

## بررسی اثرات متقابل مس و EDTA بر نشت یون پتاسیم و میزان برخی عناصر در ریشه و اندام هوایی دانه‌رست‌های ذرت<sup>۱</sup>

لطیفه پوراکبر، مسعود خیامی، جلیل خارا : دانشگاه ارومیه

### چکیده

دانه‌رست‌های ذرت با غلظت‌های مختلف مس (۵۰، ۲۵، ۷۵ و ۱۰۰ میکرو مولار) بدون EDTA و با EDTA به مدت ۱۲۰ ساعت تیمار شدند. کاهش شدیدی در طول ریشه و وزن خشک و افزایشی در نشت یون پتاسیم با افزایش غلظت مس در محلول غذایی در گیاهان تیمار شده با مس بدون EDTA مشاهده شد. تجمع مس در اندام زیرزمینی نسبت به سیستم هوایی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. با افزایش غلظت مس، میزان کلسیم، منیزیم، پتاسیم و آهن در ریشه و سیستم هوایی دانه‌رست‌کاهش یافت. اعمال EDTA با مس موجب افزایش وزن خشک، طول ریشه و کاهش نشت یون پتاسیم به محیط کشت شد. اعمال EDTA تجمع مس در ریشه را افزایش و در سیستم هوایی کاهش داد و بر میزان عناصر دیگر نیز اثر گذاشت. در کل EDTA توانست اثر مسمومیت ناشی از مس را تا حدودی کاهش دهد.

### مقدمه

مس (Cu) فلز انتقالی ضروری است و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک در گیاهان شرکت می‌کند. مس در ساختمان پروتئین‌های تنظیمی، زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی، تنفس میتوکندریایی، پاسخ به استرس اکسیداتیو، متابولیسم دیواره سلولی و سیگنال‌های هورمونی شرکت دارد [۱۷]، [۲۸]. یون‌های Cu به‌عنوان کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌ها همچون Cu/Zn سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، سیتوکروم C اکسیداز، آمینو اکسیداز، لاکاز، پلاستوسیانین و پلی فنل اکسیداز شرکت دارد. مس در گیاه به حالت  $Cu^{2+}$  و  $Cu^{+}$  موجود است. چرخه احیای بین  $Cu^{2+}$  و  $Cu^{+}$  می‌تواند رادیکال هیدروکسیل سمی تولید کند که در نتیجه به DNA، چربی، پروتئین‌ها و بیو مولکول‌های دیگر آسیب برساند [۱۰]. بنا بر این در غلظت زیاد، مس موجب مسمومیت شدید گیاه می‌شود که از نشانه‌های آن، زردی، مردگی بافتی، جلوگیری از رشد و نمو و ممانعت از رشد ریشه است [۲۰]، [۳۲].

تحمل فلزات سنگین را می‌توان رمز بقای گیاهان در خاک‌های غنی از فلزات سنگین ذکر کرد که برای گیاهان دیگر سمی قلمداد می‌شوند و از طریق برهم‌کنش ژنوتیپ گیاه و محیط آن نشان داده می‌شود [۱۹]. تحمل

واژه‌های کلیدی: ذرت، مس، EDTA، کلسیم، منیزیم، پتاسیم، آهن و نشت یون پتاسیم.

پذیرش ۸۷/۹/۱۸

دریافت ۸۶/۸/۵

<sup>۱</sup>. Zea mays L.

غلظت‌های شدید از فلزات در گونه‌ها و کولتیوارهایی که می‌توانند روی خاک‌های آلوده رشد کنند، می‌تواند با طیفی از مکانیسم‌های بالقوه در سطح سلولی صورت گیرد که احتمالاً در سمیت‌زدایی دخیلند. به نظر می‌رسد که این مکانیسم‌ها در ابتدا به‌جای بیان پروتئین‌های خاص- که می‌توانند در برابر اثرات فلز سنگین مقاومت کنند- با جلوگیری از انباشته شدن غلظت‌های سمی در جایگاه‌های حساس درون سلولی، از اثرات آسیب‌رسان جلوگیری می‌کنند.

از شلاته‌کننده‌های سنتتیک فلزات سنگین، مانند اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، برای زدودن فلزات از خاک‌ها استفاده می‌شود. در بررسی‌هایی که برای اصلاح خاک‌های آلوده به فلز سنگین توسط گیاهان انجام یافته است، نشان داده شده است که ظاهراً فلزات جذب گیاهانی می‌شوند که آن‌ها را در خود به مقدار زیادی انباشته می‌کنند و با مواد شلاته کننده کمپلکس تشکیل می‌دهند. لومبی<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کرده‌اند که EDTA تحرک فلز سنگین را در خاک و جذب آن را به وسیله ریشه‌ها به ترتیب افزایش می‌دهد، ولی انتقال فلزات سنگین مانند Cu، Cd، Zn، Pb به ساقه‌های ذرت سبب نشده است و مثل سدی انتقال این مواد به سیستم هوایی را کاهش می‌دهد پس EDTA در غلبه بر انتشار محدود شده فلزات به سطح ریشه‌ها بیش‌تر کارآمدتر است تا انتقال آن از ریشه‌ها به ساقه‌ها [۱۶].

### مواد و روش‌ها

بذرهای ذرت<sup>۲</sup> بعد از تهیه از مرکز تحقیقات کشاورزی، قبل از کشت به مدت ۱۰ دقیقه با محلول ۰/۱٪  $HgCl_2$  ضدعفونی و بعد با آب مقطر کاملاً شست و شو داده شدند. ظروف پتری‌دیش به قطر ۹ سانتی‌متر قبل از اقدام به کشت به مدت دو ساعت در آون در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در پایان پس از سرد شدن پتری‌دیش‌ها، در هر یک از آن‌ها دو ورق کاغذ صافی گذاشته سپس با استفاده از یک پنس استریل ده عدد بذر که ۱۲ ساعت قبل از کشت در داخل آب مقطر قرار گرفته و دوره آماس را طی کرده بودند، در داخل آن‌ها کشت و سپس کلیه پتری‌دیش‌ها در داخل انکوباتور در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز داده شدند. بعداً دانه‌رست‌های سه روزه به داخل ظرف‌های کشت محتوی ۳۰۰ ml محلول هوگلند با غلظت‌های مختلف مس (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرو مولار) منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی (CDR) با ۵ تیمار و هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد. برای تهیه محلول‌های Cu، از سولفات مس ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) استفاده شد. دانه‌رست به مدت ۱۲۰ ساعت در اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، شدت نوری ۱۰۰۰۰ لوکس، دمای ۲۲/۲۷°C (روز/شب) و رطوبت ۸۵٪ قرار گرفتند [۲۵]. در طی این دوره محلول هوگلند هر سه روز یک بار تعویض گشت. پس از گذشت ۱۲۰ ساعت طول و وزن خشک ریشه‌ها اندازه‌گیری شد. خشک کردن نمونه‌ها برای تعیین وزن خشک و برخی آزمایش‌ها که نیاز به وزن خشک نمونه‌ها

۱. Lombi

۲. *Zea mays*L

داشت، ریشه‌ها و سیستم هوایی گیاه بعد از شست و شو با آب مقطر در پاکت‌های مجزا قرار داده شدند و در آن ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. وزن خشک با ترازویی با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گرفته شد.

### بررسی اثر متقابل مس و EDTA بر ذرت

EDTA ۰/۳۲ mM (نمک دی سدیک EDTA) به همراه غلظت‌های مختلف Cu به صورت سولفات مس متبلور (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرو مولار) تهیه و به محلول هوگلند اضافه، و دانه‌های ۳ روزه ذرت در داخل آن کشت داده شدند [۱۰]. بعد از ۱۲۰ ساعت تیمار گیاهچه‌ها برداشت شده وزن خشک، طول ریشه، میزان نشت پتاسیم و میزان عناصر مس، آهن، پتاسیم، منیزیم و کلسیم در گیاهان تیمار شده ارزیابی شد.

### اندازه‌گیری میزان $K^+$ نشت یافته به محیط کشت

برای انجام این آزمایش دانه‌های ۳ روزه ذرت به مدت ۲۴ ساعت تحت تیمار ۱۰ ml ۲۰ mM KCl، قرار گرفتند و سپس دانه‌های ۳ روزه از شست و شوی با آب مقطر با غلظت‌های مختلف مس تیمار شدند. پس از ۴۸ ساعت نمونه‌ها برداشت شده و میزان برون تراوش پتاسیم در محلول باقیمانده همه گیاهان با دستگاه فلم‌فوتومتر<sup>۱</sup> اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد پتاسیم، میزان پتاسیم نشت یافته به محیط کشت بر حسب ppm محاسبه شد [۱].

### اندازه‌گیری عناصر

برای اندازه‌گیری عناصر، ۰/۱ گرم از ریشه و سیستم هوایی خشک به طور جداگانه توزین شد و در محلول نیتریک-پرکلریک اسید (۱/۴ (v/v)) در دمای ۱۲۰ °C و در طی ۶ ساعت هضم شد و سپس میزان عناصر مس، منیزیم، کلسیم، آهن و پتاسیم به وسیله دستگاه جذب اتمی<sup>۲</sup> اندازه‌گیری شد [۳۳].

### برنامه‌های رایانه‌ای استفاده شده

برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها از برنامه‌های رایانه‌ای SPSS و اکسل<sup>۲</sup> استفاده شد. در همه نمودارها بارهای عمودی نشان دهنده  $\pm$  SE برای سه تکرار است.

### بررسی نتایج

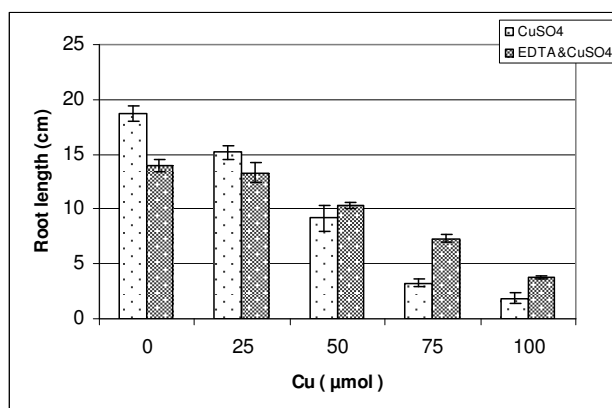
بررسی علائم ظاهری گیاهان ذرت شاهد و تحت تیمار غلظت‌های مختلف مس، نشان داد که افزایش غلظت مس در گیاهان ذرت، موجب بروز کلروز برگ شد که این کلروز به صورت رنگ سبز متمایل به زرد در برگ‌ها ظاهر شد و با افزایش غلظت مس نوک برگ‌ها و حاشیه برگ به صورت نکروز شده در آمدند.

<sup>۱</sup>.Flame photometer

<sup>۲</sup>.Shimadzu AA-670

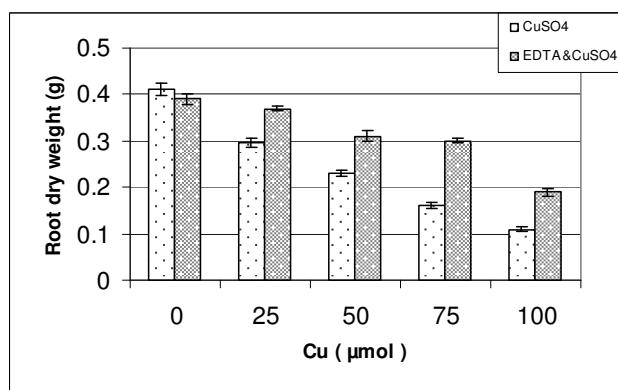
<sup>۳</sup>.Excel

نتایج حاصل از اثر مس به تنهایی و اثر آن به همراه EDTA بر طول ریشه‌ها در نمودار ۱ آورده شده است. نتایج حاصل از بررسی‌ها بر طول ریشه در گیاهان تیمار دیده گویای آن است که با افزایش غلظت مس طول ریشه نیز کاهش می‌یابد (نمودار ۱). تیمار توأم مس و EDTA رشد طولی ریشه در شاهد و غلظت ۲۵ میکرو مولار مس نسبت به نمونه‌های تحت تیمار مس بدون EDTA کمتر است و در غلظت‌های بالاتر از ۲۵ میکرو مولار مس، EDTA رشد طولی ریشه را نسبت به گیاهان تحت تیمار مس بدون EDTA افزایش داده بود، که طبق بارهای عمودی که گویای انحراف معیار است. این تغییرات در گیاهان تحت تیمار EDTA نسبت به بدون EDTA معنی‌دار است.



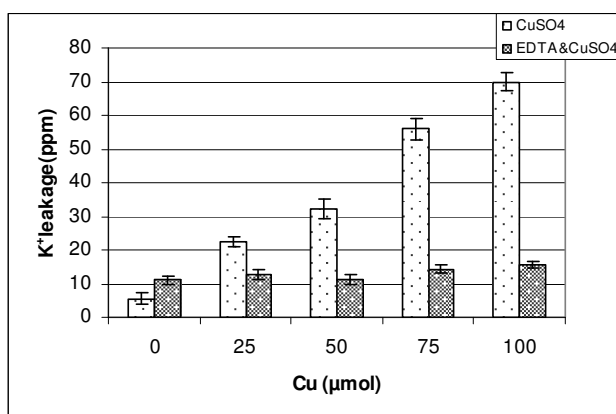
نمودار ۱. اثر تراکم‌های مختلف مس و (مس + EDTA) بر رشد طولی ریشه در گیاه ذرت بارهای عمودی گویای  $\pm$  SE است.

نتایج حاصل از اثر مس و اثر آن توأم با EDTA بر وزن خشک در نمودار ۲ آورده شده است. طبق این نمودار رابطه‌ای معکوس بین افزایش غلظت Cu و وزن خشک ریشه‌ها مشاهده می‌شود، که با افزایش غلظت مس وزن خشک ریشه کاهش می‌یابد که با توجه به بارهای عمودی که گویای خطای معیار است معنی‌دار است. طبق این نمودار در گیاهان تحت تیمار مس توأم با EDTA وزن خشک ریشه در شاهد نسبت به نمونه‌های تحت تیمار مس بدون EDTA از لحاظ آماری تفاوتی ندارد؛ ولی در همه نمونه‌های تیمار شده با مس، EDTA وزن خشک ریشه را نسبت به گیاهان تحت تیمار مس بدون EDTA افزایش داده است، که طبق بارهای عمودی که گویای انحراف معیار است این تغییرات در گیاهان تحت تیمار EDTA نسبت به بدون EDTA معنی‌دار است.



نمودار ۲. اثر تراکم‌های مختلف مس و (مس + EDTA) بر وزن خشک ریشه در گیاه ذرت بارهای عمودی گویای  $\pm$  SE است.

نتایج حاصل از اثر مس و اثر توأم آن با EDTA بر نشت یون پتاسیم به محیط کشت در نمودار ۳ آورده شده است. نتایج نشان‌دهنده آن است که گیاهان تیمار شده با مس ۱۰۰ میکرومولار حداکثر نشت یون  $K^+$  به محیط کشت را نشان می‌دهد که در حدود ده برابر شاهد است. افزایش نشت یون پتاسیم به محیط کشت از لحاظ آماری طبق بارهای عمودی که گویای خطای معیار است معنی‌دار است. طبق این نمودار در نمونه شاهد تحت تیمار توأم مس و EDTA نشت یون پتاسیم نسبت به نمونه شاهد تحت تیمار مس بدون EDTA افزایش یافته است ولی در همه نمونه‌های تیمار شده با مس، EDTA نشت یون پتاسیم به محیط کشت را نسبت به گیاهان تحت تیمار مس بدون EDTA کاهش داده است، که طبق بارهای عمودی که گویای انحراف معیار است این تغییرات در گیاهان تحت تیمار EDTA نسبت به بدون EDTA معنی‌دار است



نمودار ۳. اثر تراکم‌های مختلف مس و (مس + EDTA) بر نشت یون پتاسیم به محیط کشت در گیاه ذرت بارهای عمودی مس و SE  $\pm$  است.

نتایج حاصل از بررسی اثر مس بر میزان عناصر در سیستم هوایی گیاهان شاهد و تحت تیمار مس در جدول ۱ و در ریشه‌ها در جدول ۲ آورده شده است. طبق این نتایج، تجمع مس در ریشه گیاهان تحت تیمار نسبت به ساقه بیشتر است و با افزایش غلظت مس، بر میزان مس تجمع یافته در ریشه و سیستم هوایی نیز افزوده می‌شود.

میزان کلسیم، منیزیم و پتاسیم در سیستم هوایی گیاهان تحت تیمار نسبت به ریشه بیشتر است و با افزایش غلظت مس، میزان کلسیم، منیزیم و پتاسیم و آهن در ریشه و سیستم هوایی کاهش می‌یابد.

نتایج حاصل از بررسی اثر توأم مس و EDTA بر میزان عناصر در سیستم هوایی گیاهان شاهد و تحت تیمار مس در جدول ۳ و ریشه در جدول ۴ آورده شده است. طبق این نتایج تجمع مس در ریشه گیاهان تحت تیمار نسبت به سیستم هوایی در گیاهان تحت تیمار EDTA و مس بسیار بیشتر از گیاهان تحت تیمار مس است و با افزایش غلظت مس، بر میزان مس تجمع یافته در ریشه افزوده می‌شود. میزان مس در سیستم هوایی گیاهان تحت تیمار EDTA و مس نسبت به ریشه این گیاهان و همچنین سیستم هوایی گیاهان تحت تیمار مس بدون EDTA کمتر است.

اثر EDTA بر میزان کلسیم از قانون خاصی تبعیت نمی‌کند و میزان کلسیم در سیستم هوایی و ریشه گیاهان تحت تیمار مس و EDTA در غلظت  $25 \mu\text{M}$  مس نسبت به شاهد کاهش می‌یابد؛ ولی در غلظت‌های بیش‌تر از  $25 \mu\text{M}$  نسبت به شاهد افزایش نشان می‌دهد.

اثر EDTA بر میزان منیزیم از قانون خاصی تبعیت نمی‌کند و میزان منیزیم در ریشه در همه غلظت‌ها و در سیستم هوایی به غیر از غلظت‌های  $25 \mu\text{M}$  و ۰ نسبت به گیاهان تحت تیمار مس بدون EDTA افزایش نشان می‌دهد. میزان آهن در ریشه و سیستم هوایی گیاهان تحت تیمار مس و EDTA نسبت به گیاهان تحت تیمار مس بدون EDTA در همه غلظت‌های مس به غیر از شاهد سیستم هوایی و ریشه افزایش یافته است.

میزان پتاسیم در ریشه گیاهان تحت تیمار مس و EDTA نسبت به گیاهان تحت تیمار مس بدون EDTA در غلظت‌های ۰، ۲۵ میکرو مولار کاهش، ولی در غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار افزایش یافته است. میزان پتاسیم در سیستم هوایی گیاهان تحت تیمار مس و EDTA نسبت به گیاهان تحت تیمار مس بدون EDTA در غلظت‌های ۰، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار کاهش، ولی در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار افزایش یافته است.

جدول ۱. اثر تراکم‌های مختلف مس بر میزان عناصر سیستم هوایی در گیاه ذرت ( $\mu\text{g.g}^{-1}\text{DW}$ ). تفاوت موجود بین میانگین‌های هر ستون که با علامت \* نشان داده شده است از لحاظ آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار است

| غلظت مس           | Cu                 | Ca                 | Mg                 | Fe                | K                  |
|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| $0 \mu\text{M}$   | $24/92 \pm 2/63^*$ | $8823 \pm 43/67$   | $3748 \pm 47/12$   | $464 \pm 5/50$    | $1329 \pm 65/42$   |
| $25 \mu\text{M}$  | $32/89 \pm 1/32^*$ | $5841 \pm 55/59^*$ | $3386 \pm 56/03^*$ | $279 \pm 15/96^*$ | $1112 \pm 23/64^*$ |
| $50 \mu\text{M}$  | $48/92 \pm 1/28^*$ | $5537 \pm 65/14^*$ | $3073 \pm 77/84^*$ | $175 \pm 2/88^*$  | $870 \pm 35/24^*$  |
| $75 \mu\text{M}$  | $56 \pm 1/02^*$    | $4772 \pm 65/59^*$ | $2854 \pm 29/35^*$ | $108 \pm 1/76^*$  | $741 \pm 16/41^*$  |
| $100 \mu\text{M}$ | $72/71 \pm 3/92^*$ | $4215 \pm 55/43^*$ | $2657 \pm 30/27^*$ | $86 \pm 2/96^*$   | $626 \pm 10/21^*$  |

جدول ۲. اثر تراکم‌های مختلف مس بر میزان تعدادی از عناصر در ریشه گیاه ذرت ( $\mu\text{g.g}^{-1}\text{DW}$ ). تفاوت موجود بین میانگین‌های هر ستون که با علامت \* نشان داده شده است از لحاظ آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار است

| غلظت مس           | Cu                   | Ca                 | Mg                 | Fe               | K                |
|-------------------|----------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|
| $0 \mu\text{M}$   | $15/52 \pm 2/88$     | $5150 \pm 33$      | $2873 \pm 44/63$   | $620 \pm 9/60$   | $905 \pm 16/89$  |
| $25 \mu\text{M}$  | $72/07 \pm 1/13^*$   | $4472 \pm 60/25^*$ | $2412 \pm 25/11^*$ | $481 \pm 6/11^*$ | $731 \pm 7/02^*$ |
| $50 \mu\text{M}$  | $134/56 \pm 5/39^*$  | $3907 \pm 51/47^*$ | $2016 \pm 43/34^*$ | $364 \pm 6/24^*$ | $594 \pm 4/34^*$ |
| $75 \mu\text{M}$  | $238/19 \pm 9/04^*$  | $3099 \pm 49/67^*$ | $1725 \pm 16/64^*$ | $244 \pm 5/13^*$ | $513 \pm 5/77^*$ |
| $100 \mu\text{M}$ | $349/82 \pm 12/59^*$ | $2634 \pm 55/47^*$ | $1728 \pm 43/15^*$ | $208 \pm 5/29^*$ | $402 \pm 5/48^*$ |

جدول ۳. اثر (مس + EDTA) بر میزان تعدادی از عناصر در سیستم هوایی گیاه ذرت ( $\mu\text{g.g}^{-1}\text{DW}$ ). تفاوت موجود بین میانگین‌های هر ستون که با علامت \* نشان داده شده است از لحاظ آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار است

| غلظت مس           | Cu                 | Ca                  | Mg                 | Fe               | K                |
|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------------------|------------------|
| $0 \mu\text{M}$   | $18/06 \pm 2/07^*$ | $35420 \pm 67/65^*$ | $3526 \pm 71/96^*$ | $415 \pm 2/8^*$  | $520 \pm 9/76^*$ |
| $25 \mu\text{M}$  | $32/66 \pm 1/85$   | $2175 \pm 107/46^*$ | $3333 \pm 66/66$   | $351 \pm 7/26^*$ | $980 \pm 3/48^*$ |
| $50 \mu\text{M}$  | $44/66 \pm 1/85$   | $3772 \pm 123/90^*$ | $3619 \pm 51/28^*$ | $355 \pm 7/21^*$ | $763 \pm 8/19^*$ |
| $75 \mu\text{M}$  | $47/33 \pm 1/20^*$ | $4568 \pm 200/24$   | $3331 \pm 30/20^*$ | $320 \pm 6/06^*$ | $812 \pm 5/92^*$ |
| $100 \mu\text{M}$ | $68 \pm 1/73^*$    | $3565 \pm 81/87^*$  | $3142 \pm 63/11$   | $289 \pm 6/68^*$ | $864 \pm 6/74^*$ |

جدول ۴. اثر (مس + EDTA) بر میزان تعدادی از عناصر در ریشه گیاه ذرت ( $\mu\text{g.g}^{-1}\text{DW}$ ). تفاوت موجود بین میانگین‌های هر ستون که با علامت \* نشان داده شده است از لحاظ آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار است

| غلظت مس           | Cu                 | Ca                  | Mg                 | Fe               | K                |
|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------------------|------------------|
| ۰ $\mu\text{M}$   | $33 \pm 6/0^*$     | $6920 \pm 63/43^*$  | $3243 \pm 71/19^*$ | $517 \pm 1/45^*$ | $774 \pm 5/85^*$ |
| ۲۵ $\mu\text{M}$  | $97/6 \pm 3/3^*$   | $5220 \pm 117/29^*$ | $3240 \pm 35/57^*$ | $502 \pm 3/71^*$ | $655 \pm 4/33^*$ |
| ۵۰ $\mu\text{M}$  | $184/6 \pm 6/06^*$ | $4172 \pm 97/74^*$  | $3332 \pm 29/38^*$ | $436 \pm 6/36^*$ | $794 \pm 3/75^*$ |
| ۷۵ $\mu\text{M}$  | $290/6 \pm 3/17^*$ | $6284 \pm 147/65^*$ | $3461 \pm 30/33^*$ | $320 \pm 5/77^*$ | $766 \pm 4/72^*$ |
| ۱۰۰ $\mu\text{M}$ | $410/6 \pm 2/96^*$ | $5095 \pm 118/30^*$ | $3065 \pm 5/17^*$  | $288 \pm 6/65^*$ | $765 \pm 4/84^*$ |

## بحث

بررسی علائم ظاهری در گیاه ذرت تحت تیمار غلظت‌های مختلف مس نشان داد که با افزایش غلظت مس در گیاهان، برگ‌ها علائم سمیت را به‌صورت کلروز برگی و نکروزه شدن حاشیه برگی نشان دادند. با افزایش غلظت مس به شدت نکروزیس حاشیه برگ‌ها افزوده می‌شود. این نتایج با نتایج حاصل از کار زو<sup>۱</sup> و آلو<sup>۲</sup>، ۱۹۹۳ همخوانی نشان می‌دهد. گزارش شده است که ظهور کلروز برگی در اثر سمیت مس احتمالاً به دلیل اثر مس اضافی بر کاهش جذب آهن باشد [۱۴]، [۳۶]. همچنین علامت نکروزیس در برگ‌های جوان گیاهان تحت تیمار مس نیز ممکن است در اثر کمبود آهن القاء شود که نتایج حاصل از بررسی میزان عنصر آهن در گیاهان تیمار دیده نیز آن را تأیید می‌کند. مس فراوان اثر آنتاگونیسم با جذب Zn دارد. کمبود Zn القاء شده به وسیله مس اضافی در برگ‌های جوان ممکن است موجب کلروزیس شود [۵]، [۲۹]، [۱۳].

کاهش معنی‌دار در وزن خشک ریشه، ناشی از اثر سمیت مس در این اندام است. از آن‌جا که ریشه اولین اندامی است که در معرض سمی شدن قرار دارد و بیش از سایر اندام‌ها در معرض آسیب بیرونی قرار می‌گیرد، می‌توان گفت که ریشه مستقیماً در معرض سمیت مس قرار دارد، اما سمیت مس در سایر قسمت‌های گیاه غیرمستقیم است. اثر کاهش بیوماس ریشه و رشد آن را در اثر مسمومیت مس در گیاهان، اوزونیدو<sup>۳</sup> و همکاران، زو<sup>۴</sup> و همکاران و یانگ<sup>۵</sup> و کوبوی<sup>۶</sup> [۳۴]، [۲۶]، [۳۵] در تحقیقات مشابه گزارش کرده‌اند. رشد ریشه‌ها و وظیفه آن‌ها به عنوان سطوح جذب کننده آب و مواد غذایی، به عوامل زیاد محیطی بستگی دارد. تنش فلزات سنگین از جمله عوامل محدود کننده رشد ریشه است. با افزایش غلظت Cu کاهش در تعداد تارهای کشنده مشاهده می‌شود، که این نیز ممکن است از عوامل کاهش وزن خشک ریشه باشد. کاهش شدید حجم ریشه منعکس کننده ارتباط آن با کاهش بیومس است که آن هم در ارتباط مستقیم با کاهش تقسیم سلولی و تطویل آن است [۳۰].

نتایج حاصل از سنجش میزان مس در سیستم هوایی و زمینی نشان دهنده آن بود که مس بیش‌تر در اندام زمینی در گیاه ذرت تجمع می‌یابد. میزان جذب مس توسط گیاه و غلظت آن در گیاه به شرایط محیطی، فیزیولوژیک

۱. Zhu

۲. Alva

۳. Ouzonidou

۴. Xu

۵. Yang

۶. Kuboi

و عوامل بیوشیمیایی بستگی دارد. ریشه‌ها معمولاً محتوای مس بیش‌تری نسبت به سیستم هوایی نشان می‌دهند، زیرا آن‌ها اولین اندام‌هایی هستند که در ارتباط با مس قرار می‌گیرند [۲۵]، [۲۶]، [۲۷]. و یون‌ها فلزات سنگین در بافت‌های ریشه رسوب کرده و تا حد امکان از جاب‌جایی به سیستم هوایی جلوگیری می‌کنند. بنا بر این نقش ریشه بسیار مهم است، زیرا ریشه‌ها می‌توانند به‌عنوان محلی اصلی برای رسوب‌گیری و غیرفعال‌سازی فلزات عمل نمایند [۲۶].

اثر مس بر پایداری غشای سلول‌های ریشه با اندازه‌گیری میزان برون تراوش پتاسیم بررسی شد. پتاسیم کاتیونی تک ظرفیتی است و عنصری پرمصرف، ضروری و مهم است که در داخل سیتوپلاسم و واکوئل‌ها تجمع می‌یابد [۹]. فعالیت احیای مس آن را به‌عنوان عاملی در واکنش‌های انتقال انرژی سلول مطرح می‌سازد. همچنین مس دارای پتانسیلی برای ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو در صورت افزایش غلظت آن است [۲۳]. یون‌های مس آزاد بین سلولی می‌تواند با آب وارد واکنش شده و رادیکال آزاد هیدروکسیل تولید کند که به نوبه خود موجب پراکسیداسیون چربی می‌شود [۶]، [۱۸]. به علاوه، مس می‌تواند جای‌گزین کاتیون‌های دوظرفیتی در ماکرومولکول‌ها شود. که موجب غیرفعال شدن یا بدی عمل‌کرد آن‌ها شود [۱۵]. یکی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه به افزایش مس، برون تراوش  $K^+$  از ریشه‌ها است. سرعت برون تراوش  $K^+$  به طور گسترده‌ای به‌عنوان نشانه سمیت حاصل از آسیب اکسیداتیو مس القایی در غشای پلاسمایی است [۶]، [۷]، [۲۲]. برای حمایت از این تئوری، برون تراوش طویل مدت  $K^+$  در گیاهان سایلن کوکوبالیس<sup>۱</sup> [۶]، [۷]، می‌مولوس گوتاتوس<sup>۲</sup> [۳۰] و آرابیدوپسیس [۲۲] در بردباری به مس نشان داده شده است. برون تراوش کوتاه مدت یون پتاسیم نیز در دانه‌رست‌های بردبار آرابیدوپسیس به مس نیز مشاهده شده است [۲۲]. برون تراوش  $K^+$  می‌تواند از طریق انتشار از چربی دولایه غشا و یا از طریق کانال‌ها انجام گیرد. آسیب به چربی‌های غشا می‌تواند نتیجه‌ای از پراکسیداسیون آن‌ها در طی آسیب اکسیداتیو و احتمالاً تخریب غشا باشد که آن هم موجب نشت  $K^+$  به خارج از سلول می‌شود [۲۳].

یون‌های مس اضافی کمبود عناصر ضروری دیگر را به دلیل رقابت در جذب به وسیله ریشه همراه با مهار یون- فلز وابسته به واکنش‌ها القا می‌کند [۳۲]. کاهش معنی‌داری در محتوای پتاسیم، آهن، منیزیم و کلسیم در بافت‌های گیاه ذرت تحت تیمار مس دیده می‌شود. یون‌های مس تمایل به جانشینی یون‌های کلسیم فضای آزاد ریشه دارند [۱۱]. به هر حال، تغییرات در غلظت یون‌های کلسیم ممکن است پاسخ فیزیولوژیکی گیاه در مقابل سمیت فلز باشد [۸]، [۲۱]، [۲۷]. تعیین اثر مس در جذب و انتقال آهن نیز مشاهده شده است که به دلیل عدم توانایی  $Fe^{3+}$  در احیاء به  $Fe^{2+}$  است تا جذب و انتقال از ریشه [۲۶]. مس توانایی استخلاف منیزیم را نیز دارد. این عمل مخصوصاً در مولکول‌های کلروفیل رخ می‌دهد و موجب کاهش فتوسنتز در طی سمیت با مس می‌شود [۱۲].

<sup>۱</sup>. *Silene cucubalis*

<sup>۲</sup>. *Mimulus guttatus*

نتایج حاصل از اعمال توأم مس و EDTA نشان می‌دهد که این ماده می‌تواند اثر سمیت مس را کاهش داده و میزان نشت یون پتاسیم به محیط، به‌عنوان شاخص آسیب غشا، در طی اعمال فلز سنگین را کاهش و رشد طولی ریشه را هم افزایش دهد. شلاته‌کننده‌های سنتتیک فلزات سنگین مثل اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، برای زودن فلزات از خاک‌ها استفاده می‌شود. در بررسی‌هایی که برای اصلاح خاک‌های آلوده به فلز سنگین توسط گیاهان انجام یافته است نشان داده شده است که ظاهراً فلزات جذب گیاهانی می‌شود که آن‌ها را در خود به مقدار زیادی انباشته می‌کنند و با مواد شلاته‌کننده کمپلکس تشکیل می‌دهند. به هر حال به نظر می‌رسد که ریشه گیاهان این مولکول‌های بزرگ را به آسانی جذب می‌کنند ولی عقیده عمومی بر این است که گیاهان، شلاته‌کننده‌های سنتتیک و یون‌ها را واقعاً جذب نمی‌کنند. در حقیقت کاهش جذب فلز سنگین توسط گیاه در حضور شلاته‌کننده‌ها گزارش شده است در ضمن این که شلاته‌کننده‌ها موجب غیرمتحرک شدن فلز سنگین می‌شود. با شلاته شدن مس به این ترکیب، مس آزاد در بافت‌های گیاهی کاهش یافته و موجب می‌شود که آثار مسمویت مس نیز در گیاهان کمتر شود و در نتیجه تولید بیوماس بیش‌تر در گیاهان در نتیجه افزودن EDTA به محیط کشت مشاهده می‌شود که با نتایج حاصل "ناسیمنتو"<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۶ [۲۴] و "چین"<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۴ [۴] هم‌سویی نشان می‌دهد. لومبی<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کرده‌اند که EDTA تحرک فلز سنگین در خاک و جذب آن به وسیله ریشه‌ها را افزایش می‌دهد ولی افزایش مهمی در انتقال فلزات سنگینی مثل Pb، Zn، Cd و Cu در ساقه‌های ذرت نداده و مثل سدی انتقال این مواد به سیستم هوایی را کاهش می‌دهد پس EDTA در غلبه بر انتشار محدود شده فلزات به سطح ریشه‌ها بیش‌تر کارآمدتر است تا انتقال آن از ریشه‌ها به ساقه‌ها [۱۶].

بلی‌لاک<sup>۴</sup> و همکاران (۱۹۹۷) گفته‌اند که اعمال EDTA در خاک جذب فلز را در آلودگی چندگانه خاک افزایش می‌دهد. به هر حال، میکروارگانیزم‌ها شلاته‌کننده‌های سنتتیک مثل EDTA را کمتر تجزیه می‌کنند، و تهدیدی جدی برای محیط زیست به وسیله شست و شو دهنده‌های فلز بالاخص در ورود آن‌ها به آب‌های زیرزمینی و آلودگی بیش‌تر آن‌ها هستند [۳۱]، [۵]. این مواد دارای اثرات سوء در فلور میکروبی خاک نیز هستند [۳].

## منابع

- ۱- طیبیه فرودنیا، بررسی اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از آلودگی سرب بر دانه‌ست‌های ذرت، pH و EDTA بر تجمع سرب و مکانیسم‌های مقاومت ذرت در برابر آلودگی سرب. پایان نامه دوره دکترا. دانشگاه ارومیه گروه زیست‌شناسی (۱۳۸۳).
2. M.J. Blaylock, D.E. Salt, S. Dushenkov, O. Zakharova, and C. Gussman, Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. Environ. Sci. Technol. 31(1997) 860–865.

۱. Nascimento

۲. Chen

۳. Lombi

۴. Blaylock

3. L.A. Bouwman, J. Bloem, P.F.A.M. Romkens, and J. EDGA Japenga, amendment of slightly heavy metal loaded soil affects heavy metal solubility, crop growth and microbivorous nematodes but not bacteria and herbivorous nematodes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(2005) 271-278.
4. Y. Chen, X.D. Li, and Z.G. Shen, Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process. *Chemosphere*, 57(2004) 187-196.
5. J.G. Davis, L.R. Hossner, and N. Persaud, Elemental toxicity effects on the germination and growth of pearl millet seedlings, *Journal of Plant Nutrition*, 16(1993) 1957-1968.
6. C. De Vos, H. Schat, R. Vooijs, and W. Ernst, Copper induced damage to the permeability barrier in roots of *Silene cucubalus*. *J Plant Physiol* 135(1989) 164-165.
7. C. De Vos, Ten W. Bookum, R. Vooijs, H. Schat, and L. DeKok, Effect of copper on fatty acid composition and peroxidation of lipids in the roots of copper tolerant and sensitive *Silene cucubalus*. *Plant Physiol Biochem* 31(1993) 151-158.
8. W.H.O. Ernst, Schwermetallresistenz und mineralstoffhaushalt. *Forschungsberichte des Landes Nordrhein- Westfalen*. 2251(1972) 1-38.
9. M. Gierth, R. Stelzer, and H. Lehmann, An analytical micro scopical study on the role of the exodermis in apoplastic  $Rb^+/K^+$  transport in barley root. *Plant Soil*, 207(1998) 209-218.
10. B. Halliwell, and J.M.C. Gutteridge, Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease, *Biochem, J*. 219(1984) 1-14.
11. P. Jensen, and S. Adalsteinsson, Effects of copper on active and passive  $Rb^+$  influx in roots of winter wheat, *Physiol. Pl.* 75(1989) 195-200.
12. H. Kupper, F. Kupper, and M. Spiller, Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants, *Journal of Experimental Botany*, 47(1996) 259-266.
13. C.W. Lee, M.B. Jackson, M.E. Duysen, T.P. Freeman, and J.R. Self, Induced micronutrient toxicity in 'Towndown' Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 36(1996) 705-712.

14. T.M. Lexmond, and P.D.J. Vander Vorm, The effect of pH on copper toxicity to hydroponically grown maize, Netherlands Journal of Agricultural Science, 29 (1981) 209-230.
15. F. Lidon and F. Henriques, Effects of copper toxicity on growth and the uptake and translocation of metals in rice plants, J. Plant Nutr, 16 (1993) 1449–1464.
16. E. Lombi, F.J. Zhao, S.J. Dunham, and S.P. McGrath, Phytoremediation of heavy-metal contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. Journal of Environmental Quality, 30 (2001) 1919-1926.
17. J.F. Loneragan, The availability and absorption of trace elements in soil-plant system and their relation to movement and concentration of trace elements in plants-in trace in soil-plant-animal system, D.J.D. Nicholas, and A.R. Egan, EDS. Academic press, New York, 109(1975).
18. C.M. Luna, C.A. González, and V.S. Trippi, Oxidative damage caused by excess of copper in oat leaves. Plant Cell Physiol. 35 (1994) 11-15.
19. MR. Macnair, G.H. Tilstone, and S.E. Smith, The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants, In: Terry N, Banuelos G, eds. Phytoremediation of contaminated soil and water. CRC Press LLC (2000) 235–250.
20. H. Marschner, Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, (1995).
21. M. Moustakas, and G. Ouzounidou, Increased nonphotochemical quenching in leaves of aluminum-stressed wheat plants is due to  $Al^{3+}$ -induced elemental loss. Pl. Physiol Biochem. 32 (in press) (1995).
22. A. Murphy, and L. Taiz, Correlation between potassium efflux and copper sensitivity in ten *Arabidopsis* ecotypes. New Phytol, 136 (1997) 211-222.
23. A. Murphy, W. Eisinger, J. Shaff, L. Konchian, and L. Taiz, Early copper-induced leakage of  $K^+$  from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. Plant Physiol, 121 (1999) 1375-1382.
24. C.W.A. Nascimento, D. Amarasingwardena, and B. Xing, Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. Environmental Pollution, 140 (2006) 114-123.

25. G. Ouzounidou, Copper-induced changes on growth, metal content and photosynthetic functions of *Alyssum montanum* L. plants. *Envir. Exp. Bot.* 34 (1994) 165-172.
26. G. Ouzounidou, M. Ciamporova, M. Moustakas, and S. Karataglis, Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress I. Growth, mineral content and ultrastructure of roots. *Environ. Exp. Bot.* 35 (1995) 167-176.
27. G. Ouzounidou, E.P. Eleftheriou, and S. Karataglis, Ecophysiological and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae). *Canadian Journal of Botany*. 70 (1992) 947-957.
28. J.A. Raven, MCW. Evans, and RE. Korb, The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O<sub>2</sub>-evolving organisms. *Photosynth. Res.* 60 (1999b) 111-149.
29. F. Ren, T. Liu, H. Liu, and B. Hu, Influence of zinc on the growth, distribution of elements, and metabolism of one-year old American ginseng plants. *Journal of Plant Nutrition*, 16 (1993) 393-405.
30. S.M. Reichman The responses of plants to metal toxicity: a review focusing on copper, manganese and zinc. The Australian Minerals and Energy Environment Foundation (2002).
31. B. Sun, F.J. Zhao, E. Lombi, and S.P. McGrath, Leaching of heavy metals from contaminated soils using EDTA. *Environmental Pollution*, 113 (2001) 111-120.
32. F. Van Assche, and H. Clijsters, Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.* 13 (1990) 195-206.
33. F. Vinit-Dunand, D. Epron, B. Alaoui-sosse, and P.M. Badot, effect of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant science*, 163 (2002) 53-58.
34. J. Xu, L. Yang, Z. Wang, G. Dong, J. Huang, Wang. Y. Toxicity of copper on rice growth and accumulation of copper in rice grain in copper contaminated soil. *Hemosphere*, 62 (2006) 602-607.
35. J. Yang and K. Kuboi, Effects of Cd and Cu on the increment and assimilation of plant cells. *Acta Sci. Circum*, 11 (1991) 381-388 (in Chinese).
36. P.Y. Yau, C.F. Loh, and I.A.R. Azmil, Copper toxicity of clove [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and Perry] seedlings. *MARDI Research Journal*, 19 (1991) 49-53.