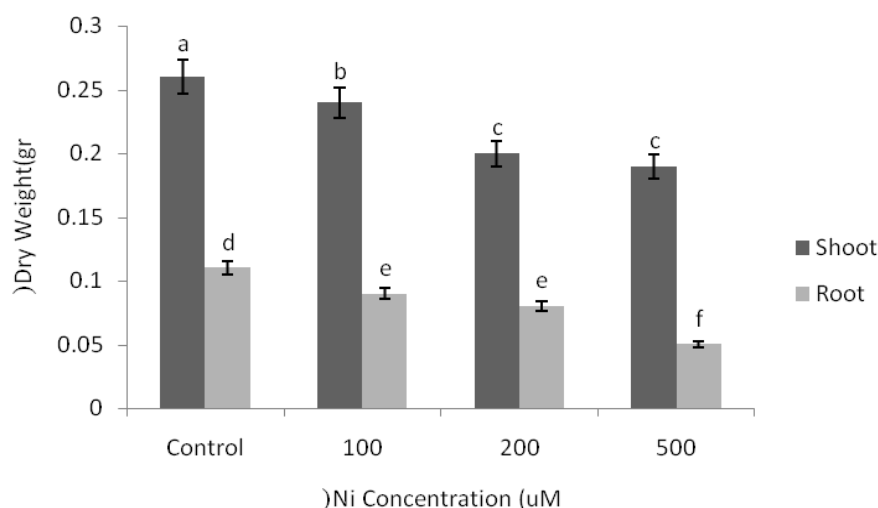
اثر نیکل بر مقدار پرولین: مقدار پرولین گیاه در تیمار فلز نیکل افزایش معنی‌داری (سطح احتمال ۵ درصد) نسبت به شاهد نشان داد. کمترین مقدار پرولین مربوط به تیمار شاهد با ۳۳/۲۸ میکروگرم پرولین در هر گرم وزن تر گیاه و بیشترین مقدار پرولین در تیمار ۵۰۰ میکرومولار نیکل با ۵۳/۵۳ میکروگرم پرولین در هر گرم وزن تر گیاه گشنیز می‌باشد (شکل ۶) که با نتایج بدست آمده بر روی گیاه اسفناج آبی (*Corchorus olitorius*) مبنی بر افزایش معنی‌دار مقدار پرولین در گیاه تحت تیمار فلز نیکل مطابقت داشت (Saleh, 2002). افزایش تولید پرولین یکی از مکانیسم‌هایی است که در بسیاری از گیاهان سبز و جلبک‌ها برای مقابله با تنش فلزات سنگین مشاهده می‌گردد (Turgut et

2004). همچنین، گیاهانی با توان مقاومتی بالاتر نسبت به تنش، سنتز تعدادی از متابولیت‌های محافظ اسمزی مانند پرولین، بتائین و کربوهیدرات‌های احیاکننده را افزایش می‌دهند (Ewemoje, 2007). با توجه به این‌که، تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش با کاهش خسارت در غشای سلولی و پروتئین‌ها همراه بوده (Okieimen, 2011)، می‌تواند ناشی از ممانعت پرولین از پراکسیداسیون لیپیدها و فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن باشد (Okieimen, 2011). بنابراین انباشته شدن بیشتر پرولین در گیاهان تحت تیمار با غلظت‌های بالای نیکل می‌تواند بیانگر راه کارهای سازگاری گیاه برای مقابله با سمیت نیکل توسط نقش چندگانه پرولین از جمله به عنوان یک عامل ایجاد کننده اسمز، جاروب کننده رادیکال‌های آزاد، محافظ آنزیم‌های سیتوپلاسمی، منبع نیتروژن و کربن برای رشد پس از تنش، محافظ پروتئوم و مخزن انرژی برای تنظیم پتانسیل اکسایش-کاهش باشد (Rodríguez et al., 2007).



شکل ۶- تاثیر نیکل بر میزان پرولین (مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است)
(میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

وزن خشک بخش هوایی و ریشه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که، که تیمار فلز نیکل بر صفات وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه گشنیز اثر معنی‌داری (سطح احتمال ۵ درصد) داشت و مقدار آن‌ها در همه غلظت‌ها نسبت به شاهد کاهش یافتند (شکل ۷). این نتایج با گزارش‌هایی مبنی بر کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاه برنج تحت تیمار غلظت فلز نیکل نیز مطابقت دارد (Molas and Baran, 2004).

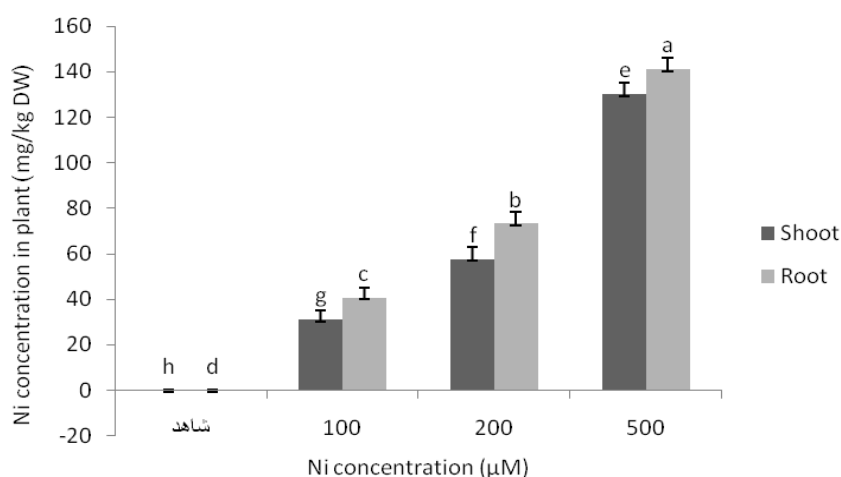


شکل ۷- تاثیر نیکل بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه (مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است)
(میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

کاهش در وزن خشک ریشه و بخش هوایی نیز به‌طور مستقیم به کاهش رشد هر دو اندام مربوط است، زیرا رشد مستقیماً بر وزن تر گیاه تاثیر می‌گذارد. ریشه‌ها به‌عنوان سطوح جذب کننده‌ی آب و مواد غذایی تاثیر بسیار زیادی در جذب آب و املاح گوناگون دارند و عوامل مختلف محیطی از طریق تاثیر بر ریشه بر رشد گیاه تاثیر می‌گذارند. تنش فلزات سنگین از جمله عوامل محدود کننده رشد ریشه‌هاست که به‌دنبال آن فعالیت‌های رشدی گیاه تحت تاثیر قرار می‌گیرد. بنابراین، عدم گسترش مناسب سیستم ریشه‌ای باعث کاهش سطح جذب کننده مواد غذایی، تغییر در ساختار غشای یاخته‌ای و کاهش جذب محتوای آب می‌شود که این امر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تعرق، تنفس و فتوسنتز اثر گذاشته و در نهایت موجب کاهش رشد در سایر قسمت‌های گیاه و از جمله کاهش زیست توده گیاه می‌شود (Verma and Dubey, 2001). به‌طور کلی ایجاد تغییر در مورفولوژی ریشه در اثر افزایش غلظت نیکل و تغییر ساختار ریشه باعث کاهش جذب مواد غذایی شده و کاهش رشد و وزن خشک گیاه را به‌دنبال دارد (Fuentes *et al.*, 2006).

انباشتگی یون نیکل: نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از اثر فلز سنگین نیکل بر میزان تجمع این فلز در ریشه و اندام هوایی گیاه گشنیز نشان داد که، با افزایش غلظت نیکل در محلول‌های تیمار، انباشتگی این فلز در هر دو اندام افزایش معنی‌دار (سطح احتمال ۵ درصد) و چشم‌گیری است. اما انباشتگی غلظت نیکل در ریشه نسبت به بخش هوایی بیشتر بوده است. این نتایج با گزارش‌های سایر

پژوهشگران مطابقت دارد (Parida *et al.*, 2003). بیشترین تجمع فلز نیکل در ریشه گیاه گشنیز در غلظت ۵۰۰ میکرومولار رخ داده است (شکل ۸). مشخص شده است به دلیل محدودیت مسیر سیمپلاست برای جذب فلزاتی از قبیل سرب و کادمیوم و آرسنیک، تجمع فلز نیکل در ریشه نسبت به بخش هوایی بیشتر بوده است (Kim *et al.*, 2002). همچنین نشان داده شده است که، غلظت نیکل موجود در گیاه با غلظت آن در خاک و محیط ارتباط مستقیم دارد (Peralta-Videa *et al.*, 2002). مطالعه و بررسی‌ها بر روی دو گیاه ارزن و اسفناج (Wadhawan, 1995) و همچنین عدس و نخود (Gupta *et al.*, 1996) نشان داد که، افزایش غلظت نیکل در بافت‌های گیاهی به دلیل افزایش غلظت این عنصر در محیط رشد گیاه می‌باشد. واکوئل مقصد نهایی تقریباً همه مواد سمی است که گیاه با آن مواجه می‌شود (Clemens, 2006). بنابراین، با توجه به انباشتگی بالاتر نیکل در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی گشنیز، به نظر می‌رسد در این پژوهش کده‌بندی یون‌های نیکل در ریشه یک مکانیسم مقاومتی است که گیاه گشنیز در برابر تنش فلز سنگین نیکل اعمال نموده است.



شکل ۸- تاثیر سطوح مختلف نیکل بر مقدار انباشتگی نیکل (مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است) (میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که، فلز نیکل تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و فیزیولوژی ریشه و اندام‌های هوایی داشته است، و در غلظت‌های بالا (بالاتر از ۲۰۰ میکرومولار) به‌عنوان یک مهارکننده رشد عمل کرده سبب بروز اثرات سمی بر اندام‌های گیاه می‌شود. همچنین با

توجه به اینکه در گیاه پالایی فلزات سنگین، فاکتور انتقال عناصر از اندام زیرزمینی به اندام هوایی از اهمیت زیادی برخوردار است، نتایج نشان داد که، گیاه گشنیز توانایی ترابری عناصر به بخش هوایی را دارد، ولی بیشترین انباشتگی از این عنصر در ریشه مشاهده شد. آلن و همکاران (Alan et al., 2000) اظهار داشتند که نسبت انتقال در گیاهان ذخیره کننده بزرگتر از ۱ و در گیاهان دافع کمتر از ۱ است. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می رسد گیاه گشنیز نمی تواند به عنوان یک گیاه ذخیره کننده فلز نیکل عمل نماید. ولی از طرف دیگر این تجمع در بخش های هوایی از این جهت می تواند اهمیت داشته باشد که بر اثر تغذیه این گیاهان در محیط های آلوده، این فلز می تواند وارد زنجیره غذایی شود و در نهایت سلامتی جانداران زنده را تهدید نماید.

منابع

- Alan J.M., Baker M., McGrath S.P., Reeves R.D., Smith J.A.C. 2000. Metal Hyperaccumulator Plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal polluted soils, in phytoremediation of contaminated soil and water. Terry, N. and Banuelos, G. ED., CRC Press LLC, Pp: 85-107.
- Angelova V., Ivanova R., Ivanov K.R. 2005. Study accumulation of heavy metals by plants in field. Geophysical Research Abstracts, 7, 03931, SRef-ID: 1607-7962/gra/EGU05-A-03931.
- Bathes V., Wunderlich B. 1973. Heat capacity of molten polymers. Journal of Polymer Science, Polymer Physics Edition, 11 (5): 861-873.
- Baycu G.T., Doganay O., Hakan G., Sureyya. 2006. Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn, and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul. Environmental Pollution, 143: 545-554.
- Bradford M.M. 1975. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry Quantities, 72: 248-254.
- Brooks R.R. 1998. Plants that hyperaccumulate heavy metals. CAB Publication UK, 375 p.
- Carrubba A., la-Torre R., Di Prima A., Saiano F., Alonzo G. 2002. Statistical analyses on the essential oil of Italian coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits of different ages and origins. Journal of Essential oil Research, 14 (6): 389-396.
- Chashschin V.P., Artunina P.A., Norseth T. 1994. Congenital defects, abortion and other health effects in nickel refinery workers. Science Total Environ, 148: 287-291.
- Clemens S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. Biochimie, 88 (11): 1707-1719.

- Cobbett C., Goldsbrough P. 2002. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual review of plant biology*, 53 (1): 159-182.
- Dubey R. 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. *Handbook of Photosynthesis*, 2: 717-737.
- Ewemoje T.A. 2007. Variable irrigation scheduling effects on growth parameters of celosia argentea in humid tropical environment. *Agricultural Engineering International: the CIGR*.
- Feder M.E., Hofmann G.E. 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annual review of physiology*, 61 (1): 243-282.
- Fuentes D., Disante K.B., Valdecantos A., Cortina J., Vallejo V.R. 2006. Response of *Pinus halepensis* Mill. seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three mediterranean forest soils. *Environmental Pollution*, 145 (1): 316-323.
- Goyer R. 1991. Toxic Effects of Metals, In: Casarett and Doull's Toxicology, 4th Ed. Amdur, M.O., J.D. Doull C.D. Klaassen. Pergamoan Press, New York. Pp: 623-680.
- Gupta P.K. 1999. Soil, plant, water and fertilizer analysis. Publisher: Bikaner Agro Botanica xiii 438 p.
- Gupta S.P., Gupta V.K., Kala R. 1996. A note on effect of nickel application on rabi cereals. *New Botanist*, 23:237-239.
- Hall J. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53 (366): 1-11.
- Jassir M.S., Shaker A., Khaliq M.A. 2005. Deposition of heavy metals on green leafy vegetables sold on roadsides of Riyadh City, Saudi Arabia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75: 1020-1027.
- Kabata-Pendias A., Pendias H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. Florida: Boca Raton, New York, 505 p.
- Kim Y.Y, Yang Y.Y., Lee Y. 2002. Pb and Cd uptake in rice roots. *Physiologia Plantarum*, 116 (3): 368-372.
- Kupper H., Kiipper F., Spiller M. 1996. Environmental relevance of heavy metal substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany*, 47: 259-266.
- Kuznetsov V.I., Shevykova N.I. 1999. Proline Under Stress: biological role, metabolism, and regulation. *Russ. Journal of Plant Physiology*, 46: 274-287.
- Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 1(48): 350-382.
- Mirbagheri S., Shams. A., Hashemi H., Shams H. 2010. Removal of divalent nickel from plating industry wastewater with reverse osmosis. *Journal of Environmental Sciences and Technology*, 12 (1): 1-11.

- Molas J., Baran S. 2004. Relationship between the chemical form of nickel applied to the soil and its uptake and toxicity to barley plants (*Hordeum vulgare* L.). *Geoderma*, 122: 247-255.
- Okieimen F.E. 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology*, Article ID 402647, 20 p.
- Ouzoundi G., Ciampрова M., Moustakas M., Karataglis S. 1995. Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress. I. growth, mineral content and ultra structure of roots. *Environmental and Experimental Botany*, 35: 167-176.
- Panda S., Khan M. 2003. Antioxidant efficiency in rice (*Oryza sativa* L.) leaves under heavy metal toxicity. *Journal of Plant Biology New Delhi*, 30 (1): 23-30.
- Pandey N., Sharma C.P. 2002. Effect of heavy metals Co²⁺, Ni²⁺ and Cd²⁺ on growth and metabolism of cabbage. *Plant Science*, 163: 753-758.
- Parida B.K., Chhibba I.M., Nayyar V.K. 2003. Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. *Scientia Horticulturae*, 98:113-119.
- Prasad M.N.V. 2004. Heavy Metal Stress in Plants. 2th Ed. Norosa Publishing House, USA.
- Prasad M.N.V., Strzaka K. 2002. Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. *Plant Sciences*, 161: 881-889.
- Prasad M.N.V., Freitas H. 2003. Metal hyper accumulation in plants-Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biototechnology*, 6: 275-321.
- Prasad M.N.V., Malec P., Waloszek A., Bojko M., Strzałka K. 2001. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. *Plant Science*, 161 (5): 881-889.
- Ramadan M.F., Morsel J.T. 2002. Oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit-seeds. *European Food Research and Technology*, 215: 204-209.
- Robinson N.J., Tommey, A.M., Kuske, C., Jackson, P.J. 1993. Plant metallothioneins. *Biochemical Journal*, 295: 1-10.
- Rodríguez M.C. 2007. Effects of chromium on photosynthetic and photoreceptive apparatus of the alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental research*, 105 (2): 234-239.
- Saleh A.A. 2002. Response of anabolic capacities, proline, protein patterns and mineral elements to nickel and EDTA stress in *Corchorus olitorius*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5(4): 455-460.
- Shah K., Kumar R.G., Verma S., Dubey R.S. 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Science*, 161: 1135-1144.
- Sharma P., Dubey R. S. 2005. Lead Toxicity in plants. *Plant Physiology*, 17: 35-52.

- Singh H.B., Singh A., Rai S.K., Katiyar R.S., Johri J.K., Singh, S.P. 2003. Evaluation of Indian coriander accessions for resistance against stem gall disease. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50: 399-343.
- Sinha S.I., Gupta A.K., Bhatt K., Pandey K., Rai U.N., Singh K.P. 2006. Distribution of metals in the edible plants grown at Jajmau, Kanpur (India) receiving treated tannery wastewater: relation with physico-chemical properties of the soil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 115: 1-22.
- Smialowicz R.J., Rogers R.R., Rowe D.G. 1988. The effects of nickel on immune function in the rat. *Toxicology*, 44: 271-281.
- Smialowicz R.J., Rogers R.R., Riddle M.M., Scott G.A. 1984. Immunologic effects of nickel: I. Suppression of cellular and hum oral immunity. *Environmental Research*, 33: 413-427.
- Somogy M. 1952. Note on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195: 19-29.
- Turgut C., Katie Pepe M., Cutright T.J. 2004. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. *Environmental Pollution*, 131 (1): 147-154.
- Upendra K., Bandyopadhyay M. 2006. Sorption of cadmium from aqueous solution using pretreated rice husk. *Bioresource Technology*, 97: 104-109.
- Vajpayee P. 2000. Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L. *Chemosphere*, 41 (7): 1075-1082.
- Verma S., Dubey R. 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia Plantarum*, 44 (1): 117-123.
- Wadhawan K. 1995. Nickel Availability and its Uptake by Plant as Influenced by Nitrogen and Zinc Application. M. Sc. Thesis. Punjab Agricultural University, Ludhiana, India.
- Wagner G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology*, 64: 88-93.
- Zadeh B.M. 2008. Effect of sunflower and Amaranthus culture and application of inoculants on phytoremediation of the soils contaminated with cadmium. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 4: 93-103.
- Zhang W.H., Tyerman S.D. 1999. Inhibition of water channels by HgCl₂ in intact wheat root cells. *Plant Physiology*, 120 (3): 849-858.