تغییرات ساختار برگ گونه *Hypericum perforatum* L. تحت تیمارسرب

سیما قلیچ[۱]، فاطمه زرین کمر*[۱،] و محمد حسین لباسچی[۲]

[۱] تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی

[۲] تهران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۲۱

چکیده

سرب از فلزات سنگینی است که موجب آلودگی محیط زیست شده و اثرات متعددی بر ساختار، رشد و تولید مثل گیاهان دارد. در این تحقیق اثر سرب بر ساختار تشریحی برگ گونه *Hypericum perforatum* L. مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور یک دسته از گیاهان تحت تیمار آلوده کردن خاک با سرب با غلظت های صفر، ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰و ۱۵۰۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک و گروه دیگر تحت تیمار محلول پاشی بر سطح برگ با غلظت های ۰/۷۲۴، ۱/۴۴و ۲/۹ میلی مولار به مدت ۱۴ روز در شرایط گلخانه ای قرار گرفتند. نتایج حاصل از مطالعات آناتومی و اندازه گیری های سلولی نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک، بیشترین تغییرات ساختاری در بافت های اپیدرم، مزوفیل و دستجات آوندی و کلانشِیم برگ ایجاد می شود. همچنین در تیمار محلول پاشی نیز سمیت سرب بافت های اپیدرم، مزوفیل و دستجات آوندی و کلانشِیم و کانال های ترشحی برگ را تحت تاثیر قرار می دهد.

واژه های کلیدی: گل راعی، سمیت سرب، آناتومی برگ

* نویسنده مسئول، تلفن: ۸۲۸۸۴۴۴۰، پست الکترونیکی: Zarinkamar@modares.ac.ir

مقدمه

فلز سرب یکی از فلزات سنگینی است که موجب آلودگی محیط زیست شده و با ایجاد آثار سمی شدید در انسان و دیگر جانداران خسارت های جدی به بار می آورد (۱۵). براساس داده های آژانس حفاظت محیط زیست (EPA) سرب مهم ترین فلز آلاینده در محیط زیست می باشد (۱۳). غلظت سرب در خاک های غیر آلوده در گستره ۱۰ –۱۵۰ mg/kg خاک است (۳)، لیکن حد مجاز آن در خاک براساس قوانین زیست محیطی و بهداشتی مناطق مختلف جهان ۵۰–۱۵۰ mg/kg خاک می باشد(۷). منابع عمده آلودگی سرب ناشی از دود خروجی از اگزوز وسایل نقلیه بنزین سوز، رنگ های صنعتی و پساب های خانگی و صنعتی است (۹). آلودگی سرب در محیط زیست باعث اثراتی از قبیل اختلال در جوانه زنی دانه، اختلال در میتوز، القای کلروز و نکروز در برگ، مهار رشد جوانه و ریشه، کاهش فتوسنتز وتنفس، کاهش سنتز DNA ، اختلال در توزیع مواد غذایی در گیاه، بر هم زدن تعادل آب در گیاه، تغییر در تعادل هورمونی گیاه، تغییر در قابلیت نفوذ پذیری غشای سلولی و مهار یا فعال سازی فعالیت های آنزیمی می شود (۱۹، ۱۳، ۱۱) .اختلالاتی که در اثر سمیت سرب در سطح سلولی در گیاه ایجاد می گردد عبارتند از : بی نظمی های میتوزی، چسبندگی کروموزوم ها و تخریب میکرو توبول های دوک میتوزی در مرحله پرومتافاز که در نهایت منجر به مهار تقسیم سلولی می گردد. همچنین غلظت های بالای سرب سبب اختلال در قابلیت نفوذ پذیری غشای پلاسمایی، تونوپلاست و غشای کلروپلاست می گردد (۱۳). سرب در فرآیندهای متابولیک یک عنصر

غیر ضروری است و ممکن است حتی در مقادیر بسیار کم هم برای موجودات زنده سمی و کشنده باشد. سرب علاوه بر اثراتی که بر روی ساختار، رشد و تولید مثل گیاهان دارد، وارد زنجیره غذایی نیز می شود و برای سلامتی انسان و جانوران هم خطرناک است. علیرغم اهمیت جهانی مساله آلودگی سرب هنوز نامشخص است که چه غلظت هایی از سرب سبب کاهش رشد گیاه می-گردد و متاسفانه مکانسیم های سمیت سرب در گیاهان به میزان کمی شناخته شده است. بنابراین، انجام مطالعات آناتومیکی و مشاهده تغییرات ساختاری در استرس سرب می‌تواند به فهم تاثیرات سمیت سرب در گیاهان بسیار کمک کند.

گل راعی، علف چای یا هوفاریقون با نام علمی *Hypericum perforatum* L. و اسامی انگلیسی چون St.John's Wort و Goat Weed، یکی از گونه های دارویی مهم جنس *Hypericum* می باشد. این گونه به طور طبیعی در اروپا، غرب سیبری تا شمال غرب چین، آسیای صغیر، شمال آفریقا، کانادا و استرالیا وجود دارد. در ایران نیز در نواحی شمالی، دامنه های البرز، استان های فارس، کهکیلویه و بویر احمد، لرستان و خراسان دیده می شود(۱۴). جنس Hypericum در ایران دارای ۱۷ گونه است، ولی تنها گونه با ارزش آن *Hypericum perforatum* L. می باشد (۱۴) .

این گونه، گیاهی است علفی و پایا، با ساقه ای راست که به گیاه حالت ایستاده می دهد. ساقه در طول دارای دو برآمدگی است که آن را از سایر گونه ها متمایز می کند (۲۰ ، ۶). برگ ها متقابل، بدون دمبرگ، بدون کرک، کشیده، با انتهای گرد و بدون بریدگی می باشند. بر روی برگ ها دو نوع نقاط تیره و روشن دیده می شود که از ویژگی های بارز این گونه است، نقاط روشن در تمام سطح برگ گسترش دارند و با قرار دادن برگ ها در مقابل نور به وضوح قابل مشاهده می باشند این نقاط روشن محل تجمع اسا نس هستند. علاوه بر نقاط روشن، نقاط تیره رنگی نیز در حاشیه برگ ها وجود دارند که محل تجمع هیپریسین هستند (۲۶) .ریشه اصلی این گونه به طور عمودی و تا عمق ۷۰ سانتیمتری خاک نفوذ می نماید و ریشه های فرعی در عمق ۵ تا ۸ سانتیمتری سطح خاک به طور جانبی رشد می کنند (۵). این گیاه از قدیم به عنوان یک گیاه دارویی مهم برای درمان زخم ها، درمان بیماری های عصبی مانند سیاتیک ، درمان بیماری های عفونی مانند سفلیس، سل، اسهال خونی و سیاه سرفه مورد استفاده بوده است. امروزه نیز در طب جدید از این گیاه مواد دارویی متعددی برای درمان سوختگی، میگرن و افسردگی تهیه می گردد (۱۷). همچنین از اوایل دهه ۹۰ آزمایشات بالینی در خصوص تاثیر هیپریسین در درمان بیماری های ایجاد شده توسط رتروویروس ها آغاز شده است و از این گیاه به عنوان یک انتخاب برای کنترل بیماری ایدز نام برده می شود (۱۰). گل راعی به عنوان یکی از منابع مهم رنگ در صنایع رنگرزی می باشد و برای رنگ آمیزی ابریشم و پشم به رنگ قرمزاستفاده می گردد. جوشاندن بخش رویشی این گیاه همراه با زاج سفید منجر به ایجاد رنگ زرد برای صنایع رنگرزی می گردد (۸).

با توجه به اهمیت گل راعی از لحاظ دارویی و صنعتی و از سوی دیگر افزایش روز افزون آلاینده های زیست محیطی از جمله فلزات سنگین در این تحقیق مطالعه تغییرات ساختاری این گونه تحت تنش فلز سرب با هدف درک بهتر مکانیسم های سمیت و سازگاری های ساختاری ایجاد شده برای مقابله با این سمیت مد نظر قرار گرفت.

مواد و روشها

کاشت و مراقبت از گیاهان: گلدان های حاوی بذرهای کاشته شده گل راعی کاشته شده در گلخانه در دمای حداکثر ۲۸ درجه سانتی گراد و حداقل ۱۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و ابتدا به مدت یک ماه با مه پاش آبیاری شدند. پس از یک ماه، آبیاری آنها هر دو روز با توجه به

ظرفیت مزرعه گلدان های مورد نظر به میزان ۱۵۰ میلی لیتر صورت گرفت.

آلوده کردن خاک: غلظت آلاینده با توجه به حد مجاز سرب در خاک انتخاب شد، به گونه ای که دامنه ای از غلظت صفر آن فلز تا چندین برابر غلظت مجاز را بپوشاند. غلظت مجاز سرب از ۵۰ تا ۱۵۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک است. بنابراین، غلظت ها به صورت صفر، ۷۵، ۱۵۰،۳۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰و ۱۵۰۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک انتخاب شدند و ازهرغلظت نیز ۳ تکرار در نظر گرفته شد. برای آلوده کردن خاک، ابتدا مقدار لازم نمک نیترات سرب $Pb(No_3)_2$ برای آلوده کردن جرم مشخصی از خاک محاسبه شد. سپس، جرم محاسبه شده ی نمک به یک کیلو گرم از خاک افزوده شد و کاملا با آن مخلوط گردید تا پیش ماده ای همگن به دست آید. این پیش ماده-ی آلوده سپس کاملا با توده خاک مخلوط گردید. پس از آن خاک های آلوده تقریبا تا رطوبت اشباع آبیاری و به مدت دو هفته رها شدند تا در حد امکان برهم کنش های آلاینده و خاک صورت پذیرد و شرایط آلودگی طبیعی تر باشد.

اعمال تیمارها

تیمار آلوده کردن خاک : پس از رسیدن گیاهان به مرحله بلوغ و کامل شدن دوره رشد رویشی آنها، نشا گیاهان از خاک های غیر آلوده به خاک های آلوده انتقال یافتند. تیمار به مدت ۱۴ روز اعمال شد و پس از این مدت نمونه های شاهد و تیمار همگی از خاک خارج شده و برای ادامه مطالعات به آزمایشگاه منتقل شدند.

تیمار محلول پاشی بر سطح برگ: به منظور تهیه غلظت های مختلف سرب برای محلول پاشی برگ، ابتدا محلول استوک با ۱۰ برابر غلظت بیشترین تیمار، تهیه شد و سپس محلول هایی با غلظت های۰/۷۲۴، ۱/۴۴و ۲/۹ میلی مولار ازآن تهیه گردید. در مرحله بعد این محلول ها به وسیله مه پاش بر روی هر دو سطح فوقانی و تحتانی برگ نمونه ها محلول پاشی شد. پس از ظهور علائم سمیت از هر یک از گیاهان نمونه برداری و عکس برداری انجام شد. پس از پایان دوره تیمار نمو نه های شاهد و تیمار همگی از خاک خارج شده و برای ادامه مطالعات به آزمایشگاه منتقل شدند.

مطالعات آناتومی

تهیه برش از نمونه ها: از نمونه های فوق برای بررسی و مطالعات آناتومی با میکروسکوپ نوری برش گیری شد. برای این منظور نمونه ها از الکل خارج ودر ظرف محتوی آب مقطر قرار گرفت.

برش گیری از برگ ها به روش دستی و در ۳ تکرار انجام شد. در مرحله بعدی برش های تهیه شده رنگ آمیزی شد.

رنگ آمیزی برش ها: مراحل مختلف رنگ آمیزی برش ها به شرح زیر می باشد:

۱- تخلیه ترکیبات درون سلول: بدین منظور برش ها به مدت ۳۰ تا ۱۵ در محلول هیپوکلریت سدیم قرار گرفت.

۲- شستشو با آب مقطر (۴-۳ بار) : جهت خروج کامل هیپوکلریت سدیم از برش ها برای رنگ آمیزی بهتر، نمونه ها چندین بار با آب مقطر شسته شد.

۳- رنگ آمیزی با کارمن زاجی: در این مرحله برش های تهیه شده از برگ، ساقه و ریشه به مدت ۳۰ تا ۴۰ دقیقه در محلول کارمن زاجی قرار گرفت. این رنگ بافت های سلولزی نمونه ها را به رنگ ارغوانی در می آورد.

۴- شستشو با آب مقطر

۵- رنگ آمیزی با سبز متیل: برای رنگ آمیزی بافت های چوبی نمونه ها ۳ تا ۲ ثانیه درمحلول سبز متیل قرار داده شد. این رنگ بافت های با دیواره چوبی را به رنگ سبز در می آورد.

۶- شستشو با آب مقطر: پس از رنگ آمیزی، نمونه ها بر روی لام قرار گرفته و عکس برداری با میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتالی و با بزرگ نمایی های مختلف انجام شد.

پس از این مراحل نمونه بر روی لام قرار گرفته و چند قطره ژلاتین روی آن گذاشته شد، سپس لامل با دقت روی آن قرارگرفت، این کار باید سریع انجام شود تا حباب هوا تشکیل نشود. بدین ترتیب لام های ثابت از نمونه ها تهیه شد.

لام های تهیه شده تحت مطالعات میکروسکوپی با میکروسکوپ Olympus مدل BH2 ساخت کشور ژاپن قرار گرفت و اندازه گیری ها در سطح سلول به وسیله نرم افزار Measurement انجام گردید.

آنالیزآماری: این تحقیق در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد. همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت پذیرفت.

نتایج

علائم تغییرات مورفولوژیکی برگ ناشی از سمیت سرب

تیمار آلودگی خاک : این علائم عبارت بودند از: چروکیدگی ، خشک شدن و قهوه ای شدن برگ ها، ظهور نقاط نکروتیک در نوک برگ ها و خمیدگی راسی ساقه (شکل۱) . در روز سوم تیمار اولین علائم سمیت در ۲ تکرار از تیمار mg/kg ۱۵۰۰ مشاهده شد. در روز ششم این علائم در تیمارهای mg/kg ۱۰۰۰ و۸۰۰ مشاهده شد و در روز هشتم نیزاین علائم در ۲ تکرار از تیمارmg/kg ۶۰۰ مشاهده گردید. همه تکرارهای تیمارهای mg/kg ۱۵۰۰ و ۸۰۰،۱۰۰۰ تا پایان دوره تیمار(روز چهاردهم) خشک شده و از بین رفتند. تکرارهای تیمارهای mg/kg ۶۰۰ و ۳۰۰ تا حدی علائم سمیت را نشان دادند و تیمارهای mg/kg ۱۵۰ و ۷۵ هیچگونه علائم سمیتی را بروز نداده و مانند نمونه های شاهد به رشد خود ادامه دادند.

تیمارمحلول پاشی: نمونه های تحت تیمار mM ۰/۷۲۴ علائم را در سطح بسیار محدودی نشان داده و یا اصلا علائمی را نشان ندادند. نمونه های تیمارmM ۴۴ /۱ در روز هشتم تیمار و نمونه های تیمارmM ۲/۹ در روز ششم اولین علائم سمیت را بروز دادند .

علائم مشاهده شده در عبارت بودند از: نکروز و سیاه شدن برگ ها و گسترش نکروز از نوک برگ به تمام سطح آن، جمع شدن و چروکیدگی برگ ها و خم شدن راسی ساقه (شکل ۱) .

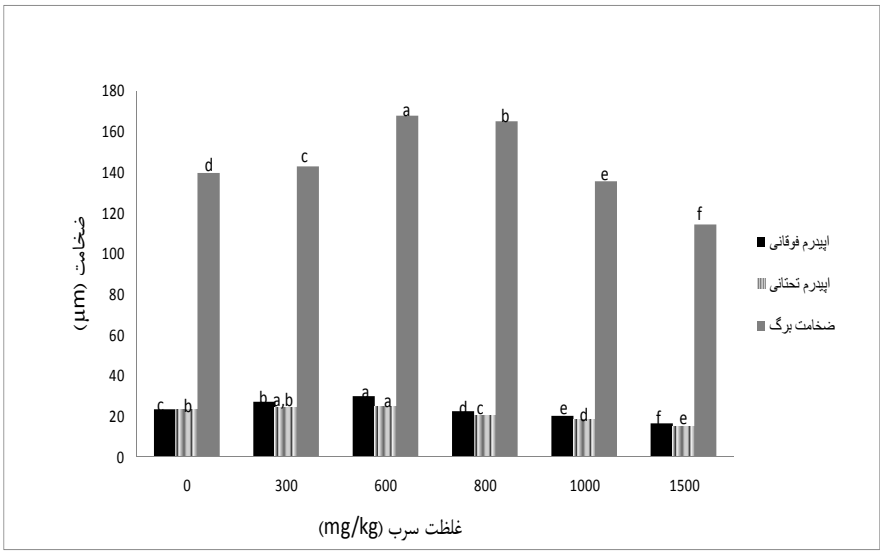
نتایج علائم تغییرات آناتومیکی برگ ناشی از سمیت سرب

تیمارآلودگی خاک: نتایج حاصل از اندازه گیری های سلولی بر روی بافت های مختلف برگ در نمونه های شاهد و تیمار حاکی از تفاوت معنی دار ضخامت برگ، کوتیکول، اندازه سلول های اپیدرم فوقانی و تحتانی، مزوفیل نردبانی و اسفنجی، قطر رگبرگ اصلی، ضخامت آوند چوبی وآوند آبکشی در سطح یک درصد بود ، اما قطر کانال ترشحی در تیمارهای مختلف و نمونه شاهد تفاوت معنی داری نداشت.

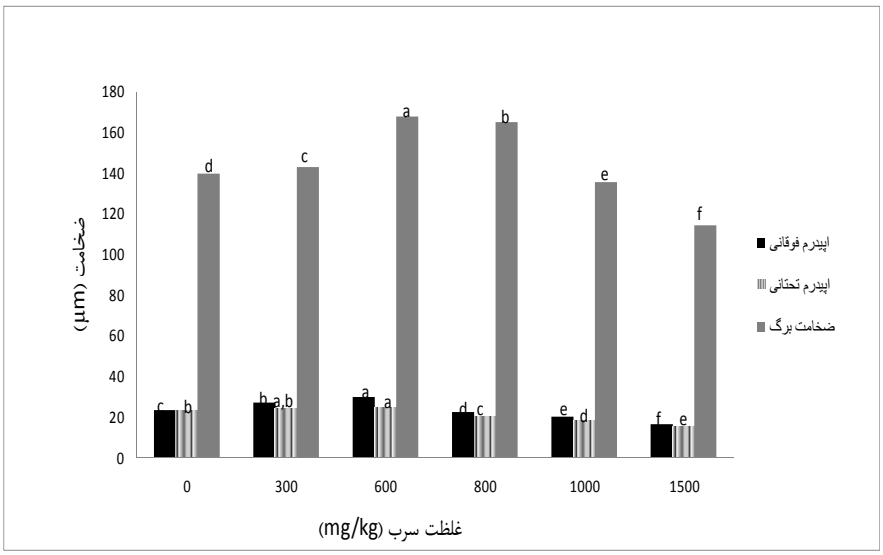
ضخامت پهنک برگ و اندازه سلول های اپیدرم فوقانی و تحتانی با افزایش غلظب سرب تا mg/kg ۶۰۰ افزایش می یابد و ازآن به بعد تا غلظت mg/kg ۱۵۰۰ سرب در خاک کاهش می یابد (شکل۳). ضخامت کوتیکول فوقانی وتحتانی ، قطر رگبرگ اصلی و دستجات آوند چوب و آبکش با افزایش غلظت سرب افزایش می یابد. (شکل۲ و ۴). اندازه بافت مزوفیل نردبانی و اسفنجی تا غلظت mg/kg ۸۰۰ افزایش می یابد اما پس از آن تا غلظت mg/kg ۱۵۰۰ سرب در خاک کاهش می یابد. قطر کانال

ترشحی تا غلظت mg/kg ۶۰۰ افزایش می یابد و ازآن به بعد تا غلظت mg/kg ۱۵۰۰ سرب در خاک کاهش می یابد ولی این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نیست (شکل۳).

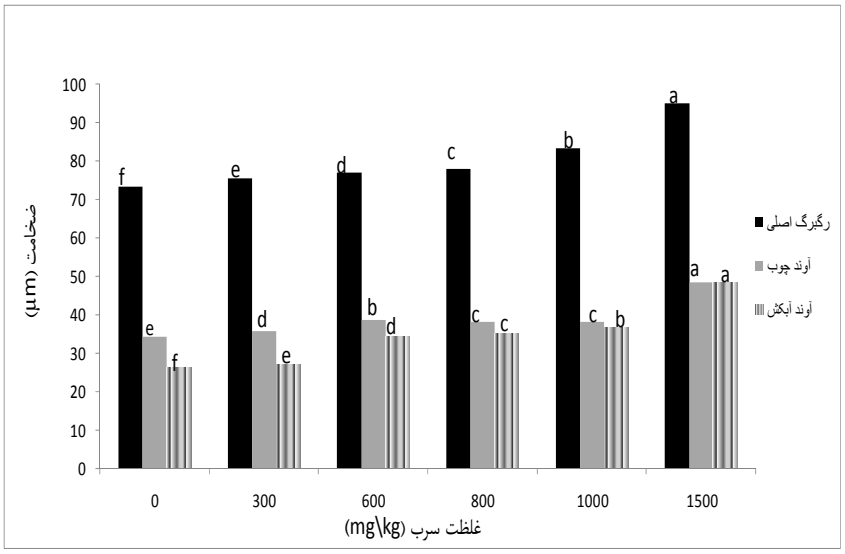
شکل ۱- A : برگ شاهد، B و C: علائم ظاهری سمیت سرب در برگ



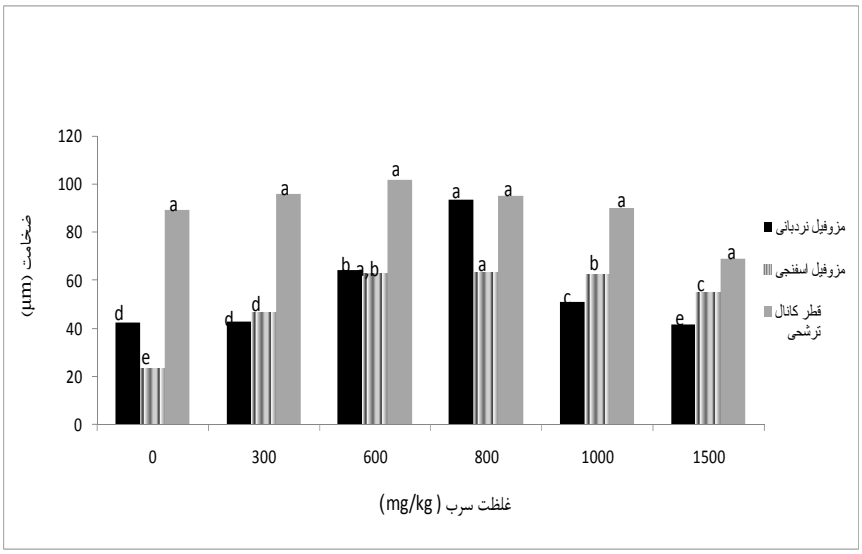
شکل ۲- تغییرات ضخامت کوتیکول فوقانی وتحتانی برگ در تیمارآلودگی خاک



شکل ۳- تغییرات ضخامت برگ، اپیدرم فوقانی و تحتانی برگ در تیمار آلودگی خاک



شکل ۴- تغییرات رگبرگ اصلی، آوند چوب و آبکش برگ در تیمار آلودگی خاک



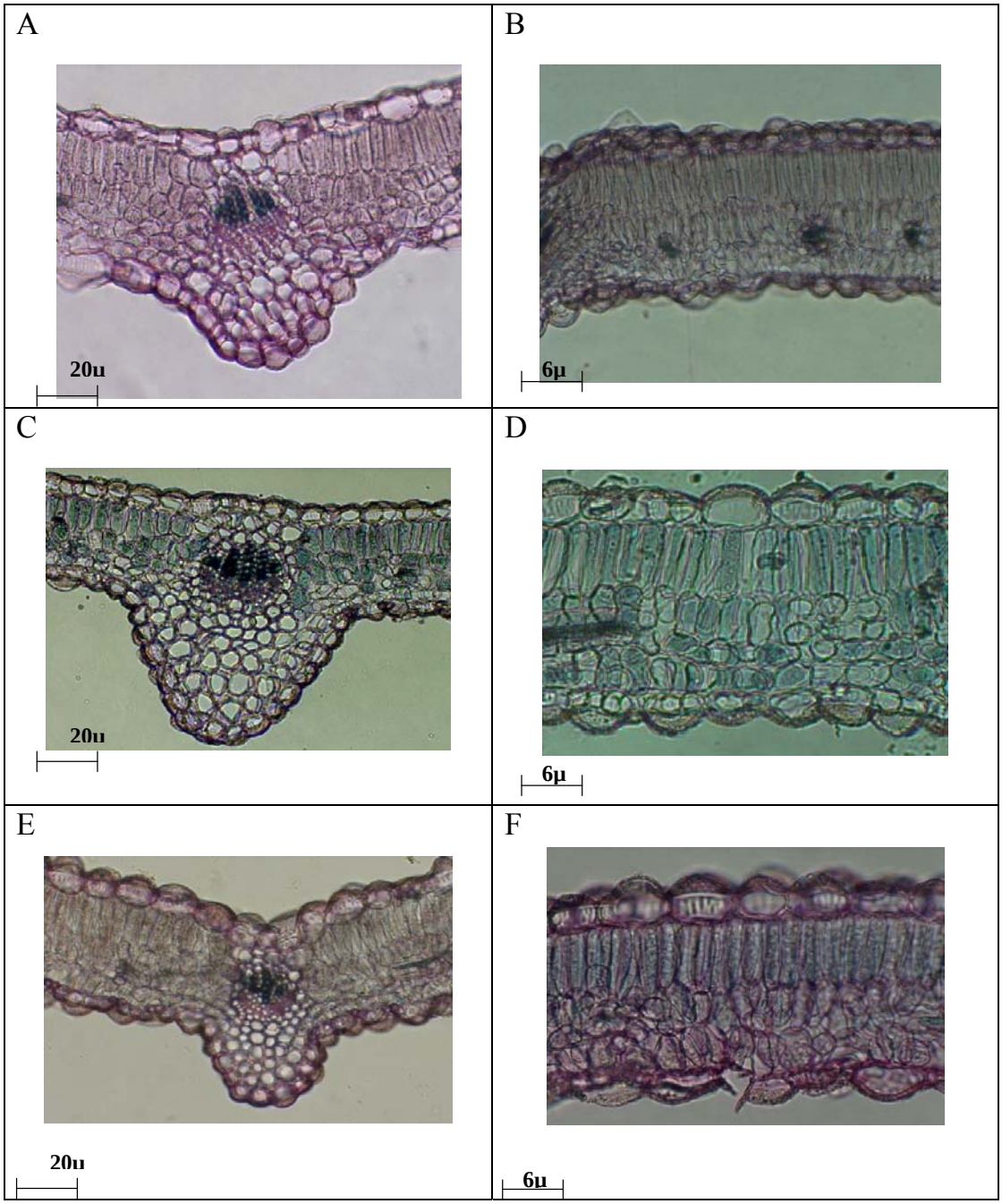
شکل ۵- تغییرات کانال ترشحی، مزوفیل اسفنجی و نردبانی برگ در تیمار آلودگی خاک

تیمارمحلول پاشی: نتایج حاصل از اندازه گیری های سلولی بر روی قسمت های مختلف برگ در نمونه های شاهد و تیمار حاکی از تفاوت معنی داراندازه کوتیکول فوقانی و تحتانی، سلول های اپیدرم فوقانی و تحتانی ، مزوفیل نردبانی و اسفنجی، قطر کانال ترشحی، قطر رگبرگ اصلی، ضخامت آوند چوبی وآوند آبکش در سطح یک درصد بود ، اما ضخامت برگ در تیمارهای مختلف و نمونه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. مقایسه نتایج حاصل از مطالعات برش عرضی برگ نشان داد که ضخامت کوتیکول فوقانی و تحتانی با افزایش غلظت سرب به طور معنی داری افزایش یافت (شکل۷).

ضخامت برگ با افزایش غلظت سرب افزایش یافت، اما اندازه سلول های اپیدرم فوقانی و تحتانی کاهش یافت (شکل۸).

با افزایش غلظت سرب ضخامت مزوفیل نردبانی کاهش و مزوفیل اسفنجی افزایش یافت. قطر کانال ترشحی نیز در تیمار ۰/۷۲۴ میلی مولار نسبت به نمونه شاهد افزایش

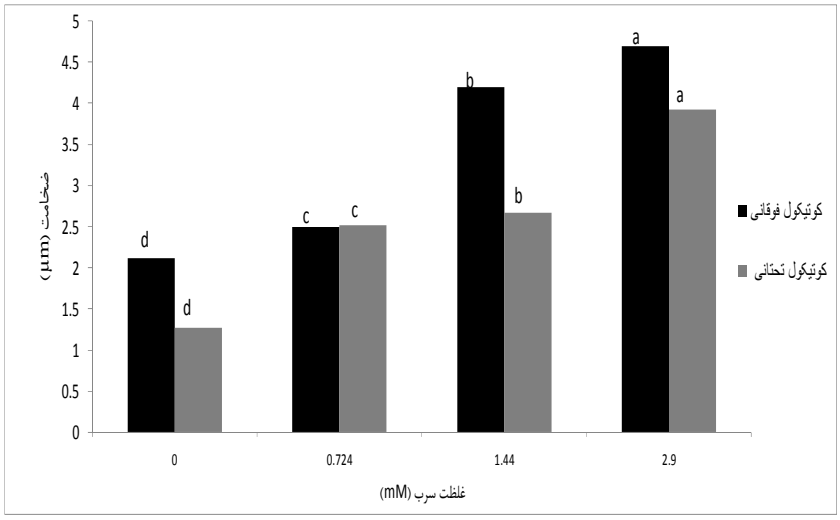
یافت اما از آن به بعد تا غلظت ۲/۹ میلی مولار رو به کاهش گذاشت (شکل۹). قطر رگبرگ اصلی در هر سه تیمار ۰/۷۲۴، ۱/۴۴ و ۲/۹ میلی مولار سرب تفاوت معنی داری نداشت اما نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. اندازه بافت آوند چوب با افزایش غلظت سرب به طور معنی داری کاهش یافت اما اندازه بافت آوند آبکش از لحاظ آماری تفاوت معنی داری نداشت (شکل۱۰).



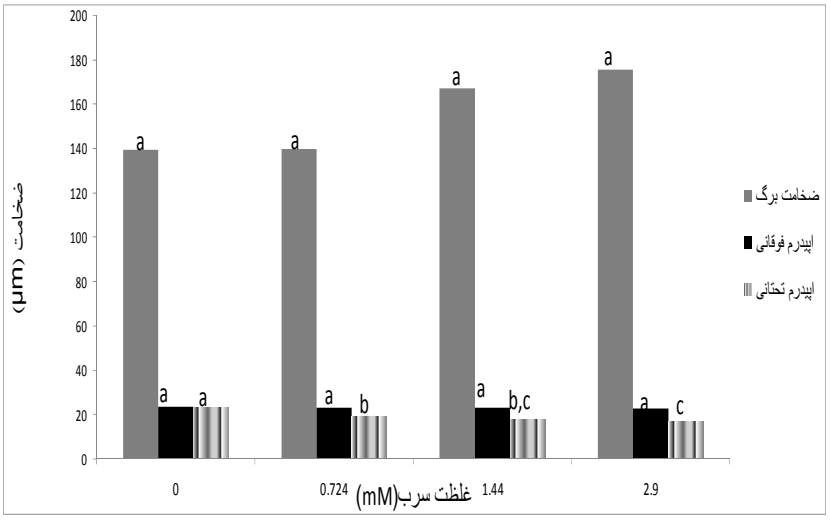
شکل۶- تصاویر برش عرضی برگ تحت تیمارهای سرب در خاک

A,C,E: رگبرگ اصلی و بافت کلانشیم، A: شاهد، C: ۶۰۰mg/kg، E:۱۵۰۰ mg/kg

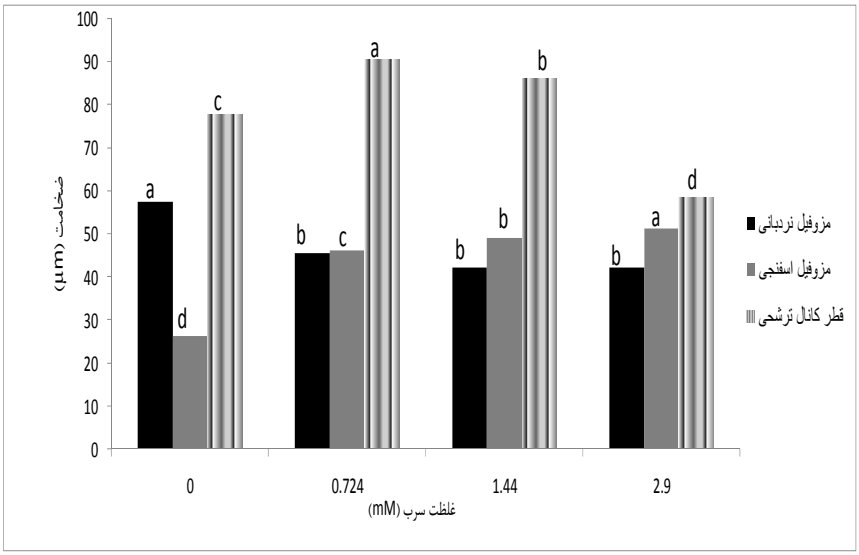
B,D,F: اپیدرم فوقانی،اپیدرم تحتانی وبافت مزوفیل ,B: شاهد، D: ۶۰۰mg/kg، F:۱۵۰۰ mg/kg



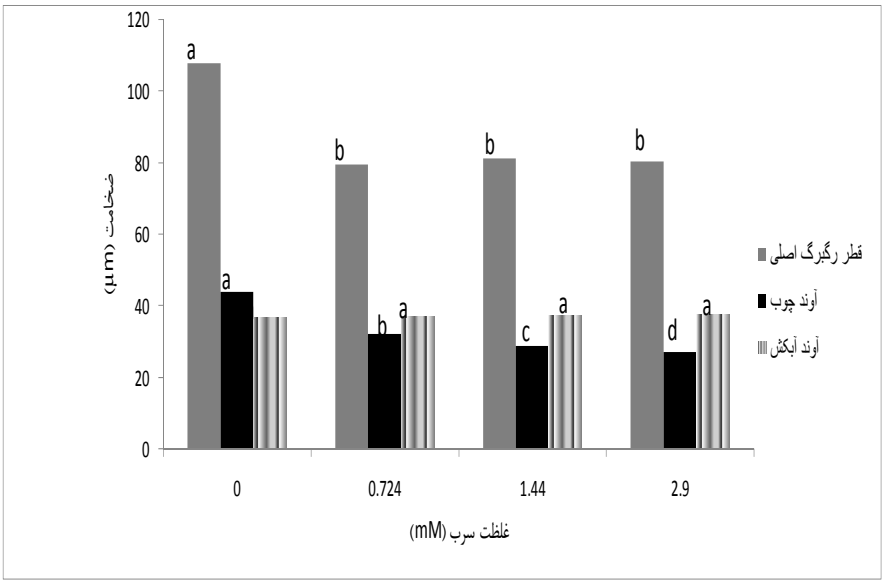
شکل ۷- تغییرات ضخامت کوتیکول فوقانی وتحتانی برگ در تیمارمحلول پاشی



شکل ۸- تغییرات ضخامت برگ ، اپیدرم فوقانی وتحتانی برگ در تیمارمحلول پاشی



شکل ۹- تغییرات کانال ترشحی، مزوفیل اسفنجی و نردبانی برگ در تیمارمحلول پاشی



شکل ۱۰- تغییرات رگبرگ اصلی، آوند چوب و آبکش برگ در تیمار محلول پاشی

بحث

علائم مورفولوژیک در هر دو تیمار آلودگی خاک و محلول پاشی بر سطح برگ مشابه و شامل چروکیدگی، ، بروز نکروز در نوک برگ های جوان و گسترش آن به تمام سطح برگ، قهوه ای یا سیاه شدن برگ های مسن و خمیدگی راسی ساقه بود. در گونه های گیاهی مختلف علائم مورفولوژیک یکسانی در سمیت سایر فلزات سنگین نیز گزارش شده است. نکروز و تغییر رنگ برگ ها شایع ترین علامت سمیت فلزات سنگین می باشد که به ترتیب به علت تولید انواع فعال اکسیژن، تخریب سلول ها، کاهش فتوسنتز و افزایش ترکیبات فنولی است(۲۴ ،۱،۲۳). آلودگی سرب در محیط رشد گیاهان اغلب منجر به کاهش تقسیم سلولی، تخریب هسته سلول ها ،زردی برگ های جوان و کاهش میزان فتوسنتز می گردد(۱،۲).

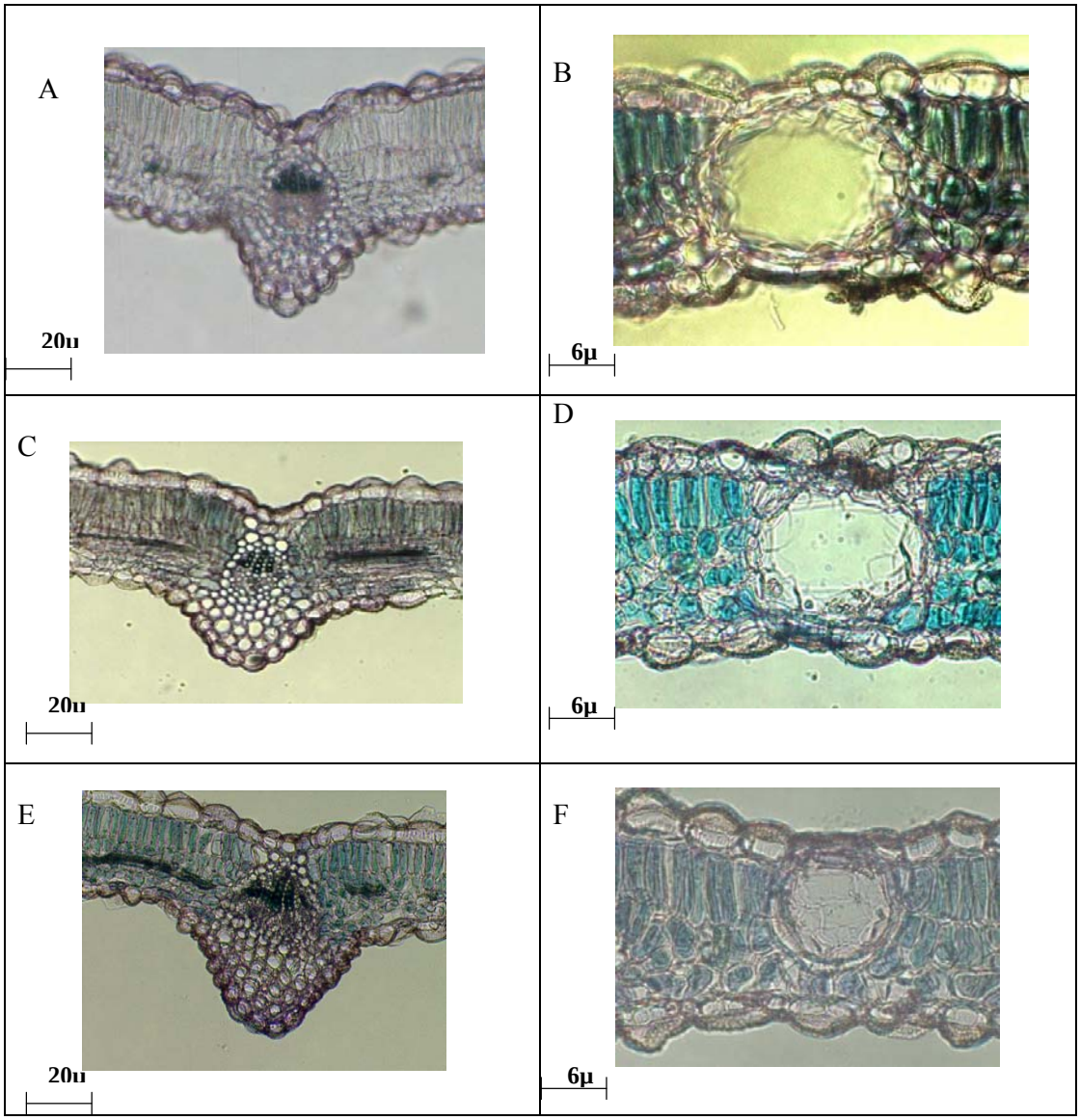
جذب و تجمع فلزات در غلظت های بالا منجر به تغییرات ساختاری و فراساختاری می گردد. در میان اندام های گیاهی برگ ها در مقابل استرس های محیطی حساس تر می باشند، اما در عین حال از انعطاف پذیری بیشتری برای سازگاری با شرایط محیطی نیز برخوردارند.

تغییرات محیطی به طورعمده منجر به تغییرات آناتومیکی از قبیل تغییر در ضخامت برگ، سلول های اپیدرمی، مزوفیل نردبانی و اسفنجی و فضاهای بین سلولی می گردد (۱۳) .مطالعات آناتومی و نتایج اندازه گیری های سلولی در این مطالعه نیز نشان دهنده این است که عمده تغییرات ایجاد شده در هر دو نوع تیمار در بافت های گفته شده ایجاد شده است.

تجمع فلزات سنگین سبب ایجاد تغییرات متفاوتی در بافت های مشابه در گیاهان مختلف می گردد. نتایج مطالعات گذشته نشان می دهد که تجمع فلزاتی از قبیل کادمیم، سرب و نیکل باعث کاهش اندازه بافت مزوفیل و اندازه سلول های اپیدرمی می گردد (۱۲)، اما افزایش غلظت منیزیم باعث افزایش ضخامت پهنک و بافت مزوفیل می گردد (۱۶).

تیمارهای فلزات سنگین منجر به ظهور علائمی شبیه به علائم استرس خشکی از قبیل افزایش ضخامت پهنک و مزوفیل نردبانی، افزایش اندازه سلول های اپیدرم فوقانی، افزایش تعداد روزنه ها و کاهش قطر دهانه آنها در ساختار برگ می شود (۴). فراوان بودن بافت مزوفیل نردبانی ،

برگ را در مقابل استرس کم آبی محافظت می کند (۲۲) و همچنین منجر به افزایش جذب سطحی CO_2 می گردد (۱۸). بنابراین ظهور اشکال زروفیت در ساختار برگ به منظور کاهش هدایت آب و CO_2 در برگ است که این امر منجر به کاهش تعرق و کاهش سرعت فتوسنتز در برگ های تحت تیمار فلزات سنگین می شود.



شکل ۱۱- – تصاویر برش عرضی برگ تحت تیمارمحلول پاشی سرب

A,C,E: رگبرگ اصلی و بافت کلانشیم، A: ۰/۷۲۴میلی مولار ، C: ۱/۴۴میلی مولار، E: ۲/۹میلی مولار

B,D,F: اپیدرم فوقانی،اپیدرم تحتانی وبافت مزوفیل و کانال ترشحی

B: ۰/۷۲۴میلی مولار ، D: ۱/۴۴میلی مولار، F: ۲/۹میلی مولار

همچنین گزارش شده است که با افزایش غلظت کادمیم، طول روزنه ها و اندازه سلول‌های اپیدرم فوقانی همانند ضخامت برگ و مزوفیل نردبانی افزایش می یابد (۴). یکی از تفاوت های عمده آناتومیکی مشاهده شده در این مطالعه

تغییرات قطر کانال های ترشحی برگ در دو تیمار اسپری و آلودگی خاک بود. درآلودگی خاک قطر کانال های ترشحی در غلظت های مختلف سرب تفاوت معناداری نداشت اما در تیمار اسپری با افزایش غلظت سرب قطر کانال های ترشحی کاهش یافت.

گزارش شده است که اپیدرم برگ، بافت های نگهدارنده و آوندهای برگ مکان های ذخیره فلزات می باشند و مکان ذخیره فلزات در سلول ها نیز واکوئل ها می‌باشند. در اثر ذخیره سازی فلزات تعداد واکوئل های سلول افزایش یافته و این امر موجب افزایش اندازه سلول ها می گردد (۲۵ و ۲۴). بنابراین افزایش اندازه سلول ها در بافت های مختلف برگ که در این مطالعه مشاهده شد می تواند به دلیل افزایش تعداد واکوئل ها در اثر تنش فلز سرب باشد. فضاهای بین سلولی و بافت کلانشیم از مکان های عمده تجمع فلزات سنگین در گیاهان هستند (۲۴). به نظر می رسد که افزایش فضاهای بین سلولی و بافت کلانشیم در غلظت های ۱۰۰۰و ۱۵۰۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک آلوده و ۲/۹ میلی مولار سرب در محلول پاشی یک مکانیسم مقاومتی در مقابل افزایش غلظت سرب و تجمع آن در بافت های برگ باشد.

منابع

۱- مینویی س ، مینایی تهرانی د ، سمیعی ک ، فریور ش (۱۳۸۷) مطالعه تغییرات ماکروسکوپی و میکروسکوپی تأثیر فلز کادمیوم بر گیاه گندمی(*Chlorophytum comosum*). مجله زیست شناسی ایران. جلد۲۱. ۷۴۷-۷۳۷.

۲- حیدری ر ، خیامی م ، فربودنیا ط (۱۳۸۴) اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از آلودگی سرب در دانه رستهای زیست شناسی ایران. جلد.۱۸,۲۳۶-۲۲۸ مجله (*Zea mays* L.).ذرت

3- Alloway, B.J. (1990) Heavy metals in soils: Lead. Black and Glasgow. Ltd. London.177-196.

4- Cai, Q. and Shi, G. (2009) Leaf plasticity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to heavy metal stress. Environmental and Experimental Botany 67: 112–117.

5- Campbell, M.H., Briese, D.T and Delfosse, E.S. (1995) *Hypericum perforatum* L. Biology of Australian weeds. 1: 149-167.

6-Campbell, M.H., May, C.E., Southwell, I.A., Tomlinson, J.D and Michael, P.W. (1997) Variation in *Hypericum perforatum* L. in new south wales. Plant Protection Quaterly. 12(2): 259-266.

7-Cariny, T. (1995) The re-use of contaminated land. John Wiley and Sons Ltd. Publisher. 219.

8-Duke, J. (1991) CRC Handbook of Medicinal Herb. CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida. 677.

9-Harrison, R. M. and Laxen, D. P. H. (1977) A comparative study on methods for soil analysis of total lead in soil. Water, Air& Soil Pollution. 8: 387-392.

10- Husnu, K. (1997) Industrial Utilization of Medicinal and Aromatic plant. Acta Hort. 503:177-192.

11- Kopittke, M., Asher, P. J., Mensies, N. (2007) Toxic effect of Pb^{2+}on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). Environmental pollution. 10: 1-8.

12-Kova¡civic, G., Kastori, R., Merkulov, L. (1999) Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead, and nickel. Biol. Plant. 42: 119– 123.

13-Li, Q., Yu, L., Deng, Y., Li, W., Li, M., Cao, J. (2007) Leaf epidermal characters of *Lonicera japonica* and *Lonicera confuse* and their ecology adaptation. J. For. Res. 18: 103–108.

14-Mozafarian, V. (1996), A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser Publisher.

15- Pais, I and Jones, J. (2000) The Handbook of Trace elements. St. Lucie Press. 115-116.

16- Papadakis, I.E., Giannakoula, A., Therios, I. N., Bosabalidis, A.M., Moustakas, M., Pellet, D. M., Grunes, D. L., Kolochian, L. V. (1995) Organic acid exudation as an aluminium-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.) Planta. 196: 788-795.

17- Radusiene, J. and Bagdonaite, E. (2001) Phenotypic Variation in *Hypericum Perforatum* L. and *H. maculatum* crantz Wild Populations Lithuania. The

18-Rhizopoulou, S., Psaras, G.K. (2003) Development and structure of drought- tolerant

leaves of the Mediterranean shrub *Capparis spinosa* L. Ann. Bot. 92: 377– 383.

19- Sharma, P and Dubey, R. (2005) Lead toxicity in plant. Plant physiology. 17: 32-52 .

20- Schulz, V., Hansel, R. and Tyler, V. E. (1998) Rational phytotherapy. Springer- Verlag. Berlin Heidelberg.

21- Shepherd, T. and Griffiths, D. (2006) The effects of stress on plant cuticular Waxes. New Phytologist 171: 469–499.

22- Terashima, I. (1992) Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis. Photosynthesis

23-Tukiendorf, A., Wojcik, M.,Vongronsveld, J., Dhaen, J. (2005) Cadmium tolerance in *Thlaspi caerolescens* .II. Localization of cadmium in *T. caerolescens*. Environmental and Experimental Botany. 53: 163-171.

24-Vollenweider, S., Cosio, C., Gunthardt-Georg, M., Keller, C. (2006) Localization and effects of cadmium of cadium- tolerant willow (*Salix viminalis*) II. Microlocalization and cellular effects of cadmium. Environmental and Experimental Botany. 58: 25-40.

25-Vollenweider, S., Cosio, C., Keller, C. (2006) Localization and effects of cadmium of cadium- tolerant willow (*Salix viminalis*) I. Macrolocalization and phytotoxic effects of cadmium. Environmental and Experimental Botany. 58: 64-74.

26-Zarinkamar, F (2008). Iranian Atlas of Foliar Anatomy. Tehran: Noorbakhsh, Press.

Effects of lead toxicity on foliar anatomy in *Hypericum perforatum* L.

Ghelich S.[1], Zarinkamar F.[1] and Lebaschi M.H.[2]

[1]Plant Science Dept., Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University,Tehran, I.R. of Iran

[2]Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Lead is one of the hazardous heavy metals environmental pollutants. According to the environmental protection agency (EPA), Pb is the most common heavy metal contaminant in the environment. The current study was undertaken to determine the effects of Pb toxicity in leaves of *Hypericum perforatum* L. Plants divided to 2 groups that first group treated by contaminant soils with 75, 150, 300, 600, 800, 1000, 1500 mg\kg Pb in soil and second group treated by foliar spray with 0.724, 1.44 and 2.9 mM Pb. This experiment was conducted under greenhouse condition. Results indicated that most of structural changes in soil pollution have been happened in epiderm, mesophyll, collanchyma and vascular bundles tissues. In foliar spray also epiderm, mesophyll, collanchyma and vascular bundles and secretory cavities have been changed.

Keywords: *Hypericum perforatum* **,** Lead, Leaf anatomy, Toxicity