مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره ۶، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۶
صفحه ۹۴-۸۵

بررسی اثر سرب موجود در محیط کشت بر رشد و نمو و برخی صفات فیزیولوژیک شاهی در شرایط کشت درون شیشه‌ای

The effects of lead on growth characteristic and some physiological traits of garden cress (*Lepidium sativum)* under *in vitro* conditions

لمیا وجودی مهربانی[۱*]، رعنا ولیزاده کامران[۲]، نشمیل فتاحی [۳] و مارال صفر دوست[۳]

Lamia Vojodi Mehrabani[1], Rana Valizadeh Kamran[3], Nashmil Fattahi[3] and Maral Safar-Doost[3]

۱ – استادیار گروه زراعت واصلاح نباتات ۲– استادیار گروه بیوتکنولوژی
۳– دانشجوی کارشناسی گیاهان دارویی،
دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, 2. Department of Agricultural Biotechnology, 3. Student of Plant Production,
Agriculture Faculty, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: vojodilamia@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۲۹ – تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۱۹)

چکیده

آلودگی با فلزات سنگین از مهمترین عوامل جهانی آلودگی خاک می‌باشد آلاینده های فلزی به دلیل غیر قابل تجزیه بودن آنها و اثرات فیزیولوژیکی آنها بر موجودات زنده و انسان حتی در غلظت‌های کم سرطانزا می‌باشند. به منظور بررسی تاثیر عنصر سرب (۰، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی گرم در لیتر) موجود در محیط کشت گیاه بر رشد و نمو (درصد جوانه زنی بذر، وزن تر و خشک گیاه، تعداد، طول و عرض برگ) و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک (محتوای سرب برگ و ریشه، محتوای نسبی آب برگ، محتوای مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن، پروتئین، کلروفیل و فاکتور غلظت زیستی) گیاه شاهی (*Lepidium sativum*) آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. بذور ضدعفونی شده در محیط MS کشت شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب در محیط کشت از ۳ به ۵ میلی‌گرم در لیتر بر محتوای پراکسیدهیدروژن و آنزیم مالون‌دی‌آلدئید افزوده شد. بیشترین تجمع سرب در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر سرب در برگ و ریشه مشاهده گردید. بیشترین میزان فاکتور غلظت زیستی در تیمارهای ۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سرب مشاهده شد. بالاترین میزان تعداد برگ، کلروفیل a و پروتئین در تیمار شاهد و ۱ میلی گرم در لیتر سرب و کمترین میزان کلروفیل b در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر سرب مشاهده شد. افزایش غلظت سرب از ۲ میلی گرم در لیتر، تاثیر بازدارنده بر جوانه زنی طول و عرض برگ داشت. براساس یافته‌های تحقیق حاضر (BCF≥ 1) می‌توان عنوان نمود که شاهی جزو گیاهان انباشت‌گر فلز سرب می‌باشد و باید از کاشت این گیاه در محیط‌های آلوده به فلز سرب در صورتیکه هدف از کاشت مصرف خوراکی آن باشد اجتناب نمود. ولی اگر هدف از کاشت این گیاه در طبیعت به منظور گیاه پالایی باشد شاهی گیاهی مناسب برای این منظور می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

شاهی،
سرب،
پروتئین،
کشت درون شیشه‌ای،
مالون‌دی‌آلدئید.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

مقدمه

آلودگی با فلزات سنگین از مهمترین عوامل جهانی آلودگی خاک می‌باشد آلاینده‌های فلزی به دلیل غیر قابل تجزیه بودن آنها و اثرات فیزیولوژیکی آنها بر موجودات زنده و انسان حتی در غلظت‌های کم سرطانزا می‌باشند (Bafeel, 2010). از مهمترین این فلزات می‌توان به مس، جیوه، سرب و روی اشاره نمود (Farzanegan *et al*., 2012). سرب از عناصر غیر ضروری برای گیاه و از مهمترین این آلاینده‌ها می‌باشد که حتی در غلظت های کم بسیار سمی می‌باشد. وجود آن در محیط کشت تاثیر منفی بر سرعت جوانه‌زنی، وضعیت آب در گیاه، وزن خشک ریشه و بخش هوایی گیاه، فتوسنتز، جذب عناصر غذایی و فعالیت آنزیمی دارد (Munzuroglu & Geckil, 2002). آشفتگی ایجاد شده در اثر وجود فلزات سنگین در محیط کشت موجب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید می‌شود (Hou *et al*., 2007). که موجب پراکسیداسیون غشای سلولی، نشت یون، هیدولیز پروتئین و آسیب به DNA می‌شود. گیاهان به منظور مقابله با آسیب‌های ذکرشده با ایجاد سیستم دفاعی مانند ترکیبات آنتی اکسیدانی با وزن کم و آنزیم‌های سوپراکسید دسیموتاز با آسیب وارده مقابله می کنند (Han, 1996). سرب مانع جذب عناصری مانند آهن و منگنز از طریق ممانعت از ورود و یا تشکیل پیوند با ناقلین این عناصر شده که نهایتا مانع جذب آن توسط ریشه و برگ می شود (Xrong, 1997). در بررسی انجام شده توسط شارما و همکاران مشخص شد که گروه های کربوکسیل دیواره سلولی از طریق پیوند با سرب و رسوب آنها روی دیواره سلولی و واکوئل ها حدود ۹۶٪ از سرب وارد شده به گیاه را سمیت زدایی می کنند (Sharma *et al*., 2005). وجود فلز سرب در محیط کشت گیاه قابلیت جذب و دسترسی آهن در آپوپلاست ریشه و انتقال آن به برگ ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد و تاثیر منفی بر متابولیسم پروتئین و نشاسته دارد (Alidadi khaliliha *et al*., 2016). در برسی انجام شده در خصوص تاثیر فلز سنگین سرب بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک شاهی مشخص شد که تجمع فلزات سنگین در محیط کشت تاثیر منفی بر رشد، عملکرد، محتوای پروتئین در گیاه شاهی دارد (Bafeel, 2010). استفاده از روش‌های فیزیکی و شیمایی به منظور پالایش خاک پرهزینه و غیر اقتصادی می‌باشند و در نهایت موجب آلودگی بخش دیگری از زیست بوم می‌شوند. دست‌یابی به روش‌هایی که بر اساس آنها بتوان آلاینده‌ها را از محیط کشت جمع آوری نمود حائز اهمیت می‌باشد (Farzanegan *et al*., 2012). گیاه پالایی روش جدیدی است که از گیاهان برای حذف، تجزیه و یا جابجایی آلاینده هی خاک استفاده می‌شود (Robinson *et al*., 2003). لذا هدف از بررسی انجام شده ارزیابی تاثیر سرب موجود در محیط کشت شاهی بر رشد و نمو و برخی صفات فیزیولوژیک شاهی (به عنوان یکی از گیاهان مطرح شده در زمینه گیاه پالایی) می باشد تا راهگشای استفاده از این گیاه در خاک های آلوده به سرب باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سرب موجود در محیط کشت گیاه بر رشد و نمو و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک شاهی آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام شد.

مواد گیاهی

بذور مورد استفاده برای پژوهش حاضر از شرکت پاکان بذر خریداری گردید. برای ضدعفونی بذور از هیپوکلرید سدیم ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. سپس بذور با آب مقطر استریل سه بار آب کشی شد. در پژوهش حاضر از محیط کشت MS استفاده گردید و غلظت‌های مختلف سرب (به صورت کلرید سرب) (۰، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) به محیط کشت اضافه گردید (Phetsombat *et al*., 2006). لازم به ذکر می‌باشد که pH محیط کشت مورد استفاده در محدوده ۵/۶ تا ۵/۸ تنظیم گردید. ضدعفونی محیط کشت‌های به کمک دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار یک اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. ۳۰ بذر در هر ظرف در سه تکرار کشت شد. نمونه‌ها در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد با تناوب روشنایی/ تاریکی ۸:۱۶ ساعت نگهداری شد. بعد از رشد کامل گیاهان صفات وزن‌تر وخشک گیاه، طول و عرض برگ، محتوای سرب

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

برگ و ریشه، محتوای نسبی آب برگ، محتوای مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن، پروتئین، فاکتور غلظت زیستی، کلروفیل و درصد جوانه زنی بذر اندازه گیری شد.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل: میزان کلروفیل با استفاده از روش پرچزکوا وهمکاران اندازه‌گیری شد (Prochazkova *et al.*, 2001).

سنجش محتوای مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن: محتوای مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید نمونه‌ها با استفاده از روش نجار خدابخش و چاپارزاده اندازه‌گیری شد (Najjar-khodabakhsh and Chaparzadeh 2016).

محتوای نسبی آب برگ: از روش زوو همکاران برای ارزیابی محتوای نسبی آب برگ استفاده گردید (Xu *et al.* 2005).

محتوای پروتئین: بر روی نمونه‌های برگی تیمارهای مختلف گیاه ۲۰ میلی مول بافر تریس – اسید کلرید (PH: 8.6) حاوی ۵٪ بتا- مرکاپتواتانول (V/V) در دمای۴ درجه سانتی گراد اضافه شد. سپس نمونه ها از روی کاغذ صافی عبور و در g ۱۰۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس از سوپرناتانت حاصل برای اندازه گیری پروتئین بر اساس متد بردفورد با استفاده از سرم گاوی به عنوان استاندارد استفاده شد. میزان پروتئین محلول بر حسب mg g^{-1} DW. بیان گردید (Bradford 1976).

اندازه‌گیری مقدار سرب: ابتدا نمونه‌های گیاهی در اون در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. سپس ۰/۳گرم از بخش هوایی گیاه درارلن مایر ۵۰ میلی لیتری قرار داده شد و از اسید نیتریک ۶۵٪ و اسید پرکلریک ۷۰٪ به نسبت ۵ به ۱/۵ بر روی نمونه‌ها افزوده شد. نمونه‌ها در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سانتی گراد) تا زمانیکه رنگ آنها شفاف شود قرار گرفت. نمونه‌ها از حمام خارج و در دمای محیط سرد شده سپس با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم ۲۰ میلی لیتر رسانده شد. بعد از صاف شدن نمونه ها میزان فلز با استفاده از دستگاه جذب اتمی به روش Ebrahimpour and Mushrifah (2008) تعیین گردید.

تعیین فاکتور غلظت زیستی ریشه و برگ (Bio-Concentration Factor): جذب فلز با فاکتور غلظت زیستی نشان داده می‌شود که به صورت زیر محاسبه می‌شود (Phetsombat *et al.*, 2006):

فاکتور غلظت زیستی= میانگین غلظت عنصر در بافت گیاهی ($mg\ Kg^{-1}$)/ غلظت اضافه شده به محیط کشت ($mg\ Kg^{-1}$)

طرح آماری و نحوه‌ی تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزارهای آماری MSTATC، SPSS (نسخه ۹.۲) مورد تجزیه قرار گرفت. مقایسه‌ی میانگین‌های تیمارهای مختلف به کمک آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان دهنده تاثیر تیمار مورد استفاده بر تمامی صفات مورد اندازه‌گیری به غیر از محتوای نسبی آب برگ، طول دمبرگ، وزن تر و خشک برگ و وزن‌تر و خشک ریشه بود (جدول ۱ و ۲).

درصد جوانه‌زنی

به نظر می‌رسد تاثیر فلزات سنگین بر درصد جوانه زنی بسته به گونه گیاهی، اندام و فرآیندهای متابولیکی گیاه متفاوت باشد (Malar *et al.*, 2014). در بررسی حاضر سطوح مختلف سرب درصد جوانه زنی بذر را تحت تاثیر قرار داد و با افزایش غلظت سرب از ۳ به ۵ میلی‌گرم در لیتر از درصد جوانه‌زنی بذر کاسته شد (جدول ۳). نتایج حاصل از بررسی انجام شده با نتایج تحقیقات مالار و همکاران در گیاه سنبل آبی (Malar *et al.*, 2014) و راهویی و همکاران در گیاه نخود (Rahoui *et al.*, 2010) در خصوص کاهش درصد جوانه زنی بذر در اثر افزایش غلظت فلزات سنگین (سرب و کادمیوم) در محیط کشت مطابقت دارد. ونگ و همکاران عنوان نمودند که کاهش جوانه‌زنی بذر و کاهش رشد گیاهچه‌ها در خاک های آلوده به سرب، به دلیل افزایش پراکسیداسیون چربی سلول و افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپر اکسید دسیموتاز، گوایکول پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز به منظور کاهش اثرات مخرب پراکسید هیدروژن می‌باشد.(Wang *et al.*, 2010)

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

جدول ۱– تجزیه واریانس غلظت های مختلف سرب بر رشد و نمو شاهی در شرایط کشت درون شیشه ای

Table 1. ANOVA for the effects of lead on growth characteristics of *Lepidum sativum* L. *in vitro*.

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	طول برگ	عرض برگ	تعداد برگ	طول دمبرگ	درصد جوانه زنی
تیمار	۵	۰/۰۷^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۰۴^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۳۲**	۰/۱۴**	۱۰/۵**	۰/۲۴^{ns}	۱۲۱/۹**
اشتباه آزمایشی	۱۲	۰/۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱۱	۰/۶۶	۰/۳۰	۶/۹۴
CV%		۳۸/۷	۵۳/۴	۱۳/۸	۳۳/۶	۱۶/۸	۱۴/۶	۱۶/۸	۱۴/۵	۲/۸

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی داری و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد. ns,* and ** show no significant and significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively

جدول ۲– تجزیه واریانس غلظت های مختلف سرب بر خصوصیات فیزیولوژیکی شاهی در شرایط کشت درون شیشه ای

Table 2. ANOVA for the effects of lead on some physiological traits of *Lepidum sativum* L. *in vitro*.

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل b	کلروفیل a	محتوای نسبی آب برگ	غلظت سرب ریشه	غلظت سرب برگ	فاکتور غلظت زیستی برگ	محتوای پروتئین	محتوای پراکسید هیدروژن	محتوای مالون-دی آلدئید
تیمار	۵	۰/۱۲*	۰/۱۳*	۲۷/۸ ^{ns}	۱۴۶۵/۶**	۵۰۵/۷**	۰/۰۰۳**	۴۲/۵**	۴۰۸/۴۲**	۷۴/۷**
اشتباه آزمایشی	۱۲	۰/۰۲۳	۰/۰۰۷	۱۸/۳	۹/۸۳	۴/۶۷	۰/۰۰۰۱	۰/۸۸	۳۷/۱۹	۲/۳
CV%		۲۷/۱	۹/۳	۴/۸	۸/۵	۱۲/۰	۲۱/۶	۷/۱	۳۱/۰	۱۵/۳

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی داری و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد. ns,* and ** show no significant and significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

جدول ۳- مقایسه میانگین تاثیر غلظت های سرب بر برخی صفات فیزیولوژیک شاهی در کشت درون شیشه ای

Table 3- Mean comparison for the effects of lead on some physiological traits of of *Lepidium sativum* in *in vitro*

غلظت سرب (mgL^{-1})	محتوای پراکسید هیدروژن ($\mu molg^{-1}F.Wt$)	محتوی مالون دی آلدئید ($\mu molg^{-1}F.Wt$)	پروتئین ($mgg^{-1}DWt$)	درصدجوانه زنی	غلظت سرب ریشه ($mgg^{-1}DWt$)	غلظت سرب برگ ($mgg^{-1}DWt$)	کلروفیل a (میلی‌گرم برگرم وزن‌تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر)
۰	۴/۲^{d}	۳/۰^{d}	۱۸/۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰^{e}	۰^{f}	۱/۳^{a}	۰/۹۳^{a}
۱	۱۰^{cd}	۵/۷^{cd}	۱۶/۳^{ab}	۹۷/۲^{a}	۲۴/۳^{d}	۷/۲^{e}	۱/۰۸^{ab}	۰/۷۸^{ab}
۲	۱۵/۹^{bcd}	۹/۲^{bc}	۱۴/۶^{bc}	۹۴/۶^{a}	۳۷/۰^{c}	۱۵/۶^{d}	۰/۹۳ ^{bc}	۰/۷۳ ^{ab}
۳	۲۴^{abc}	۱۱/۶^{ab}	۱۲/۳^{cd}	۸۷/۳^{b}	۴۴/۳^{c}	۲۱/۴^{c}	۰/۸۵^{bc}	۰/۵۷^{ab}
۴	۲۹/۲^{ab}	۱۵/۲^{a}	۱۰/۳^{de}	۸۶/۶^{b}	۵۲/۳^{b}	۲۸/۱^{b}	۰/۷۴^{cd}	۰/۴۱^{b}
۵	۳۲/۶^{a}	۱۷/۱^{a}	۸/۰^{e}	۸۴/۶^{b}	۶۲/۰^{a}	۳۴/۸^{a}	۰/۶۲^{d}	۰/۱۸^{c}
دانکن ۱٪	۱۵/۲	۳/۸	۲/۳	۶/۵	۷/۸	۵/۳	۰/۲۰	۰/۴۴
دانکن ۵٪	۱۰/۸	۲/۷	۱/۶	۴/۶	۵/۸	۳/۸	۰/۱۴	۰/۳۱

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می باشد.

Similar letters in the column show non-significant based on dunkan test.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

وزن‌تر و خشک برگ و ریشه

نتایج نشان دهنده عدم تاثیر معنی‌دار سرب در وزن‌تر و خشک گیاه بود (جدول ۱). مشاهدات آزمایشگاهی نشان داد که با افزایش غلظت سرب علائم سمیت در برگ‌ها به صورت زرد شدن و خشک شدن لبه‌های برگ مشاهده شد که نتایج حاصل از بررسی انجام شده بانتایج تحقیقات مالار و همکاران در گیاه سنبل آبی مطابقت دارد (Malar *et al.*, 2014).

تاثیر سرب موجود در محیط کشت بر تعداد، طول و عرض برگ

نتایج نشان دهنده تاثیر معنی‌دار غلظت سرب موجود در محیط کشت بر صفات مذکور می‌باشد نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب تا ۲ میلی‌گرم در لیتر بر طول و عرض برگ افزوده شد در حالیکه با افزایش غلظت از ۲ میلی‌گرم در لیتر از طول و عرض برگ کاسته شد. بالاترین تعداد برگ در تیمار شاهد (۷/۶) و ۱ میلی گرم در لیتر (۶/۳) مشاهده شد (جدول ۴).

تاثیر سرب بر محتوای پروتئین

افزایش غلظت سرب در محیط کشت تاثیر مخرب بر محتوای پروتئین داشت و با افزایش غلظت سرب محیط کشت به ۵ میلی‌گرم در لیتر از محتوای پروتئین کاسته شد و بیشترین میزان پروتئین در تیمار شاهد (۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر (۱۶/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مشاهده شد (جدول ۳). بررسی انجام توسط بافیل، پورنات و همکاران نشان داد که با افزایش غلظت سرب از محتوای پروتئین در گیاه کاسته شد (Pourrut *et al.*, 2011; Bafeel 2010). شاید کاهش بیوسنتز پروتئین در گیاه به دلیل تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط سرب موجب ایجاد تغییر در غشای سلولی و تاثیر ناشی از آن بر متابولیسم پروتئین و قند در متابولیسم گیاه باشد که خود می‌تواند توجیهی برای کاهش رشد مشاهده شده در گیاه باشد (Bafeel 2010).

تاثیر سرب بر محتوای مالون‌دی آلدئید

نتایج حاصل از جدول ۳ نشان دهنده تاثیر معنی‌دار سطوح سرب مورد استفاده در پژوهش حاضر بر محتوای مالون‌دی آلدئید نمونه‌ها بود و با افزایش غلظت سرب از ۳ به ۵ میلی گرم در لیتر محتوای مالون‌دی آلدئید از ۱۱/۶۳ به ۱۵/۱۷ (میکرومول بر گرم وزن‌تر) افزایش یافت. در تحقیق انجام توسط بافیل در گیاه شاهی پرورش یافته تحت غلظت‌های مختلف فلز سرب مشخص شد که وجود عناصر سنگین در محیط کشت گیاه موجب کاهش رشد، آشفتگی در متابولیسم گیاه به دلیل افزایش محتوای مالون دی-آلدئید و پراکسیدهیدروژن، کاهش محتوای پروتئین و افزایش در فعالیت سوپراکسید دسیموتاز و پراکسیداز شد. کاهش در فعالیت پراکسیداز و کاتالاز ممکن است به دلیل تشکیل کمپلکس پروتئین – سرب باشد که به تدریج موجب از بین رفتن انسجام غشای سلولی می‌شود. به نظر می‌رسد که سطوح بالای سرب (۶۰۰ میلی گرم در لیتر) در شاهی به دلیل کاهش در محتوای ترکیبات آنتی اکسیدانی موجب ایجاد حالت سمی می‌شود و از فعالیت آنزیم-های پراکسیداز و کاتالاز جلوگیری می‌کند. در مجموع می توان چنین عنوان نمود که پایداری غشای سلولی تحت شرایط تنش ایجاد شده عامل مهمی در ارزیابی ارقام متحمل و حساس به تنش سرب می‌باشد (Bafeel 2010).

تاثیر سرب بر محتوای پراکسیدهیدروژن

با افزایش غلظت سرب در محیط کشت بر تجمع پراکسید هیدروژن در نمونه های برگ افزوده شد کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۴/۲ میکرومول بر گرم وزن تر) و بیشترین میزان آن در تیمارهای ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر سرب مشاهده شد (جدول ۳). تجمع پراکسیدهیدروژن در اثر تنش سرب پاسخ عادی گیاه به تنش وارد شده می باشد که نقش مهمی در جلوگیری از آسیب به پروتئین و غشای سلولی در مراحل اولیه ایجاد تنش دارد با ادامه تنش وارده به گیاه و تجمع بیشتر این پراکسیدهیدروژن موجب آسیب به سلول و مرگ آن خواهد شد (Bafeel, 2010; Ambekar Nareshkumar *et al.*, 2015).

محتوای کلروفیل

مقدار کلروفیلa در گیاه شاهی به شدت تحت تاثیر غلظت‌های مختلف سرب قرار گرفت. و بیشترین میزان کلروفیل a در تیمارهای شاهد (۰/۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) و ۱ میلی-گرم در لیتر سرب به میزان ۱/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر مشاهده

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

شد و کمترین میزان کلروفیل b در تیمار ۵ میلی گرم در لیتر سرب (۰/۱۸میلی گرم بر گرم وزن تر) ثبت گردید (جدول ۳). نتایج حاصل از بررسی انجام شده با نتایج بررسی مالار و همکاران در گیاه سنبل آبی و علیدادی خلیلی‌ها و همکاران در شاهی مطابقت دارد (Malar *et al*., 2014; AlidadiKhaliliha *et al*., 2016). کاهش مشاهده شده در محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل پراکسیداسیون غشای کلروپلاست یا ناشی از کاهش آهن جذب شده توسط گیاه در محیط کشت حاوی سرب باشد (Mal *et al*., 2002). نقش بازدارنده سرب در تشکیل کلروفیل ممکن است به واسطه دخالت با protochlorophyllide و بیوسنتز aminoevulinic باشد چنین اثری ممکن است مراحل مختلف چرخه کلوین را تحت تاثیر قرار دهد که موجب بازداری تثبیت دی‌اکسید کربن در طی فرایند فتوسنتز شود (Mal *et al*., 2002). سرب در حلقه پورفیرینی جانشین منیزیم می‌شود و به این صورت موجب کاهش کلروفیل می‌شود. سرب با جلوگیری از جذب آهن و منیزیم مانع از سنتز کلروفیل در گیاه می‌شود (Sharma and Dubey, 2005). بافیل عنوان نمود که میزان تخریب کلروفیل a در اثر تنش سرب بیشتر از تخریب کلروفیل b می‌باشد کلروفیل a مرکز عمده رنگیزه-های فتوسنتزی بوده بنابراین کاهش کلروفیل a تاثیر بیشتری بر فرایند فتوسنتز دارد (Bafeel 2010).

تجمع سرب در ریشه و برگ شاهی

با افزایش غلظت سرب محیط کشت بر تجمع سرب در ریشه و برگ‌های شاهی افزوده شد و بیشترین تجمع سرب در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر در برگ (۱۷۹/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و ریشه (۳۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مشاهده شد (جدول ۳). تجمع سرب در گیاهچه‌های شاهی بستگی به غلظت آن در محیط کشت دارد به نظر می‌رسد تجمع سرب در ریشه بیشتر از برگ باشد نتایج حاصل از بررسی حاضر با نتایج حاصل از تحقیقات مالار و همکاران و علیدادی و همکاران در گیاه شاهی مطابقت داشت (Malar *et al*., 2014; AlidadiKhaliliha *et al*., 2016) در تحقیق انجام شده توسط علیدادی و همکاران مشخص شد که با افزایش سطح سرب در خاک وزن‌تر و خشک گیاه، شاخص کلروفیل، غلظت و جذب آهن توسط گیاه کاهش معنی‌داری یافت. به نظر می‌رسد که سرب با اثر منفی و تداخل در فعالیت‌های متابولیکی گیاه موجب کاهش رشد و کاهش زیست توده گیاه شود (AlidadiKhaliliha *et al*., 2016). سرب عمدتا از مسیر آپوپلاستی یاکانال یونی کلسیم وارد ریشه می‌شود انتقال سرب از مسیر آپوپلاستی به سهولت از طریق انحلال سرب در آب صورت می‌گیرد و نوار کاسپاری در آندودرم و مانع از انتقال آن به استوانه مرکزی می‌شود به همین دلیل تجمع در ریشه بیشتر اتفاق می‌افتد (Sharma and Dubey, 2005).

فاکتور غلظت زیستی

این فاکتور نشان دهنده توانایی گیاه در تجمع فلز خاص نسبت به غلظت آن در محیط کشت گیاه می باشد. تغییر در میزان فاکتور مذکور بستگی به تجمع زیستی به زیست توده هر گیاه و غلظت عنصر دارد اگر میزان BCF≥ 1 باشد گیاه توانایی مناسبی برای جذب و انتقال عنصر دارد (Ghosh *et al*., 2005).گیاهان به دو صورت به غلظت عناصر موجود در محیط کشت پاسخ می-دهند: ۱- عدم تمایل به جذب و انتقال فلزات سنگین به درون خود ۲- گیاهانی که دارای مکانیسم بسیار بالایی برای جذب فلزات توسط ریشه‌ها و انتقال آنها به اندام‌های هوایی می‌باشند که چنین گیاهانی را گیاهان انباشت‌کننده می‌گویند (Baker, 1981). تجمع عنصر در گیاه بستگی به ویژگی‌های گیاه، گونه و اندام گیاهی و اثرات متقابل فلزات سنگین و سمیت آنها دارد و گیاهان مختلف و حتی یک گونه و بخش‌های مختلف یک گیاه رفتار متفاوتی در مقابل عناصر سنگین نشان می‌دهند (Nareshkumar *et al*., 2015). نتایج حاصل از جدول ۵ نشان دهنده توانایی گیاه شاهی در جذب سرب و انباشت آن در گیاه (BCF≥ 1) در تمامی تیمارهای مورد استفاده به غیر از تیمار شاهد بود. بر اساس نتایج حاصل چنین می‌توان عنوان نمود که اگر هدف از کاشت شاهی مصرف خوراکی آن باشد باید از کاشت آن در محیط‌های آلوده به فلز سنگین سرب اجتناب نمود.

نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل از بررسی انجام شده نشان دهنده تاثیر منفی سرب بر صفات محتوای پروتئین، درصدجوانه زنی، کلروفیل a و

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

b طول و عرض برگ و تعداد برگ می‌باشد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب در محیط کشت بر تجمع این عنصر در ریشه و برگ افزوده شد و بالاترین حد فاکتور غلظت زیستی در غلظت‌های ۱ و ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم اتفاق افتاد که براساس یافته‌های تحقیق حاضر (BCF≥ 1) می‌توان عنوان نمود که شاهی جزو گیاهان انباشت گر فلز سرب می‌باشد و باید از کاشت این گیاه در محیط‌های آلوده به فلز سرب در صورتیکه هدف از کاشت گیاه مصرف خوراکی آن باشد اجتناب نمود. ولی اگر هدف از کاشت گیاه در طبیعت به منظور گیاه پالایی باشد شاهی گیاهی مناسب برای این منظور می‌باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های سرب بر تعداد، و طول و عرض برگ شاهی در کشت درون شیشه‌ای

Table 4- Mean comparison for the effects of lead on leaf number, Leaf width and length of *Lepidium sativum* L. *in vitro*

غلظت سرب (میلی‌گرم در لیتر)	طول برگ (سانتی‌متر)	عرض برگ (سانتی‌متر)	تعداد برگ
۰	۱/۳۰^{a}	۱/۰^{a}	۷/۶^{a}
۱	۱/۱۷^{ab}	۰/۸^{ab}	۶/۳^{ab}
۲	۱/۲^{ab}	۰/۸^{ab}	۴/۶^{bc}
۳	۰/۸۴^{bc}	۰/۶^{bc}	۴/۳^{bc}
۴	۰/۵۷^{c}	۰/۴^{c}	۳/۳^{c}
۵	۰/۵^{c}	۰/۴۴^{c}	۲/۶^{c}
دانکن ۱٪	۰/۳۸	۰/۲۶	۲/۰۳
دانکن ۵٪	۰/۲۷	۰/۱۸	۱/۴۵

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می باشد.

Similar letters in the column show non-significant based on dunkan test.

جدول ۵-میانگین فاکتور غلظت زیستی سرب در گیاه شاهی(ریشه و برگ)

Table 5- The main for Bio-concentration factor of lead in the leaves and root of *Lepidium sativum*

تیمار سرب (میلی‌گرم در لیتر)	فاکتور غلظت زیستی
۰	۰
۱	۳۱/۵
۲	۲۶.۳
۳	۳۲/۸
۴	۲۰/۱
۵	۱۹/۳

منابع

Alidadi Khaliliha M, Dordipour E, Barani Motlagh M. 2016. Interactive effect of iron and lead on growth and their uptake in Cress (*Lepidium sativum* L.). Journal of Soil Management and Sustainable Production 5(4):41-59.

Bafeel S. 2010. Physiological and Biochemical Aspects of Tolerance in Lepidium sativum. (cress) to Lead Toxicity. Catrina (Egyption Society for Environmental Sciences) 5(1): 1-7.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

Baker AJM. 1981. Accumulation and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. Journal of plant nutrition 3: 643-654.

Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Ebrahimpour M, Mushrifah I. 2008. Heavy metal concentrations (Cd, Cu and Pb) in five aquatic plant species in *Tasik Chini*, Malaysia. Journal of Environmental Geology 54: 689– 698.

Farzanegan Z, Savaghebi Gh, Hosseiny HMS. 2012. Study of the Effects of Sulfur and Citric acid Amendment on Phytoextraction of cd and pb from Contaminated Soil. Journal of Water and Soil 25: 736-745.

Ghosh M, Singh SP. 2005. A review on phytoremediation of heavy methals and utilization of its byproducts. Journal of Applied Ecology and Environmental Research 3 (1): 1-18.

Han YS. 1999. Advances of the function of Betacarotene and carotenoids. Journal of China Agricultural University 4: 5- 9.

Hou W, Chen X, Song G, Wang Q, Chi Chang C. 2007. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted water body restoration by duckweed (*Lemna minor*). Plant Physiology and Biochemistry 45: 62-69.

Mal TK, Adorjan P, Gorbett AL. 2002. Effect of copper on growth of an aquatic macrophytes (*Elodea Canadensis*). Environmental Pollution 120: 307-311.

Malar S, Vikram SS, Favas P, Perumal V. 2014. Lead havey methal toxicity induced change on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths (*Eichhornia crassipes*). Botanical studies, An International Journal 55(1): 54. DOI: 10.1186/s40529-014-0054-6.

Munzuroglu O, Geckil H. 2002. Effects of metals seed germination, root elongationand coleoptiles and hypocotyls growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 43: 61-73.

Najjar-khodabakhsh A, Chaparzadeh N. 2016. The role of ascorbic acid in reduction of oxidative effects of salinity on *Lepidium sativum* L. Journal of Plant Researches 28 (1): 175-185.

Nareshkumar A, Nagamallaiah GV, Pandurangaiah M, Kiranmai K, Amaranathareddy V, Lokesh U, Venkatesh B, Sudhakar C. 2015. Pb-Stress Induced Oxidative Stress Caused Alterations in antioxidant efficacy in two groundnuts (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. Agricultural Sciences 6:1283-1297.

Phetsombat S, Kruatrachue M, Pokethitiyook P, Upatham P. 2006. Toxicity and bioaccumulation of cadmium and lead in *Salvinia cucullata*.. Journal of Environmental Biology 27(4) 645-652.

Pourrut B, Shahid M, Dumat C, Winterton P, Pinelli E. 2011. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. EnvironmentalContamination and Toxicology 213:113–36.

Prochazkova D, Sairam RK, Srivastava GC, Singh DV. 2001. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. Plant Science 161: 765-771.

Rahoui S, Chaoui A, Ferjani EJ. 2010. Membrane damage and solute leakage from germinating pea seed under cadmium stress. Hazardous Materials 178:1128–1131.

Robinson BC, Duwing L, Bolan N, Kannathasan M, Saravanan, A. 2003. Uptakeof arsenic by New-Zlandter cress. Journal of Science and Total Environment 301: 67-73.

Sharma P, Dubey RS. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of plant physiology 17 (1): 35-52.

Wang C, Tian Y, Wang X, Geng J, Jiang J, Yu H. 2010. Lead-contaminated soil induced oxidative stress, defense response and its indicative biomarkers in roots of *Vicia faba* seedlings. Ecotoxicology 19:1130–1139.

Xrong ZT. 1997. Bio-accumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. Environmental Pollution 97: 275-279.

Xu S, Li J, Zhang X, Wei H, Cui L. 2005. Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultra-structure of chloroplasts in two cool-season Turfgrass species under heat stress. Environmental and Experimental Botany 56: 274-285.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]

The effects of lead on growth characteristic and some physiological traits of garden cress (*Lepidium sativum)* under *in vitro* conditions

Lamia Vojodi Mehrabani[1*], Rana Valizadeh Kamran[3] , Nashmil Fattahi[3] and Maral Safar-Doost[3]

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, 2. Department of Agricultural Biotechnology, 3. Student of Plant Production, Agriculture Faculty, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

*Corresponding Author: vojodilamia@gmail.com

Abstract

Heavy metal over-dosage is a predominant concern in soil pollution worldwide due to high stability of these elements as well as their their health side-effects on many organisms including humans. Experiments were conducted to study the effects of lead on growth characteristics (germination rate, plant fresh and dry weight, leaf number, leaf length and width) and some physiological traits (leaf and root lead concentration, relative water content and malondialdehyde, hydrogen peroxide, protein, bio-concentration factor and chlorophyll content) of *Lepidium sativum* as CRD in three replications. Different lead concentrations (0, 1, 2, 3, 4 and 5 mgL-1) were included in MS medium upon which seeds were cultured. The results revealed that lead concentrations from 3-5 mgL^{-1}, led to significant increases in malondialdehyde and hydrogen peroxide contents. The highest lead concentration was recorded at 5 $mgL^{-1}$of lead in leaves and roots. The highest amount of Bio-Concentration Factor was recorded at 1 and 3 mgL^{-1} Pb. The greatest amount of chlorophull a, leaf number and protein content was found in control plants and plants subjected to 1 mgL^{-1} lead treatment. For chlorophyll b, the lowest content was recorded in 5 mgL^{-1} lead. Pb concentration up to 2 mgL^{-1} had no significant effects on germination rate and the length and width of leaves, but any Pb increment from 3 mgL^{-1} upward, significantly affected the above-mentioned traits. Our studies make it evident that growing cress in Pb-polluted soil should be avoided if the plant is to be used as food. However, if the idea is to take advantage of the hyper-accumulation capacity of a plant in a soil decontamination program, cress would be an excellent candidate.

Keywords: *Lepidium sativum*, Lead, *In vitro*, Malondialdehyde, Protein

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.7.9]