

اثر غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم بر رشد و محتوای برخی از آنتی‌اکسیدانها در گیاه ذرت (*Zea mays* L.)

رمضانعلی خاوری نژاد^{۱،۲*}، فرزانه نجفی^۱ و فهیمه اصلانی^۱

^۱ تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی

^۲ تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۸

چکیده

فلزات سنگین به گروهی از عناصر با وزن مولکولی بالاتر از ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب گفته می‌شود. وجود فلزات سنگین در محیط بر روی فرایندهای فیزیولوژی و رشد گیاه اثر می‌گذارد. کروم یک فلز تغییرپذیر از گروه ۶B جدول تناوبی است که به‌عنوان هفتمین عنصر فراوان در پوسته زمین و به‌عنوان یک فلز سمی برای گیاهان و میکروارگانیسم‌ها شناخته شده است. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش سطح دی کرومات پتاسیم (شامل صفر، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک) و چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه خوارزمی انجام شد. بعد از ۳۸ روز گیاهان برای آنالیزهای بیوشیمیایی برداشت شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کروم وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی کاهش می‌یابد. علاوه بر این، محتوای کلروفیل‌های *a* و *b* و کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئیدها، نسبت رشد گیاه و محتوای نسبی آب برگ بطور معنی‌داری کاهش یافت، در حالیکه محتوای فلاونوئیدها، آنتوسیانین و پرولین افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: کروم، نسبت رشد، کلروفیل، کاروتنوئید، پرولین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۷۳۰۱۱۲۰، پست الکترونیکی: ra_khavarinejad@yahoo.com

مقدمه

می‌شود، همچنین کلروز برگها و کاهش فعالیت آنزیم‌ها نیز مشاهده شده و نهایتاً منجر به مرگ گیاه می‌شوند (۱۸). کروم بعنوان دومین فلز آلوده کننده در آب و خاک شناخته شده است (۲۷). تولید جهانی کروم در حدود $۱۰^۷$ تن در هر سال می‌باشد، که ۷۰-۶۰٪ آن در صنعت تولید فولاد و ۱۵٪ آن در فرایندهای صنعتی شیمیایی از قبیل صنعت دباغی، رنگرزی و الکتروپلاتینگ استفاده می‌شود (۳۲). کروم یک فلز سمی و غیرضروری برای گیاهان است، از این رو مکانیسم ویژه‌ای برای انتقال کروم در گیاهان وجود ندارد (۵۲). جذب یونهای کروم با استفاده از انتقال دهنده‌های درون غشایی مشابه یونهای غذایی دیگر از قبیل منگنز، گوگرد، آهن و فسفر صورت می‌گیرد (۵۷).

در سالهای اخیر توجه به فلزات سنگین در خاکها بدلیل اثرات نامطلوب بر فعالیتهای متابولیکی و فیزیولوژیکی موجودات زنده افزایش یافته است (۱۸). فلزات سنگین بطور کلی به گروهی از عناصر با ویژگیهای فلزی از قبیل تورق، رسانایی، استحکام و غیره گفته می‌شود (۲۵). اگرچه این عناصر در کل پوسته‌ی زمین وجود دارند، اما غلظت و قابلیت دسترسی آنها در آب و خاک از ۱۰۰۰ppm تا ۱۰۰ppb متغیر می‌باشد، به استثنای منگنز که غلظت آن در خاک از ۲۰ppm تا ۱۰۰۰۰ppm می‌باشد. وجود فلزات سنگین در محیط بر روی فرایندهای فیزیولوژیکی و رشد گیاه اثر می‌گذارد و باعث کاهش رشد، بیومس گیاهی و فتوسنتز

در بررسی اثر کروم بر رشد و عملکرد گیاهان مشخص شده که عملکرد گیاهان تحت تیمار کروم کاهش می‌یابد. این نتایج در پژوهش‌های Singh و همکاران (۲۰۰۶) بر روی گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) (۴۸)، Subrahmanyam (۲۰۰۸) در گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) (۵۱) و zengin و Munzuroglu (۲۰۰۵) در گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) (۶۲) نشان داده شده است. دانشمندان دیگری نیز گزارش کردند که سمیت کروم باعث کاهش توده گیاهی، سطح برگ، تعداد برگها و وزن خشک ساقه کدو تنبل (*Telfairia occidentalis*) شده است (۳۴).

سمیت Cr^{6+} ناشی از فعالیت عوامل اکسیدکننده و شکل‌گیری رادیکالهای آزاد درون سلولهای گیاهی می‌باشد (۴۴). کروم بازدارنده‌ی رشد گیاه است و حضورش به مقدار زیاد درون محیط کشت گیاه باعث کوتاهی ساقه‌های در حال رشد و کاهش رشد ریشه می‌شود (۱۹). کاهش رشد ممکن است بعلت عدم تعادل مواد معدنی گیاه در خاکهایی با غلظتهای بالای کروم باشد (۳۴). سمیت کروم در گیاهان همچنین منجر به کلروز برگها و نکروز بافتها، کاهش فعالیت آنزیم‌ها، آسیب به غشا، کاهش فتوسنتز و تغییر در ساختار کلروپلاست (۴۲) و تغییر در وضعیت آب گیاهان (۳۶) می‌شود. کلروز برگها در نیلوفر آبی، گوجه فرنگی و سیب زمینی گزارش شده است (۲۴ و ۵۴). کاهش فتوسنتز به دلیل ایجاد بی‌نظمی در فراساختار کلروپلاست و بازدارندگی انتقال الکترون (۴۳) و یا کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی به دلیل تخریب α -آمینو لوولونیک دهیدراتاز (۳۸) می‌باشد. هدف کلی از این پژوهش بررسی آثار سمی کروم بر شاخص‌های رشد و بقاء گیاه ذرت می‌باشد.

مواد و روشها

بمنظور بررسی اثر دی کرومات پتاسیم بر رشد گیاه ذرت، آزمایشی با شش تیمار (صفر، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰

سنجش محتوی کروم: برای سنجش میزان کروم در ریشه و بخش هوایی نیم گرم از وزن خشک ماده‌ی گیاهی را خاکستر کرده، بعد خاکستر حاصل را در اسید نیتریک غلیظ حل کرده و با استفاده از دستگاه ICP جذب نمونه‌ها مشخص شد (۱۱).

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

Soil properties	Soil pH	Cation Exchange Capacity	Field capacity	EC	Organic carbon	Total Cr	Texture	Sand	Silt	Clay
Soil values	۶/۷	۱۵ meq/۱۰۰ g ⁻¹	%۱۸/۲	۳/۲۵ m ⁻¹	%۰/۴۷	۱۸mg kg ⁻¹	Sandy Clay Loam	%۶۴	%۱۴	%۲۲

از ۲۰ ساعت نمونه‌ها از پتری دیش‌ها خارج شده و وزن برگ‌ها در حالت تورژسانس کامل (TW) اندازه‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و پس از آن دوباره وزن شده و در نهایت میزان RWC از رابطه زیر محاسبه گردید (۵۸).

$$\text{وزن} \left(\frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ}}{\text{محتوی نسبی آب برگ}} \right) \times ۱۰۰ \left[\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ} \right] \text{ در حالت تورژسانس کامل}$$

سنجش پرولین: برای سنجش غلظت پرولین اندام هوایی و ریشه تازه گیاهان به دقت توزین و توسط ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ به صورت هموژن درآمد، هموژن حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف گردید. سپس ۲ میلی لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسیداستیک خالص در یک لوله آزمایش مخلوط گردید و به مدت یک ساعت جوشانیده شد. برای توقف واکنشها نمونه‌ها سریعاً به ظرف محتوای آب و یخ به مدت ۲۰ دقیقه انتقال داده شدند. سپس به هر نمونه ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه شده و مخلوط گردیدند. در نهایت جذب بخش رویی در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد پرولین به صورت میکروگرم بر گرم وزن تر ارزیابی گردید (۸).

سنجش محتوای فلاونوئید: برای تعیین مقدار فلاونوئیدها نمونه‌های برگ تازه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ تا ۸ ساعت در آون خشک شد. سپس برگ‌های خشک شده آسیاب شد. ۱۵ گرم از نمونه خشک شده با ۱۰۰ میلی لیتر حلال (متانول ۸۰٪) در یک دکانتور مخلوط گردید. پس از

اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی گیاه: وزن تر برگ و ریشه هر یک از گیاهان تحت تیمار بلافاصله پس از برداشت با ترازوی دقیق آزمایشگاهی مدل Sartorius با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد و وزن خشک نمونه‌ها پس از این که به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند، اندازه‌گیری شد.

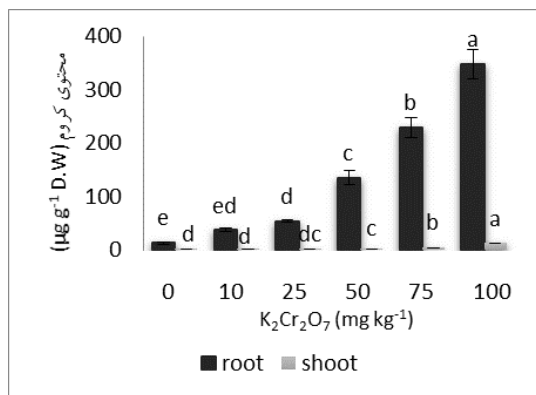
اندازه‌گیری نسبت رشد گیاه (Growth Ratio): زیست توده گیاهان شاهد و تحت تیمار پس از برداشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری نسبت رشد گیاهان از رابطه زیر استفاده شد (۶).

$$\text{نسبت رشد گیاه} = \frac{\text{وزن خشک برگ تیمار} - \text{وزن خشک برگ شاهد}}{\text{وزن خشک برگ شاهد}} \times ۱۰۰$$

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: ۰/۲ گرم از برگ‌های جوان و هم سن تکرارهای مختلف در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی لیتر استن ۸۰٪ ساییده شد. سپس هموژن حاصل از برگ‌ها را از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده و جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu UV-120-02، در طول موجهای ۴۷۰، ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (a+b) بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (۳۱).

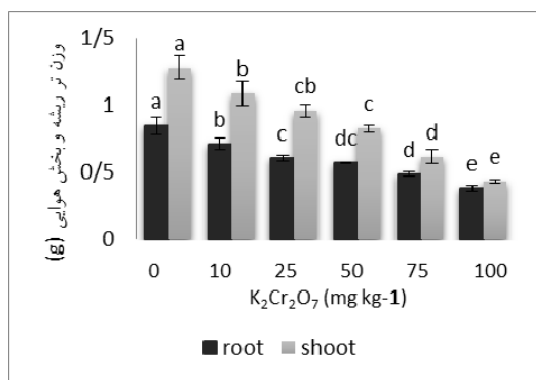
تعیین محتوای نسبی آب برگ (RWC): قطعات برگ‌گی پس از تعیین وزن تر (FW) درون پتری دیش‌های محتوای آب مقطر قرار گرفتند. پتری دیش‌ها به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی قرار داده شدند. پس

جذب محتوای فلز کروم در ریشه و بخش هوایی گیاه ذرت: غلظت کروم بخش هوایی و ریشه ذرت در تیمارهای مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. غلظت کروم در ریشه ذرت بیش از بخش هوایی می‌باشد. همچنین میانگین غلظت کروم در بخش هوایی و ریشه با افزایش غلظت تیمار افزایش معنی‌داری یافت.



شکل ۱- محتوای کروم در ریشه و بخش هوایی گیاه ذرت

وزن تر و خشک: مقایسه نتایج حاصل از واریانس داده‌ها نشان داد که تیمار دی کرومات پتاسیم بر وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی گیاه اثر گذاشته و با افزایش تیمار فوق وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی بطور معنی‌داری کاهش پیدا کرده است (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲- وزن تر ریشه و بخش هوایی گیاه ذرت در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم

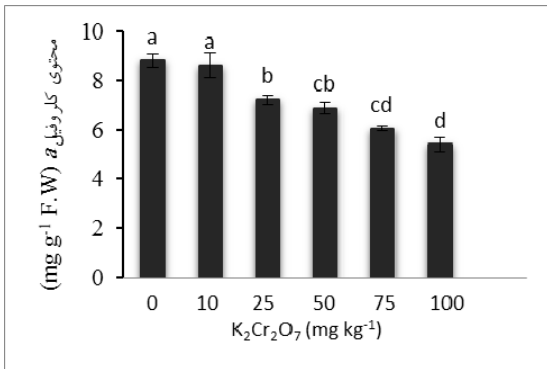
نسبت رشد: بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، افزایش تیمار دی کرومات پتاسیم در محیط باعث کاهش نسبت رشد گیاه شد (شکل ۴).

۲۴ ساعت عصاره‌های حاصل با استفاده از کاغذ صافی از مواد گیاهی جدا گردید (۵). مقدار کل فنل هر عصاره از روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد. ۰/۵ میلی لیتر از عصاره درون یک لوله آزمایش در ۱/۵ میلی لیتر متانول حل شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ و ۰/۱ میلی لیتر محلول پتاسیم استات یک مولار به آن اضافه شد. در نهایت ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu UV-120-02 خوانده شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرسیتین به صورت میلی گرم در گرم نمونه خشک به دست آمد (۱۲).

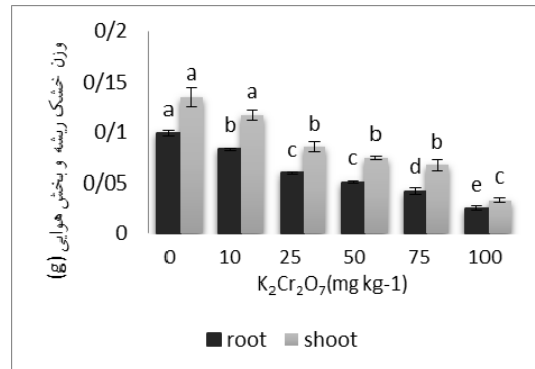
سنجش آنتوسیانین: ۰/۵ گرم از بافت تر اندام هوایی گیاه (برگ یا ساقه) را برداشته و در ۵ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول ۹۹/۵٪ با اسید کلریدریک ۱٪ به نسبت ۹۹ به ۱) ساییده شد. عصاره‌ها را در فالكون ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۴ درجه ی سلسیوس نگهداری شد. بعد از ۲۴ ساعت فالكونها را از یخچال بیرون آورده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفوژ شد. بعد از سانتریفوژ محلول رویی را به فالكون دیگری منتقل کرده و به آن یک میلی لیتر اتر اضافه کرده و مخلوط کرده و در نهایت جذب محلول پایینی در طول موج ۵۳۲ نانومتر تعیین و جذب ۶۰۰ نانومتر از آن کسر شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد آنتوسیانین بدست آمد (۱۴).

تجزیه و تحلیل آماری: بررسی آماری اطلاعات با استفاده از کتاب اصول آمار زیستی (۲) انجام شده است. بررسیهای آماری براساس آنالیز واریانس تک عاملی توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ و نرم افزار SAS ویرایش ۹ در سطح احتمال $P < 0.001$ و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

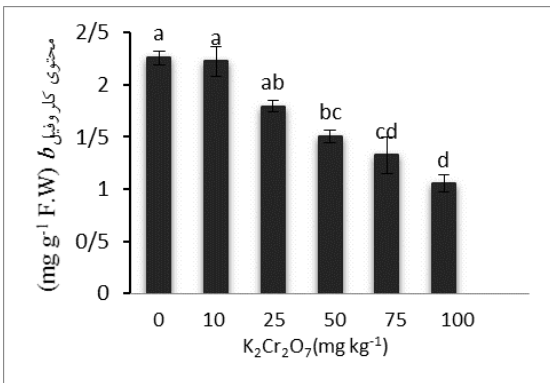
نتایج



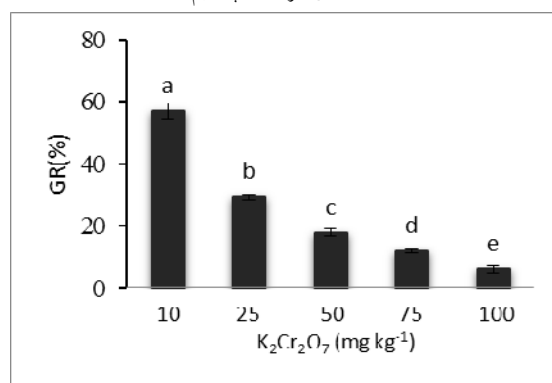
شکل ۶- محتوای کلروفریل *a* گیاه ذرت در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم



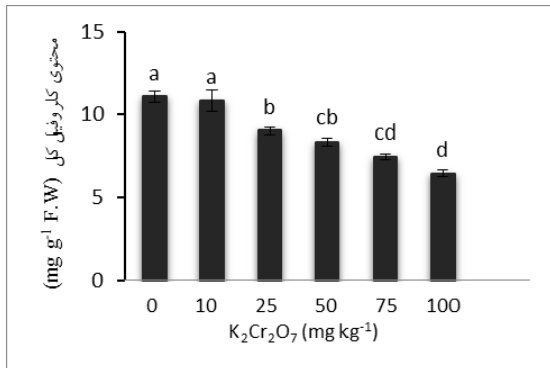
شکل ۳- وزن خشک ریشه و بخش هوایی گیاه ذرت در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم



شکل ۷- محتوای کلروفریل *b* گیاه ذرت در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم

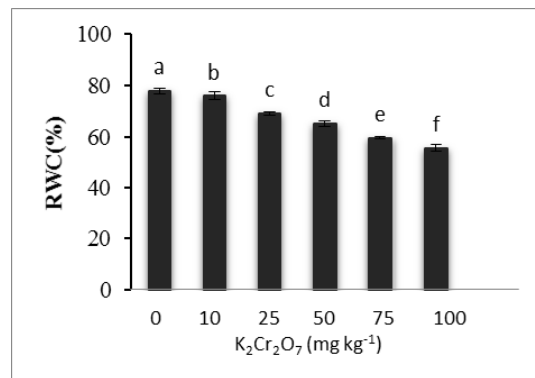


شکل ۴- نسبت رشد گیاه ذرت در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم



شکل ۸- محتوای کلروفریل کل گیاه ذرت در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم

محتوای نسبی آب برگ: کروم بر فرایندهای فیزیولوژی گیاه از قبیل نسبت آب و مواد معدنی اثر می‌گذارد و باعث کاهش آب قابل دسترس گیاهان می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش تیمار دی کرومات پتاسیم در محیط، محتوای آب برگها کاهش می‌یابد (شکل ۵).



شکل ۵- محتوای نسبی آب برگ گیاه ذرت در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم

محتوای رنگیزه‌های گیاهی: با توجه به شکل‌های ۶، ۷ و ۸ افزایش تیمار دی کرومات پتاسیم در محیط ریشه باعث کاهش معنی دار محتوای کلروفیل‌های *a* و *b* و کلروفیل کل می‌شود. در تیمار ۱۰۰ mg kg⁻¹ دی کرومات پتاسیم محتوای کلروفیل‌های *a* و *b* و کلروفیل کل بترتیب ۳۸/۰۲٪، ۳۱/۴۸٪ و ۳۶/۹٪ نسبت به گیاهان شاهد کاهش پیدا

کرده است. این نتایج نشان می‌دهد که میزان کاهش در کلروفیل *b* بیشتر از کلروفیل *a* می‌باشد.

کاروتنوئیدها به عنوان گروهی از آنتی‌اکسیدانهای آنزیمی در حذف رادیکالهای آزاد نقش مهمی دارند. افزایش تیمار

جدول ۲- محتوای رنگیزه‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه ذرت تحت تیمار دی کرومات پتاسیم

$K_2Cr_2O_7$ ($mg\ kg^{-1}$)	کاروتنوئیدها $mg\ g^{-1}\ FW$	آنتوسیانین‌ها $mg\ g^{-1}\ FW$	فلاونوئیدها $mg\ g^{-1}\ DW$
۰	$2/53 \pm 0/07084^a$	$5/57 \pm 0/075^c$	$9796 \pm 305/55^f$
۱۰	$2/47 \pm 0/12891^a$	$6/05 \pm 0/051^e$	$16337 \pm 38/4^e$
۲۵	$2/11 \pm 0/1^b$	$7/36 \pm 0/3^d$	$14689 \pm 22/25^d$
۵۰	$2/01 \pm 0/12634^{cb}$	$9/5 \pm 0/111^c$	$16337 \pm 38/4^e$
۷۵	$1/74 \pm 0/07381^c$	$11/8 \pm 0/409^b$	$19275 \pm 32/54^b$
۱۰۰	$1/37 \pm 0/09437^d$	$16/97 \pm 0/868^a$	$27783 \pm 30/158^a$

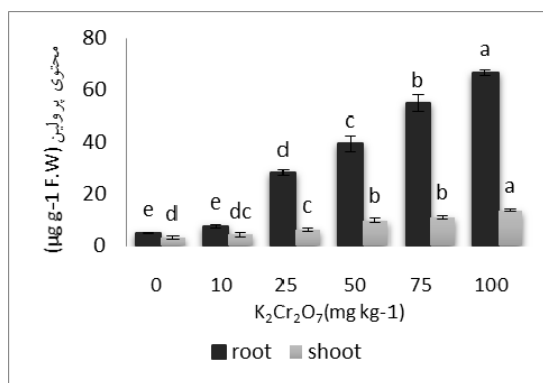
۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دی کرومات پتاسیم بترتیب ۰۶/۵۲٪، ۹۲/۵۶٪، ۰۳/۶۳٪، ۹۳/۶۷٪ و ۲۸/۷۵٪ بیشتر از گیاهان شاهد می‌باشد.

نتایج مربوط به محتوای فلاونوئیدها در گیاه: یکی از مهمترین پاسخ سلولهای گیاهی تحت تنشهای غیر زیستی الفای آنتی‌اکسیدانهای غیر آنزیمی از قبیل فلاونوئیدهاست. بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش افزایش تیمار دی کرومات پتاسیم در محیط باعث افزایش محتوای فلاونوئیدها در برگها می‌شود (جدول ۲).

بحث

در مطالعات انجام شده در گیاهان مختلف مشخص شده، بین جذب فلزات توسط گیاهان و غلظت فلزات در محیط رابطه وجود دارد. نتایج نشان می‌دهد که نوع بخش گیاهی (ریشه، ساقه یا برگ) در گونه‌های گیاهی مختلف در ظرفیت جذب کروم مؤثر می‌باشد. از بین این بخش‌ها در ذرت، ریشه‌ها بیشترین مقدار جذب را دارند. این نتیجه نشان می‌دهد که کروم به سهولت به بخش هوایی منتقل

نتایج مربوط به پرولین: بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش افزایش تیمار دی کرومات پتاسیم در محیط باعث افزایش پرولین در گیاه می‌شود (شکل ۹).



شکل ۹- محتوای پرولین گیاه ذرت در غلظت‌های مختلف دی کرومات پتاسیم

نتایج مربوط به آنتوسیانین: آنتوسیانینها گروهی از رنگدانه‌های گیاهی می‌باشد که در تحمل به تنش فلزات سنگین نقش دارند. نتایج این پژوهش نشان داد که محتوای آنتوسیانین در گیاهان رشد کرده در خاکهای آلوده به کروم نسبت به گیاهان شاهد بطور معنی داری افزایش می‌یابد (جدول ۲). افزایش در محتوای آنتوسیانین در تیمارهای

کروم بطور معنی‌داری وزن خشک بخشهای مختلف گیاه را کاهش می‌دهد. کاهش وزن خشک بخشهای هوایی نسبت به ریشه‌ها بیشتر است که با نتایج بدست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. نتایج مشابهی در بررسی اثر سرب بر وزن تر و خشک گیاه ذرت گزارش شده است (۱). کاهش وزن تر در دانه‌رستها بدلیل کاهش محتوای رطوبت برگها و کاهش وزن خشک بدلیل کاهش فتوسنتز و کلروفیل *a* می‌باشد (۲۶).

دامنه تحمل‌پذیری (the heavy metal tolerance index) و نسبت رشد گیاه (growth ratio) بعنوان یکی از روشهای سنجش میزان مقاومت دانه رستها به تنش فلزات سنگین معرفی شده و کاهش نسبت رشد و تحمل گیاه *Prosopis laevigata* تحت تنش کروم گزارش شده است (۱۱) که با نتایج بدست آمده در این پژوهش مطابقت دارد.

فلزات سنگینی از قبیل مس و روی جزء اصلی بسیاری از آنزیم‌ها و پروتئین‌هاست و برای رشد و نمو طبیعی گیاهان ضروری می‌باشند. غلظتهای بالای فلزات سنگین ضروری و غیرضروری در خاکها منجر به سمیت و بازدارندگی رشد در بسیاری از گیاهان می‌شود (۲۱). فسفات یک ماده معدنی مورد نیاز برای رشد گیاهان می‌باشد که در بیوسنتز رنگدانه‌ها و انتقال انرژی نقش دارد. بدلیل اینکه کروم و فسفات فلزات رقابتی هستند، غلظتهای بالای کروم باعث کاهش غلظت فسفات در گیاه، در نتیجه کاهش رشد گیاه می‌شود (۱۶). مهمترین عامل در کاهش رشد گیاهان اختلال در جذب و متابولیسم مواد معدنی بدلیل افزایش محتوای فلزات در محیط رشد گیاه گزارش شده است (۳۵).

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت تیمار دی کرومات پتاسیم در خاک، محتوای کلروفیل‌های *a* و *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در برگ کاهش می‌یابد که با نتایج بسیاری از محققان در بررسی اثر کروم بر محتوای رنگدانه‌های گیاهی در گیاهان برنج (*Oryza sativa* L.)

نمی‌شود که با نتایج بدست آمده در گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) (۵۱) و جعفری (*Petroselinum crispum*) (۳) مطابقت دارد. کروم ابتدا بواسطه سیستم ریشه‌ای گیاهان گرفته می‌شود و در غلظتهای بالایی در بافتهای ریشه ذخیره می‌شود. در بسیاری از گیاهان انتقال فلزات از میان آندودرم ریشه محدود می‌شود. علاوه بر این، کاهش تحرک یونها در چوب بواسطه‌ی ذخیره در دیواره سلولی یا واکوئل و یا اتصال به پروتئینهای متصل شونده به فلزات از قبیل متالوتیونین و فیتوکلاتین صورت می‌گیرد. به همین دلیل یک شیب غلظت بین ریشه و ساقه بوجود می‌آید که منجر به تفاوت در پاسخهای بیوشیمیایی بافتها می‌شود (۴۹).

اثر سمی کروم در رشد و نمو گیاهان شامل تغییر در فرایند جوانه زنی و رشد ریشه، ساقه و برگ گیاهان است که بر کل وزن خشک تولید شده و محصولات گیاهی اثر می‌گذارد (۴۳). کاهش زیست توده هوایی بدلیل کاهش رشد ریشه‌ها و به دنبال آن کاهش انتقال آب و مواد معدنی از ریشه‌ها به بخشهای هوایی گیاه می‌باشد. کاهش جذب مواد معدنی بویژه در خاکهای غنی از کروم در نتیجه کاهش محتوای مواد معدنی در خاک است (۱۷). کاهش زیست توده گیاهی و رشد ریشه در پنج گونه گندم (۱۵) و جعفری (۳) تحت تنش کروم گزارش شده است. کاهش بیومس بواسطه تغییر در متابولیسم نیتروژن، کربوهیدرات، کاهش سنتز پروتئین یا کاهش واکنشهای فتوسنتزی تحت تنش کروم گزارش شده است (۴۷).

نتایج این پژوهش نشان داد که وزن تر و خشک گیاه ذرت تحت تنش دی کرومات پتاسیم کاهش یافت. کاهش در وزن خشک تولید شده تحت تنش کروم در گیاهان مختلف گزارش شده است (۴۶). کاهش در وزن خشک در گیاه *Valisneria spiralis* تحت غلظتهای بالاتر از 25 gm^{-3} از Cr(VI) (۵۳) و در گیاه گندم (۵۱) گزارش شده است. Subrahmanyam (۲۰۰۸) گزارش کرد که غلظتهای سمی

جلوگیری می‌کند و بر واکنش‌های تاریکی و روشنایی اثر می‌گذارد (۶۱).

کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانینها و آسکوربیک اسید با جاروب کردن رادیکالهای آزاد موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شود (۱۳). کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موجهای کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکالهای اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا نمایند. کاروتنوئیدها نقش اساسی در حفاظت نوری کلروفیلها علیه آسیبهای ناشی از اکسیداسیون نوری بوسیله کاهش گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) دارند (۹).

گیاهان بطور طبیعی در معرض حمله گیاه خواران و پاتوژنها قرار می‌گیرند (۴۱). بسیاری از گیاهان استراتژی‌های خاصی برای مقابله با گیاه خواری دارند. یکی از این استراتژی‌ها تولید متابولیت‌های ثانویه می‌باشد (۲۲). آنتوسیانینها گروهی از رنگیزه‌های گیاهی می‌باشند که مسئول رنگ قرمز، بنفش و آبی در گلها، میوه‌ها و سبزیجات هستند و در پاسخ به تنش‌های مختلف از جمله فلزات سنگین در گیاهان افزایش می‌یابد (۲۰). در بررسی اثر عناصر سنگین بر محتوای آنتوسیانین در گلها مشخص شده که رنگ گل تغییر کرده و کمرنگ‌تر می‌شود که احتمالاً بدلیل تشکیل کمپلکس بین عناصر و آنتوسیانین باشد (۱۲). تحت تنش عناصر سنگین میزان آنتوسیانین در گیاه افزایش می‌یابد، زیرا این ترکیبات بعنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و اثرات تخریبی رادیکالهای آزاد اکسیژن را در گیاهان کاهش می‌دهد (۳۳). علاوه بر این آنتوسیانینها نقش ضد ویروسی، ضد باکتری و ضد قارچی برای گیاهان دارند (۳۰). معمولا فعالیت ضد میکروبی آنتوسیانین در برگها بیشتر از ترکیبات فنلی دیگر از قبیل فلاونوئیدها و هیدروکسی سینیامیک اسید می‌باشد (۶۰).

تنش فلزات سنگین مانع از تقسیم سلولی و باعث کاهش فشار تورگور در سلولهای گیاهی می‌شود (۲۸). کاهش در

(۴۸)، ذرت (*Zea mays* cv. 704) (۳۷)، گندم (*Triticum aestivum* L.) (۵۱) و جعفری (*Petroselinum crispum*) (۳) مطابقت دارد.

Sharma و Pandey (۲۰۰۳) گزارش کردند که وجود کروم در محیط از جذب آهن جلوگیری می‌کند. کاهش جذب یونهای منگنز، آهن و روی تحت تنش کروم در گیاه ذرت گزارش شده است (۴۵). شکل‌گیری رنگدانه‌های کلروفیل به ذخیره کافی از منیزیم در مولکول پروتوپورفیرین که پیش‌ساز سنتز کلروفیل می‌باشد وابسته است. بنظر می‌رسد ذخیره بالای کروم از اتصال منیزیم درون مولکول پروتوپورفیرین جلوگیری می‌کند، در نتیجه محتوای رنگدانه‌های کلروفیل کاهش می‌یابد (۱۰). بسیاری از فلزات سنگین از جمله کروم در غلظتهای بالا باعث کلروز در گیاه می‌شوند که این نشان دهنده کاهش غلظت آهن در گیاهان می‌باشد. علاوه بر این، کاهش فتوسنتز در نتیجه بسته شدن روزنه‌ها و کاهش فضای بین سلولی درون کلروپلاست صورت می‌گیرد (۵۵).

فلزات سنگین از فرایندهای متابولیکی گیاهان بواسطه بازدارندگی فعالیت آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند. کاهش محتوای کلروفیل در تنش فلزات به بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های مسئول در بیوسنتز کلروفیل وابسته است (۵۰). کروم بسیاری از آنزیم‌ها را بوسیله جایگزینی با یونهای منیزیم غیرفعال می‌کند و بواسطه‌ی بازدارندگی مستقیم در مراحل آنزیمی محتوای کلروفیل را کاهش می‌دهد، از جمله باعث کاهش فعالیت δ -آمینولولونیک اسید دهیدراتاز می‌شود که مهمترین آنزیم در مراحل بیوسنتز کلروفیل است. بنابراین بر تولید آمینولولونیک اسید (ALA) تأثیر می‌گذارد (۵۴). Davies و همکاران (۲۰۰۲) کروم را بعنوان بازدارنده فتوسنتز و فتوسیستم II معرفی کرده‌اند که این بازدارندگی به تنش اکسیداتیو ناشی از تولید ROS ها نسبت داده می‌شود (۳۹). کروم همچنین از واکنش هیل

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش تیمار دی‌کرومات پتاسیم در خاک، محتوای پرولین در ریشه و برگ افزایش می‌یابد. ذخیره پرولین بعنوان یکی از نشانه‌های تنش‌های محیطی مطرح شده که نقش محافظتی برای گیاه دارد. ذخیره پرولین در بافتهای گیاهی بدلیل کاهش تجزیه پرولین، افزایش بیوسنتز پرولین، کاهش سنتز پروتئین و یا هیدرولیز پروتئین می‌باشد (۶۲). افزایش محتوای پرولین به تحریک فعالیت پروتئین اکسیداز و تخریب سنتز پروتئین وابسته است. پرولین در گیاهان بعنوان تنظیم‌کننده اسمزی، نشانه‌ای برای پیری و نشانه‌ای برای پاسخ گیاهان به تنشها می‌باشد. پرولین بر محلولیت انواع پروتئینها اثر گذاشته و از دنا توره شدن آنها در شرایط تنش جلوگیری می‌کند (۴).

محتوای نسبی آب برگها در بررسی اثر Cr(III) و Cr(VI) بر روی گیاه جو گزارش شده است (۲۳). قندها و پروتئینهای موجود در سلول، واجد گروه‌های هیدروفیل گوناگون از قبیل (COOH, OH, NH₃) می‌باشد که مولکولهای دو قطبی آب را جذب می‌کنند و یک لایه هیدراته اطراف آنها تشکیل می‌دهند که دلیلی برای افزایش RWC می‌باشد. در تیمار با فلزات سنگین جذب آب در گیاه کاهش می‌یابد که احتمالاً بدلیل تغییر در عملکرد آنزیمهای تجزیه‌کننده پروتئین می‌باشد که این مسئله در مورد کادمیوم به اثبات رسیده است (۷). علاوه بر این کاهش رشد ریشه‌ها منجر به کاهش جذب و انتقال آب به برگهای گیاه می‌شود (۴۳).

منابع

- ۱- حیدری، ر.، خیامی، م.، فرهود نیا ط. (۱۳۸۴) اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از آلودگی سرب در دانه رست های ذرت (*Zea mays* L.)، مجله زیست‌شناسی ایران، ۱۸: ۲۲۸-۲۳۶.
- ۲- خاوری نژاد، ر. (۱۳۷۵) اصول آمار زیستی، انتشارات امید.
- ۳- ذاکر آ.، لاهوتی م.، ابریشم چی پ.، اجتهادی ح. (۱۳۸۴) بررسی تأثیر انباشتگی Cr³⁺ و Cr⁶⁺ بر رشد و میزان کلروفیل در گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*)، مجله زیست‌شناسی ایران، ۱۸: ۱۰۱-۱۰۹.
- 4- Alia, Prasad, K.V.S.K. & Pardha saradhi, P. (1995) Effects of zinc on free radicals and proline in *Brassica juncea* and *Cajanus cajan*, *Phytochemistry*, 39: 45-47.
- 5- Arabshahi-Delouee, S. & Urooj, A. (2007) Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves, *Food Chemistry*, 102: 1233-1240.
- 6- Baker, A.J.M. (1987) Metal tolerance, *New Phytologist*, 106: 93-111.
- 7- Barket, A. Indu, R. Shamsul, H. & Aqil, A. (2007) Effect of 4-cl-indol-3- acetic acid on the seed germination of *Cicer arietinum* exposed to cadmium, *Acta Botany Croat*, 66: 57-65.
- 8- Bates, L.S. Waldreman, R.P. & Tear, I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies, *Plant Soil*, 39: 205-207.
- 9- Behera, R.K. & Mishra, P.C. (2002) High Irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *Journal of Plant. Physiology*, 159: 967-973.
- 10- Bera, A.K. Kanta-Bokaria, A.K. & Bokaria, K. (1999) Effect of tannery effluent on seed germination, seedling growth and chloroplast pigment content in mungbean (*Vigna radiate* L.Wilczek), *Environmental Ecological*, 17: 958-961.
- 11- Buendia-Gonzalez, L. Orozco-Villafuerte, J. Cruz-Sosa, F. Barrera-Diaz, C.E. & Vernon-Carter, E.J. (2010) *Prosopis laevigata* a potential chromium (VI) and cadmium (II) hyperaccumulator desert plant, *Bioresource Technology*, 101: 5862-5867.
- 12- Chang, C. Yang, M. Wen, H. & Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *Journal of Food Drug Analysis*, 10: 178-182.
- 13- Chaudhury, S & Panda, S.K. (2004) Toxic effects, oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxithelium nepalense* (schwaegr.) broth. Under chromium and lead phytotoxicity. *Water Air Soil Pollut.*(submitted).
- 14- Dai, P. Xiong, Z.T. Hung, Y. & Li, M.J. (2006). Cadmium induced changes in pigments total phenolic and phenylalanine ammonialase

- activity in frnds of *azolla imbricate*, Environmental Toxicology, 505-513.
- 15- Datta, J.K. Bandhyopadhyay, A. Banerjee, A. & Mondal, N.K. (2011) Phytotoxic effect of chromium on the germination, seedling growth of some wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under laboratory condition, Journal of Agricultural Technology, 7: 395-402.
 - 16- Davies, F.T. Puryear, J.D. Newton, R.J. Egilla, J.N. & Grossi, J.A.S. (2002) Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: Influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange, Journal of Plant Nutrition, 25: 2389-2407.
 - 17- Eun, S.O. Youn, H.S. & Lee, Y. (2002) Lead disturbs microtubule organization in root meristem of *Zea mays*, Physiology of Plants, 110: 357-365.
 - 18- Gardea-Torresdey, J.L. Peralta-Videa, J.R. de la Rosa, G. & Parsons, J.G. (2005) Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy, Coordination Chemistry Reviews, 249: 1797-1810.
 - 19- Gbaruko, B.C. & Friday, O.U. (2007) Bioaccumulation of heavy metals in some fauna and flora, International Journal of Environmental Science and Technology, 4: 197-202.
 - 20- Hale, K.L. Mcgrath, S.P. Lombi, E. Stack, S.M. Terry, N. Pickering, I.J. George, G.N. Pilon-Smits, E.A.H. (2001) Molybdenum sequestration in *Brassica* species. A role for anthocyanins, Plant Physiology, 126: 1391-1402.
 - 21- Hall, J.L. (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance, Journal of Experimental Botany, 53: 1-11.
 - 22- Harborne, J.B. (1997) Biochemical plant ecology. In: Dey, P.M. and Harborne, J.B. (Eds.), Plant Biochemistry. Academic Press, London, pp. 503-516.
 - 23- Hauschild, M.Z. (1993) Putrescine (1,4-diaminobutane) as an indicator of pollution-induced stress in higher plants: barley and rape stressed with Cr(III) or Cr(VI), Ecotoxicology Environment Saf, 26: 228-247.
 - 24- Hewith E.J. Metal inter-relationships on plant nutrition: I. Effects of some metal toxicities on sugarbeet, tomato, oat, potato and marrowstemkale grown on sand culture. J Exp Bot 4: 59-64, 1953.
 - 25- Jing, Y.d. He, Z.L. & Yang, X. (2007) Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils, Journal of Zhejiang University Science B, 8: 192-207.
 - 26- Joshi, V.N. Rathore, S.S. & Arora, S.K. (1999) Effect of chromium on growth and development of cowpea (*Vigna unguiculata* L.), Indian Journal of Environmental Protection, 19: 745-749.
 - 27- Kar, D. Sur, P. Mandal, S.K. Saha, T. & Kole, R.K. (2008) Assessment of heavy metal pollution in surfacewater, International Journal of Environmental Science Technology, 5: 119-124.
 - 28- Kastori, R.M. Petrovic, M. Petrovic, N. (1997) Effect of excess lead, cadmium, copper and zinc on water relation in sunflower, Journal of Plant Nutrition, 15: 2427-2439.
 - 29- Klute, A. (1986) Methods of Soil Analysis. Part I, Physical and Mineralogical Methods. 2nd ed., Soil Science Society of America Inc., Wisconsin, USA.
 - 30- Konczak, I. & Zhang, W. (2004) Anthocyanins – more than nature's colours. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 5: 239-240.
 - 31- Lichtenthaler, H.K. (1987) Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes, Methods in Enzymology, 148: 350-382.
 - 32- Mc Grath, S.P. & Smith, S. (1990) Chromium and nickel. In: Heavy Metals in Soils (Alloway, B.J., Ed.), 125-150. Wiley, New York.
 - 33- Neill, S.O. Gould, K.S. Kilmartin, P.A. Mitchell, K.A. & Markham, K.R. (2002) Antioxidant activities of red versus green leaves in *Elatostema reugosum*, Plant Cell and Environment, 25: 539-547.
 - 34- Orhue, E.R. & Uzu, F.O. (2010) Residual Effects of Chromium on Early Growth of Fluted Pumpkin (*Telfairia occidentalis* Hook F) in an Ultisol, African Journal of General Agriculture, 6: 235-247.
 - 35- Panda, S.K. & Choudhury, S. (2005) Chromium stress in plants, Brazilian Journal of Plant Physiology, 17: 95-102.
 - 36- Pandey, N. & Sharma, C.P. (2003) Chromium interference in iron nutrition and water relations of cabbage, Environmental and Experimental Botany, 49: 195-200.
 - 37- Rahmaty, R. & Khara, J. (2011) Effects of vesicular arbuscular mycorrhiza *Glomus intraradices* on photosynthetic pigments, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and

- chromium accumulation in maize plants treated with chromium, Turkish Journal of Biology, 35: 51-58.
- 38- Rai, V. Vajpayee, P. Singh, S.N. & Mehrotra, S. (2004) Effect of Chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, proline level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L, Plant Science, 167: 1159-1169.
- 39- Scandalios, J.G. (1997) Molecular genetics of superoxide dismutase in plants. In: Scandalios JG, ed. Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 527-568.
- 40- Schollenberger, C. J., and Simon, R. H. (1945) Determination of exchange capacity and exchangeable bases in soils - 2-nunonium acetate method. Soil Sci. 59:13-24.
- 41- Schulze, E.-D., Beck, E. and Müller-Hohenstein, K. (2002) Plant Ecology. Springer-Verlag, Berlin.
- 42- Scoccianti, V. Crinelli, R. Tirillini, B. Mancinelli, V. & Speranza, A. (2006) Uptake and toxicity of Cr (III) in celery seedlings, Chemosphere, 64: 1695-1703.
- 43- Shanker, A.K. Cervantes, C. Loiza-Tavera, H. & Audainayagam, S. (2005) Chromium toxicity in plants, Journal of Environmental International, 31: 739-753.
- 44- Shanker, A.K. & Pathmanabhan, G. (2004) Speciation dependant antioxidative response in roots and leaves of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench cv CO 27) under Cr(III) and Cr(VI) stress, Plant and Soil, 265: 141-151.
- 45- Sharma, D.C. & Pant, R.C. (1994) Chromium uptake, its effect on certain plant nutrients in maize (*Zea mays* L.) W Gang 5), Journal of Environmental Science and Health, 29: 941-948.
- 46- Sharma, D.C. & Sharma, C.P. (1993) Chromium uptake and its effects on growth and biological yield of wheat, Cereal Research Communications, 21: 317-21.
- 47- Sharma, D.C. Shrama, C.P. & Tripathi, R.D. (2003) Phyto-toxic lesions of chromium in maize, Chemosphere, 51: 63-68.
- 48- Singh, A.K. Misra, P. & Tandon, P.K. (2006) Phytotoxicity of chromium in paddy (*Oryza sativa* L.) plants, Journal of Environmental Biology, 27: 283-285.
- 49- Sinha, S. Basant, A. Malik, A. & Singh, K.P. (2009) Multivariate modeling of chromium-induced oxidative stress and biochemical changes in plants of *Pistia stratiotes* L., Ecotoxicology, 18: 555-566.
- 50- Stobart, A.K. Griffiths, W.T. Ameen-Bukhari, I. & Sherwood, R.P. (1985) The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley, Physiologia Plantarum, 63: 293-298.
- 51- Subrahmanyam, D. (2008) Effects of chromium toxicity on leaf photosynthetic characteristics and oxidative changes in wheat (*Triticum aestivum* L.), Photosynthetica 46: 339-345.
- 52- Toppi, L.S.D. Fossati, F. Musetti, R. Mikerezi, I. & Favali, M.A. (2002) Effects of hexavalent chromium on maize, tomato, and cauliflower plants, Journal of Plant Nutrition, 25: 701-717.
- 53- Vajpayee, P. Rai, U.N. Ali, M.B. Tripathi, R.D. Yadav, V. Sinha, S. & Singh, S.N. (2002) Chromium-induced physiologic changes in *Vallisneria spiralis* L. and its role in phytoremediation of tannery effluent, Bulletin Environmental Contamination and Toxicology, 67: 246-256.
- 54- Vajpayee, P. Tripathi, R.D. Rai, U.N. Ali, M.B. & Singh, S.N. (2000) Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L., Chemosphere, 41: 1075-1082.
- 55- Vazquez, M.D. Poschenrieder, C. & Barcelo, J. (1987) Chromium VI induced structural and ultrastructural changes in Bush bean plants, Annals of Botany, 59: 427-438.
- 56- Walkley, A. & Black, I. A. (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. 37:29-38.
- 57- Wallace, A. Soufi, S.M. Cha, J.W. & Romney, E.M. (1976) Some effects of chromium toxicity on bush bean plants grown in soil, Plant Soil, 44: 471-473.
- 58- Weatherley, P.E. (1950) Studies in the water relation of cotton plant: I- the field measurement of water deficits in leave, New Phytology, 49: 81-97.
- 59- Weaver, R. W. Angle, J. S. & Bottomley, P. S. (1994) Methods of Soil Analysis, Microbiological and Biochemical Properties, Part II, Soil Science of America Inc., Wisconsin, USA.
- 60- Werlein, H.D. Kutemeyer, C. Schatton, G. Hubbermann, E.M. & Schwarz, K. (2005)

- Influence of elderberry and blackcurrant concentrates on the growth of microorganisms, Food Control, 16: 729–733.
- 61- Zeid, I.M. (2001) Responses of *phaseolus vulgaris* to chromium and cobalt treatment ,Biology Plantarum, 44: 111-115.
- 62- Zengin, F.K. & Munzuroglu, O. (2005) Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings, Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 47: 157-164.

The effect of different concentrations of potassium dichromate on growth and some antioxidants contents and growth in *Zea mays* L.

Khavari-Nejad R.A.^{1,2}, Najafi F.¹ and Aslani F.¹

¹ Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. of Iran

² Biology Dept., Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Heavy metals are defined as the group of elements with an atomic density greater than 5 g/cm³. Existence of heavy metals can affect growth and physiology of plants. Chromium is a transition metal located in the group VI-B of the periodic table that is the seventh most abundant element on the earth and is known as a toxic metal for microorganisms and plants. This study was performed in a complementary randomized design with six levels of chromium (0, 10, 25, 50, 75 and 100 mg/kg) and four replications, in the research greenhouse of the Kharazmi University. The results indicated that increasing of chromium concentration significantly decreased the dry and fresh weight of the shoots and roots. Moreover, Chl *a*, Chl *b*, Chl (*a+b*) and carotenoids contents, growth ratio and RWC significantly decreased in the whole treated plants, whereas flavonoids, anthocyanin and proline contents increased.

Key words: Chromium, Growth ratio, Chlorophyll, Carotenoid, Proline