



## کاهش زیستی آلومینیوم از محیط زیست با استفاده از گیاه لیسیانتوس

زینب السادات هاشمی، فائزه قناتی\*

گروه علوم گیاهی دانشگاه تربیت مدرس

E-mail: ghanghia@modares.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲۸

### چکیده

آلومینیوم فلزی سه ظرفیتی است که با توجه به فراوانی آن در پوسته زمین یکی از معضلات عمده محیط زیست است و نیز با تبدیل شدن به کاتیون  $Al^{3+}$  در خاک‌های اسیدی، یک عامل اساسی در کاهش تولید محصولات کشاورزی در این خاک‌هاست. آلومینیوم در آب، هوا و خاک اطراف ما وجود دارد. مصرف آلومینیوم به صورت آنتی اسید و داروهای دارای هیدروکسید آلومینیوم، حضور آن در آب آشامیدنی و مصرف غذایی آن بسیار رایج است و از طرفی می‌تواند عامل بروز بیماری‌هایی مثل آلزایمر، پوکی استخوان، فقر کلسیم، از دست دادن حافظه و غیره باشد. شناسایی گیاهانی که بدون سمیت نسبت به این عنصر قادر به جذب مقادیر بالایی از آن هستند می‌تواند گام موثری در پالایش خاک و آب از این عنصر در نظر گرفته شود. هدف از تحقیق حاضر بررسی توان جذب آلومینیوم توسط گیاه لیسیانتوس در کشت هیدروپونیک می‌باشد. به این منظور گیاهچه‌های لیسیانتوس در شرایط کشت هیدروپونیک تحت تیمار ۴ غلظت ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ میکرومولار آلومینیوم به مدت ۱۰ روز قرار گرفتند. نتایج حاکی از عدم افزایش معنی‌دار هیدروژن پروکسید و افزایش قدرت جاروب کنندگی آنیون سوپراکسید در ریشه به عنوان شاخص‌های تنش بود. همچنین افزایش معنی‌دار قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP) در گروه تیمار شده با آلومینیوم نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که حاکی از قدرت آنتی اکسیدانی بالای گیاه لیسیانتوس در مقابل آلومینیوم می‌باشد. این نتایج پیشنهاد می‌کند که می‌توان از گیاه لیسیانتوس برای کاهش غلظت آلومینیوم در محیط استفاده نمود.

**کلیدواژه‌ها:** آلومینیوم، تنش اکسیداتیو، سیستم آنتی اکسیدانی، لیسیانتوس

### مقدمه

جدی برای سلامتی انسان و محصولات کشاورزی دارد. با افزایش استفاده از کودهای آمونیومی، تجمع مواد آلی و باران‌های اسیدی، اسیدیته خاک و به دنبال آن آلومینیوم محلول در محیط رو به افزایش است، به همین سبب توجه به سمیت آلومینیوم از اهمیت

آلومینیوم (Al) سومین عنصر فراوان بعد از اکسیژن و سیلیکون می‌باشد که ۸٪ پوسته زمین را تشکیل می‌دهد. آلومینیوم یکی از فراوانترین فلزات آلوده کننده آب، خاک و زنجیره‌ی غذایی است و تهدیدات

لیسیانئوس علاوه بر اهمیت اقتصادی- تجاری، به دلیل مقاومت به گرما و پاتوژن نیز مورد توجه است. اما بهبود رشد این گیاه در حضور فلز سمی آلومینیوم، موضوعی است که به تازگی به آن پرداخته شده و در عین حال اهمیت این گیاه زینتی را دو چندان نموده است. هدف از تحقیق حاضر با هدف بررسی میزان جذب غلظت‌های مختلف آلومینیوم در گیاه کامل و زیتوده خشک گیاه و تاثیر آن بر برخی پارامترهای سیستم آنتی اکسیدان انجام گرفت.

### مواد و روش ها

#### کشت گیاه و اعمال تیمار

گیاهچه‌های جوان و ریشه‌دار لیسیانئوس وارسته ایندیکا از بازار گل و گیاه شهرستان اصفهان تهیه شد. گیاهچه‌ها با آب جاری شسته و به مدت ۳ دقیقه در محلول پرمنگنات پتاسیم ضد عفونی سطحی شدند. سپس به محلول غذایی تغییر یافته هوگلند ۱/۴ (pH 6) با فرمول زیر منتقل و هوادهی شدند: (مقادیر بر حسب میلی مول):

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 2.5;  $\text{KNO}_3$ , 2.5;  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5

(مقادیر بر حسب ppm):

$\text{Fe-EDTA}$ , 3;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0.5;  $\text{Mn}(\text{MnCl}_2)$ , 0.5;  
 $\text{Zn}(\text{ZnCl}_2)$ , 0.05;  $\text{Cu}(\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O})$ , 0.02;  
 $\text{Mo}(\text{Na}_2\text{MoO}_4)$ , 0.02

گیاهچه‌ها به مدت ۱۴ روز در این محیط نگهداری شدند و به منظور سازگاری گیاهان با شرایط هیدرو پونیک و خروج مواد جذب شده قبلی از خاک یکبار محیط تعویض می‌شد. رشد گیاهان در اتاق رشد با دمای  $27 \pm 3^\circ\text{C}$  و دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی، دانسیته‌ی نوری فتوسنتزی  $1\text{m}^2\text{MS}^{-1}$  انجام شد. به منظور تعیین تاثیر زیتوده خشک و

ویژه‌ای برخوردار است. افزایش محلولیت آلومینیوم در خاک وابسته به اسیدی شدن خاک است که باعث شستشوی یون‌های فلز قلیایی خاک و کاهش pH محلول خاک می‌شود. یکی از نشانه‌های بارز سمیت آلومینیوم در گیاهان مهار رشد ریشه می‌باشد [۴]. دیواره سلولی یکی از مکان‌های اصلی ایجاد سمیت و سمیت زدایی فلزات سنگین است که با این فلزات اتصال برقرار می‌کند [۱]. مکانیسم سمیت آلومینیوم به طور کامل مشخص نیست با این حال گزارش‌های زیادی نقش آن را در تولید گونه‌های فعال اکسیژن مولکولی (ROS) و ایجاد تنش اکسیداتیو تایید می‌کند. ROSها اصولاً به عنوان مولکول‌های پیام رسان در گیاه سنتز می‌شوند و در تنظیم نمو و پاسخ‌های دفاعی به پاتوژن‌ها دخیل هستند، اما تولید بیش از اندازه آن‌ها بر متابولیسم سلول تأثیر می‌گذارد. در واقع تنش‌های زنده و غیرزنده می‌توانند سطح سنتز ROSها را افزایش دهند. فلزات و از جمله آلومینیوم به عنوان کاتالیز کننده در تولید ROSها و القای تنش اکسیداتیو نقش دارند [۲۰]. انواع مختلفی از سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در سلول‌ها وجود دارد که قادر به جاروب کردن ROSها هستند. اما تعادل بین تولید و جاروب کردن ROSها با عوامل محیطی ناسازگار برهم می‌خورد که سمیت آلومینیوم یکی از این عوامل می‌باشد [۱۳]. در برخی گیاهان تجمع دهنده آلومینیوم نظیر چای، تیمار با این یون سبب بهبود روند رشد گردید [۱۵ و ۱۲]. بررسی‌های انجام شده بر روی کشت سلول چای و نیز قلمه‌های ریشه دار شده این گیاه نشان داده است که عدم سمیت چای و حتی تحریک رشد آن با این یون ممکن است به علت تاثیر مثبت آلومینیوم در افزایش کارایی سیستم ایمنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باشد [۷]. گیاه

به منظور سنجش  $H_2O_2$ ، ۱۰۰ میلی گرم از نمونه‌های منجمد در ۲ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد در هاون روی یخ ساییده شد. سپس نمونه‌ها در ۱۲۰۰۰ دور و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۱ میلی لیتر از بخش روشن‌آور حاصل با ۱ میلی لیتر از بافر فسفات پتاسیم (۱۰ میلی مولار، pH ۷) و ۲ میلی لیتر پتاسیم یدید (KI) یک مولار مخلوط و جذب آن در طول موج ۳۹۰ نانومتر تعیین شد. مقدار هیدروژن پراکسید با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید [۱۹].

به منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیدازاز ۴۰۰ میلی گرم از نمونه‌های منجمد شده در ۳ میلی لیتر بافر (Tris-maleat) ۵۰ میلی مول (pH ۶) ساییده و با دور  $12000 \times g$  به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (مراحل فوق در ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد). به دنبال مراحل استخراج، بخش روشن‌آور حاصل برای سنجش پراکسیداز محلول (SPO) استفاده شد. مخلوط واکنش (۳ میلی لیتر) شامل بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی مولار (pH ۶/۱)، ۲۸ میلی مولار گایاکول و ۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن و عصاره آنزیمی بود. جذب نوری در ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب به نسبت میلی گرم پروتئین عصاره بیان شد [۶].

جهت سنجش قدرت احیا کنندگی آهن ۱۰۰ میلی گرم از نمونه با ۳ میلی لیتر متانول مطلق روی یخ همگن شد. پس از سانتریفیوژ ( $12000 \times g$ ، ۲۰ دقیقه)، ۲/۵ میلی لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی لیتر بافر سدیم فسفات (۶/۲، ۶/۰، pH) و ۲/۵ میلی لیتر محلول پتاسیم فریک سیانید ۱ درصد مخلوط شد و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به محلول، ۲/۵ میلی لیتر تری کلرو

کاه کلش گیاه لیسیانئوس در جذب آلومینیوم، گل‌های شاخه بریده لیسیانئوس از همان وارته‌ی ایندیکا از گل فروشی تهیه شد.

گیاهچه‌های ۶ ماهه لیسیانئوس تحت تیمار آلومینیوم (به شکل  $AlCl_3$ ) در غلظت‌های ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۲۰۰ میکرومولار قرار گرفتند. تعیین میزان غلظت آلومینیوم بر اساس نتایج تحقیقات

قبلی و منابع موجود صورت گرفت [۳ و ۲]. تیمار دهی با آلومینیوم به مدت ۱۰ روز انجام شد و سپس نمونه‌های شاهد و تیمار شده (هریک با سه تکرار) برداشت شدند. پس از شستشو با آب مقطر، ساقه و ریشه قلمه‌ها از محل یقه گیاه جدا شده و پس از انجماد با نیتروژن مایع تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در فریزر با دمای  $-80^\circ C$  نگهداری شدند. به منظور تعیین تاثیر زیتوده خشک و کاه کلش گیاه لیسیانئوس در جذب آلومینیوم، توده‌های ۵ گرمی از قسمت‌های مختلف گلبرگ، برگ و ساقه‌ی گل‌های شاخه بریده در پارچه‌های نظیف پیچیده شد و در جارهایی محتوی ۲۵۰ میلی لیتر محلول آلومینیوم کلرید با غلظت‌های ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکرومولار قرار گرفتند. نمونه‌های شاهد هم زمان در آب دیونیزه با pH 7 شناور شدند. تیمار دهی به مدت ۱۰ روز انجام و هر یک از نمونه‌های شاهد و تیمار شده (هریک با سه تکرار) برداشت و با آب دیونیزه شستشو داده شده و بعد از انجماد با نیتروژن مایع در فریزر  $-80^\circ C$  نگهداری شد. آب دیونیزه حاصل از شستشو و محلول درون جارها هرکدام تغلیظ و تا زمان انجام آنالیزها نگهداری شد. آنالیزهای بعدی بر روی نمونه‌ها نیز در سه تکرار مستقل صورت گرفت.

سنجش‌های بیوشیمیایی

اضافه و تا زمان تعیین محتوای آلومینیوم نگهداری شد. رسوب بدست آمده بعد از سانتریفیوژ نیز، درون کروزه‌های چینی قرار گرفته و در داخل کوره ابتدا دو ساعت در دمای ۳۵۰ و سپس ۲ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شدند. پس از سرد شدن به این نمونه‌ها نیز، ۵ میلی لیتر HCl یک نرمال اضافه و تا زمان تعیین محتوای آلومینیوم نگهداری شدند.

سنجش محتوای آلومینیوم از طریق وزن کردن ۲۰۰ میلی‌گرم از برگ، ریشه و همچنین زیتوده خشک نمونه‌های گیاهی شاهد و تیمار شده در کروزه‌های چینی انجام شد و در داخل کوره ابتدا دو ساعت در دمای ۳۵۰ و سپس ۲ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شدند. پس از سرد شدن به نمونه‌ها یک میلی‌لیتر از مخلوط آب مقطر - HCl یک نرمال اضافه شد. سپس نمونه‌ها در حمام شن در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از خشک شدن، ۵ میلی‌لیتر HCl یک نرمال افزوده شد. میزان آلومینیوم نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۵ میلی‌لیتر بافر سدیم استات (۱ M، pH ۵/۲)، ۰/۵ میلی‌لیتر DTAB (Dodecyl trimethyl ammonium bromide) ۱ میلی مولار، ۱/۵ میلی لیتر ECR (Eriochrome Red) ۰/۴ میلی مولار و ۱ میلی لیتر از نمونه‌ها به حجم نهایی ۲۵ میلی لیتر با آب دیونیزه رسانده شد. بعد از ورتکس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۸۴ نانومتر خوانده شد. نمونه‌های استاندارد آلومینیوم در غلظت‌های (۷۰۰-۱۰۰) میکرومولار تهیه شد.

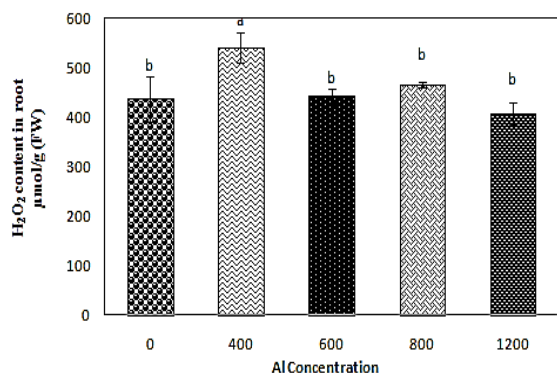
۰/۵ گرم از ریشه‌های تیمار شده در ۴ غلظت ذکر شده و همچنین از نمونه‌های شاهد به مدت ۵ ساعت در ۱۵ میلی لیتر آب دوبار تقطیر قرار داده شد. بعد از برداشت نمونه‌ها آب باقی مانده تغلیظ و مقدار

استیک اسید ۱۰ درصد اضافه و در سانتریفیوژ  $12000 \times g$  دور به مدت ۲۰ دقیقه (مراحل فوق در ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد) گذاشته شد. در پایان ۵ میلی لیتر از محلول رویی، ۵ میلی لیتر آب دیونیزه و ۱ میلی لیتر فریک کلرید ( $FeCl_3$ ) ۰/۱ درصد مخلوط و جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر تعیین شد.

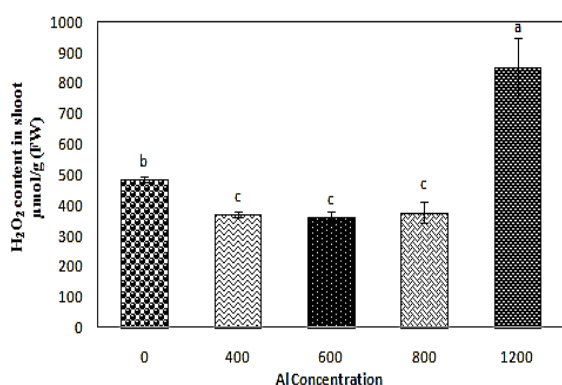
برای سنجش توان جاروب کنندگی رادیکال آنیون سوپراکسید روش تولید آنیون سوپراکسید به وسیله پیروگالال استفاده شد. به این منظور ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه را روی یخ با ۳ میلی‌لیتر بافر تریس-HCl (pH ۷/۵، ۵mM) ساییده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. محلول رویی را برداشته و با بافر به حجم ۳ میلی‌لیتر رسانده و بعد از این، ۵۰ میکرولیتر پیروگالال (۵۰mM در ۱۰HClmM) اضافه شد. جذب در دو نوبت، بعد از اضافه شدن پیروگالال و ۵ دقیقه بعد از آن، تعیین شد. همه مراحل یکبار بدون حضور عصاره نمونه به‌عنوان  $A_0$  که معرف سرعت اتواکسیداسیون پیروگالال است، انجام شد. درصد جاروب کنندگی رادیکال‌های آنیون سوپر اکسید طبق فرمول زیر محاسبه شد [۱۴].

$$[A_0 - (A_1 - A_2)] \times 100 / A_0$$

برای جدا کردن محتوای آلومینیوم سیم پلاستی و آپوپلاستی، ۲۰۰ میلی گرم از نمونه‌های ریشه برداشته و با ۳ میلی لیتر آب دیونیزه ساییده شد. سپس نمونه‌ها در سانتریفیوژ با  $12000 \times g$  دور به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. بخش روشناور به طور کامل درون کروزه‌های چینی منتقل و تا تبخیر کامل بر روی هیتز با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به هر کدام از کروزه‌ها ۵ میلی لیتر HCl یک نرمال



شکل ۱: تاثیر تیمار (400, 600, 800, 1200 µM) بر محتوای هیدروژن پروکسید ریشه در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.



شکل ۲: تاثیر تیمار (400, 600, 800, 1200 µM) بر محتوای هیدروژن پروکسید اندام هوایی در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

### فعالیت آنزیم PO

فعالیت پراکسیداز ریشه در گروه‌های تیمار کاهش معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان داده و کمترین فعالیت مربوط می‌شود به غلظت  $600 \mu\text{M}$  که ۹۵ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش داشته است (شکل ۳).

فعالیت آنزیم پراکسیداز اندام هوایی در غلظت  $400 \mu\text{M}$ ،  $2/8$  برابر در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته اما در سایر غلظت‌ها تفاوت معنی داری نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد (شکل ۴).

آلومینیوم آن با روش اسپکتروفتومتری تعیین شد تا مقدار آلومینیوم واجذب شده از ریشه‌ها اندازه‌گیری شود.

به منظور اندازه‌گیری pH به کمک pH متر (DIGITAL PH METER, FAN AZMAGOSTAR) مدل (PM12)، pH آب جارهای حاوی فیلتر در سه نوبت، ابتدای آزمایش-روز پنجم و روز دهم اندازه‌گیری شد. هم‌چنین برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (Electroconductivity) با استفاده از دستگاه (Conductivity meter PT-20(Sartariusgermany))، EC زیتوده خشک فیلترها در زمان تیمار دهی اندازه‌گیری شد.

### آنالیزهای آماری

کلیه آنالیزها با سه تکرار مستقل انجام گرفت. به منظور تحلیل داده‌ها و رسم نمودارهای مربوطه از نرم‌افزار SPSS, Excel و آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد و اختلاف میانگین داده‌ها با LSD مقایسه شد. میزان معنی دار بودن یا نبودن اختلاف‌ها در سطح  $p \leq 0.05$  بررسی شد.

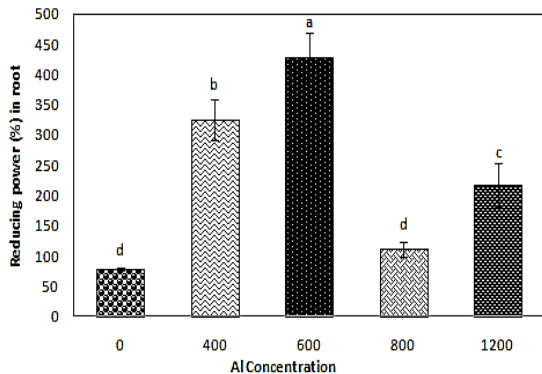
### نتایج

#### محتوای H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

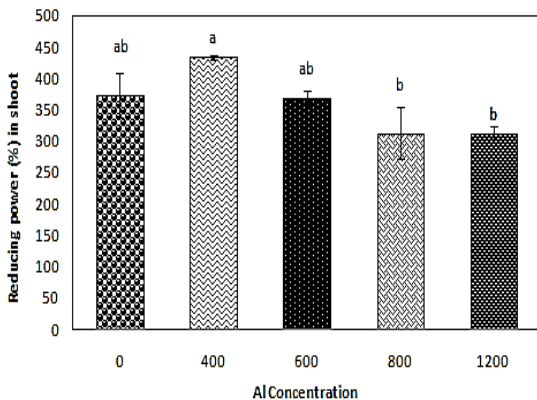
مقدار هیدروژن پروکسید ریشه در تیمار سه غلظت اول کاهش معنی دار، ولی در غلظت  $1200 \mu\text{M}$  در مقایسه با گروه شاهد ۷۳ درصد افزایش مشاهده شد (شکل ۱).

میزان H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> اندام هوایی تنها در غلظت  $400 \mu\text{M}$ ، ۲۳ درصد افزایش نشان داده و در سایر غلظت‌ها تفاوت معنی داری در مقایسه با گروه شاهد گزارش نشد (شکل ۲).

شکل ۶).



شکل ۵: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200 μM) بر احیا کنندگی آهن ریشه در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

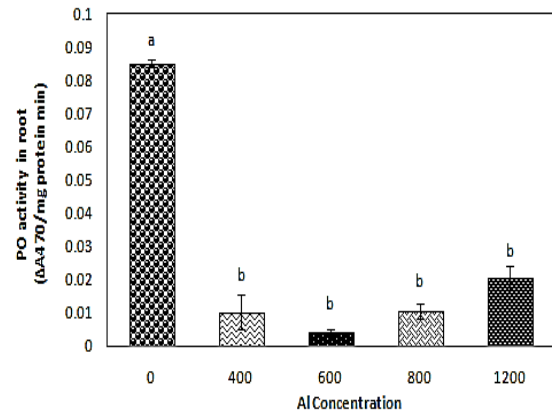


شکل ۶: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200 μM) بر احیا کنندگی آهن اندام هوایی در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

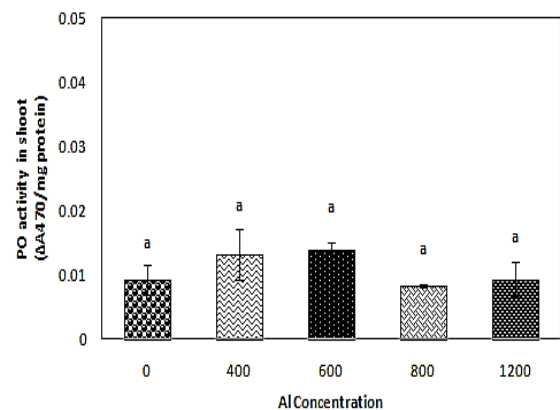
#### محتوای آنیون سوپراکسید

نتایج نشان داد که تیمار با غلظت 1200 μM تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد ندارد ولی در سایر غلظت‌ها شاهد افزایش معنی‌دار هستیم و بیشترین میزان مربوط می‌شود به غلظت 600 μM که 2/5 برابر گروه شاهد افزایش یافته است (شکل ۷).

در اندام هوایی نمونه‌های تیمار شده به جز در غلظت 600 با 1/02 برابر افزایش، سایر غلظت‌ها در



شکل ۳: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200 μM) بر فعالیت آنزیم PO ریشه در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.



شکل ۴: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200 μM) بر فعالیت آنزیم PO اندام هوایی در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

#### احیا کنندگی آهن

قدرت احیا کنندگی آهن ریشه به جز در غلظت 800 μM که تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت در سایر غلظت‌ها افزایش یافته و بیشترین میزان آن مربوط است به غلظت 600 μM که 4/4 برابر گروه شاهد افزایش یافته است (شکل ۵).

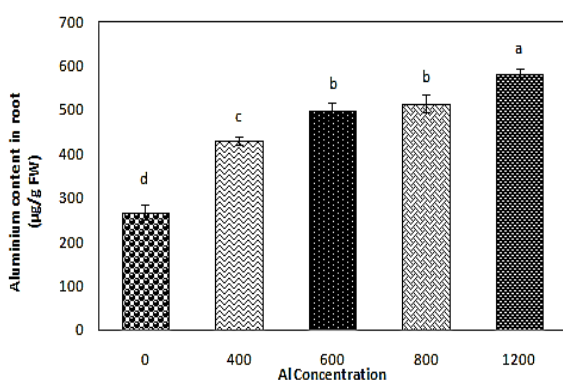
در اندام هوایی گیاه لیسیانوس تغییر معنی‌داری در قدرت احیا کنندگی آهن در گروه‌های مختلف تیمار شده با آلومینیوم در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نشد

بیشترین میزان آن در غلظت  $1200 \mu\text{M}$  با  $1/17$  برابر افزایش، مشاهده شد (شکل ۹).

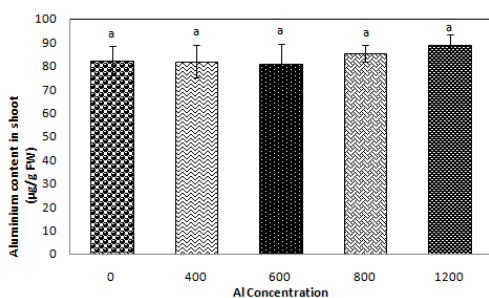
#### مقدار جذب آلومینیوم

#### مقدار جذب آلومینیوم در اندام هوایی

اندازه‌گیری محتوای آلومینیوم اندام هوایی گیاهان تیمار شده نشان داد انتقال آلومینیوم از ریشه به اندام هوایی گیاه متناسب با جذب آن در ریشه نبوده و لذا تفاوت میزان آلومینیوم در اندام هوایی در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۹)

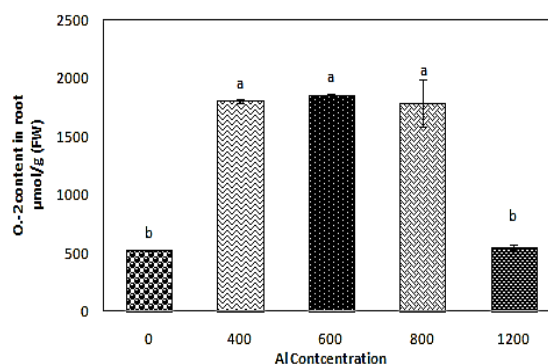


شکل ۹: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200  $\mu\text{M}$ ) بر محتوای آلومینیوم ریشه در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0/05$  می‌باشد.

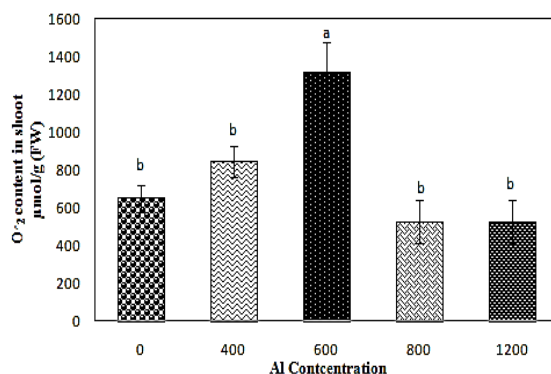


شکل ۱۰: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200  $\mu\text{M}$ ) بر محتوای آلومینیوم اندام هوایی در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0/05$  می‌باشد.

مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۸).



شکل ۷: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200  $\mu\text{M}$ ) بر محتوای آبیون سوپر اکسید ریشه در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0/05$  می‌باشد.



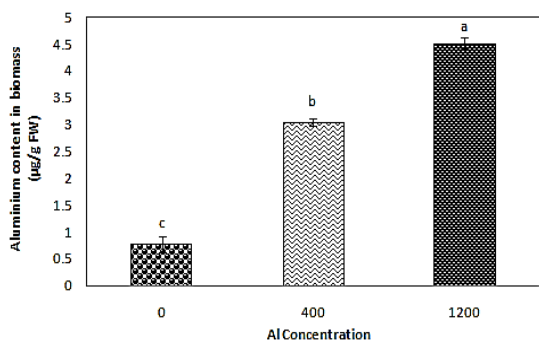
شکل ۸: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200  $\mu\text{M}$ ) بر محتوای آبیون سوپر اکسید اندام هوایی در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0/05$  می‌باشد.

#### مقدار جذب آلومینیوم

#### مقدار جذب آلومینیوم در ریشه

نتایج حاصل از سنجش میزان آلومینیوم در گیاهان تیمار شده و گیاهان شاهد بیانگر روند افزایشی محتوای آلومینیوم ریشه پس از قرارگیری آن در معرض غلظت‌های مختلف آلومینیوم می‌باشد. این افزایش جذب ریشه از لحاظ آماری معنی‌دار بود و

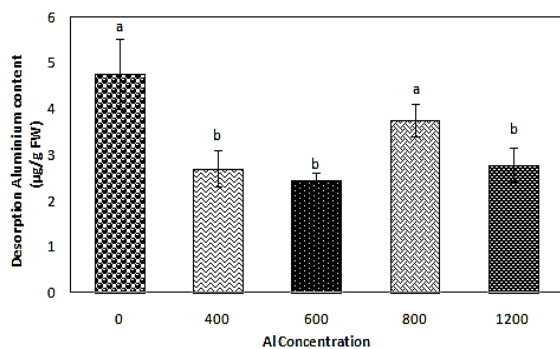
نشان داد و این افزایش معنی دار بود (شکل ۱۳).



شکل ۱۳: تاثیر تیمار Al (400, 1200 µM) بر محتوای آلومینیوم زیتوده خشک در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

مقدار آلومینیوم واجذب شده از ریشه

نتایج حاکی از آن است که ریشه‌های مورد بررسی نه تنها در زمان مورد نظر واجذبی نداشتند بلکه همچنان به جذب آلومینیوم در آب ادامه داده‌اند. محتوای آلومینیوم آب حاوی ریشه‌های تیمار شده کمتر از آب حاوی نمونه شاهد می‌باشد (شکل ۱۴).



شکل ۱۴: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200 µM) بر محتوای واجذب آلومینیوم ریشه در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

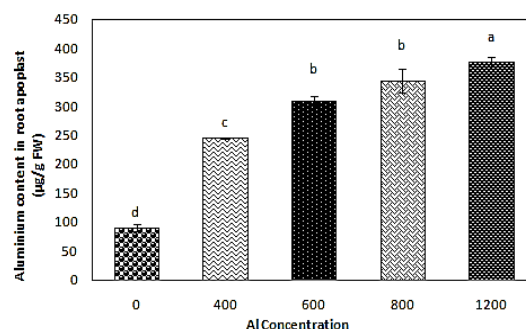
#### تغییرات pH

روند تغییرات pH در طول ده روز تیمار در هر دو گروه شاهد و تیمار رو به کاهش بوده است که در گروه تیمار و به خصوص در غلظت ۱۲۰۰ µM این

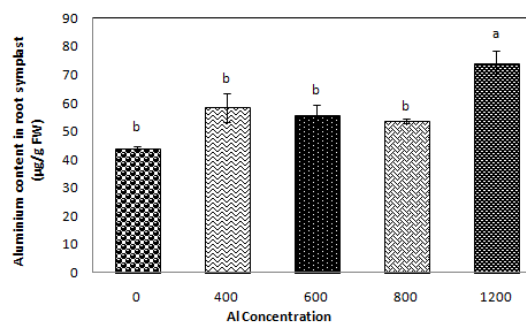
مقدار جذب آلومینیوم سیم پلاستی و آپوپلاستی

نتایج نشان می‌دهد با افزایش غلظت آلومینیوم تیمار، میزان جذب آن نیز در آپوپلاست ریشه افزایش یافته و این میزان نسبت به گروه شاهد معنی دار است (شکل ۱۱).

مقدار آلومینیوم اندازه‌گیری شده در سیم پلاست ریشه به جز در غلظت ۱۲۰۰ میکرومولار با ۶۸ درصد افزایش، در مابقی غلظت‌ها تغییر معنی داری با گروه شاهد نشان نداد (شکل ۱۲).



شکل ۱۱: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200 µM) بر محتوای آلومینیوم آپوپلاستی ریشه در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.



شکل ۱۲: تاثیر تیمار Al (400, 600, 800, 1200 µM) بر محتوای آلومینیوم سیم پلاستی ریشه در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

مقدار آلومینیوم زیتوده خشک

محتوای آلومینیوم جذب شده در دو غلظت ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکرومولار در مقایسه با گروه شاهد افزایش

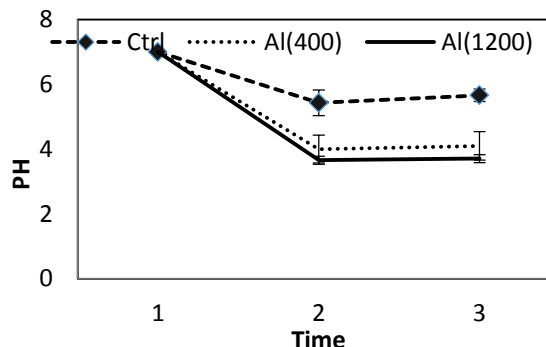


## بحث:

گزارش‌های متعدد نقش آلومینیوم را در تولید گونه‌ی فعال اکسیژن مولکولی (رادیکال‌های آنیون سوپراکسید ( $O_2^{\cdot-}$ ), رادیکال هیدروکسیل ( $OH$ ) و هیدروژن پروکسید ( $H_2O_2$ ) و ایجاد تنش اکسیداتیو تایید می‌کند [۵]. تولید گونه‌های فعال اکسیژن سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، تخریب پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌شود [۱۰]. گیاهان برای کاهش دادن اثر مخرب گونه‌های فعال اکسیژن مکانیسم‌های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیر آنزیمی) اشاره کرد. آنزیم پراکسیداز نقش مهمی را در جاروب کردن پراکسید هیدروژن دارد که این عمل با کمک اسید آسکوربیک به عنوان یک دهنده الکترون برای احیای پراکسید هیدروژن به آب صورت می‌گیرد [۸]. فعالیت SOD به تنهایی باعث افزایش پراکسید هیدروژن می‌شود که برای سلول سمی است. در نتیجه تبدیل این ترکیب در مراحل بعدی ضروری می‌باشد. در گیاهان این واکنش با فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و تبدیل  $H_2O_2$  به آب کاتالیز شده و مانع از تولید رادیکال‌های آزاد بیشتر توسط  $H_2O_2$  می‌شود [۱۷].

سنجش قدرت احیاکنندگی در عصاره‌ها ناشی از احیای آهن ۲ به آهن ۳ با انتقال الکترون است. میزان کمپلکس آهن با اندازه‌گیری میزان تشکیل رنگ آبی پروس در ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است حضور عوامل احیا کننده (آنتی اکسیدان‌ها) منجر به احیای کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آن‌ها به فرم فروس می‌شود که بسته به ظرفیت احیاکنندگی عصاره‌های مورد بررسی با تغییر رنگ محلول از زرد به درجات

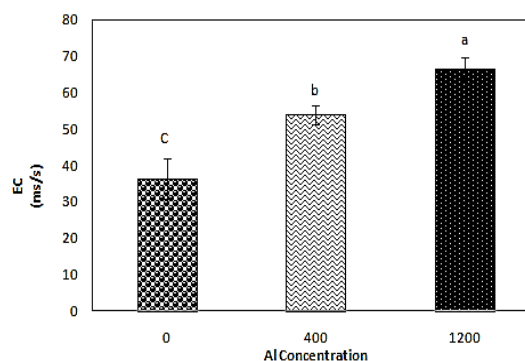
کاهش محسوس تر است. در گروه شاهد pH از ۷ به ۵/۷ رسیده در حالی که در غلظت  $1200 \mu M$ ، pH از ۷ به ۳/۷ تغییر کرده است (شکل ۱۵).



شکل ۱۵: تاثیر تیمار Al (400, 1200  $\mu M$ ) بر pH آب حاوی فیلترهای زیتوده خشک در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

## تغییر میزان هدایت الکتریکی (EC)

نتایج نشان دهنده افزایش میزان هدایت الکتریکی با افزایش غلظت محتوای آلومینیوم در طول تیمار نسبت به گروه شاهد است که در بیشترین میزان آن، ۱/۰۵ برابر افزایش، در مقایسه با گروه شاهد در غلظت  $1200 \mu M$  مشاهده شد (شکل ۱۶).



شکل ۱۶: تاثیر تیمار Al (400, 1200  $\mu M$ ) بر EC آب حاوی فیلترهای زیتوده خشک در مقایسه با گروه شاهد. داده‌ها میانگین سه تکرار و در هر گروه، حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد.

ممانعت انتقال فلز توسط ریشه، گیاه استراتژی‌های دیگری را نیز برای کاهش اثرات مضر تنش به کار می‌گیرد. فلز سنگین آلومینیوم به طور فعال از غشای تونوپلاستی عبور کرده، در واکوئل‌های سلول‌های ریشه انباشته می‌شود. این امر انتقال آلومینیوم را به بخش هوایی کند می‌کند و موجب انباشت مقادیر بیشتری از این فلز در ریشه‌ها نسبت به اندام هوایی می‌شود. از دیگر راهکارهای گیاه پیوند فلز آلومینیوم به دیواره سلول می‌باشد که منجر به کاهش تجمع فلز و در نتیجه به حداقل رساندن اثرات تنش در بخش هوایی گیاه می‌شود [۱۱]. اندازه‌گیری جداگانه میزان آلومینیوم سیم پلاستی و آپوپلاستی مشخص نمود که گیاه حجم بیشتری از آلومینیوم را در دیواره سلولی خود به دام انداخته و برای غیر متحرک‌سازی آن، از این راهکار استفاده نموده است. در بررسی واجذب آلومینیوم از ریشه‌های تیمار شده، مشخص شد که واجذبی رخ نداده و ریشه همچنان به جذب آلومینیوم ادامه داد که این توان بالای مکان‌های متصل شونده به آلومینیوم را در دیواره گیاه نشان می‌دهد.

مطالعه روند جذب آلومینیوم توسط زیتوده خشک گیاه، افزایش غلظت آلومینیوم در تیمار زیتوده‌های خشک گیاه را متناسب با افزایش غلظت آلومینیوم عرضه شده نشان داد. این امر مبین توان این گیاه برای جذب آلومینیوم حتی توسط زیتوده خشک آن است.

اندازه‌گیری pH محلول حاوی زیتوده خشک، روند کاهش pH در طول تیمار را نشان می‌دهد که احتمالاً به دلیل اتصال آلومینیوم به گروه کربوکسیل پکتین دیواره و آزادسازی پروتون آن و رها شدن در محیط می‌باشد. اندازه‌گیری EC محلول حاوی زیتوده‌های خشک و افزایش آن متناسب با غلظت تیمار، نشان از تبادلات یونی بیشتر در غلظت‌های بالاتر دارد و در

گونناگونی از رنگ‌های سبز و آبی همراه است [۱۸]. افزایش جذب در این طول موج حاکی از افزایش قابلیت احیا کنندگی است و رنگ آبی ایجاد شده با قدرت الکترون دهی آنتی اکسیدان‌های مورد آزمایش رابطه خطی دارد [۹].

به دنبال القای تولید آنیون سوپر اکسید در اثر تنش آلومینیوم در گیاهان تحت تیمار، افزایش میزان جاروب کنندگی این رادیکال آزاد و همچنین قدرت احیا کنندگی مشاهده شد. کاهش میزان پراکسید هیدروژن سبب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید اما افزایش SOD این کاهش را جبران نمود. در اندام هوایی، تغییرات معنی‌داری در هیچ کدام از موارد یاد شده مشاهده نشد.

گیاهان استراتژی‌های مختلفی را در رویارویی با عناصر سنگین در محیط خود اتخاذ می‌کنند که از جمله آن می‌توان به تراوش و تجمع اشاره نمود. تراوش رایج‌ترین استراتژی در گونه‌های متحمل به عنصر است. اما تجمع در گونه‌هایی که می‌توانند در خاک‌های فلزدار رشد کنند اتفاق می‌افتد. در گیاهان انباشت کننده تجمع فلز در ریشه‌ها بیشتر از اندام هوایی است [۱۶]. طبق نتایج حاصله از بررسی حاضر با افزایش غلظت آلومینیوم از ۴۰۰ تا ۱۲۰۰ میکرومولار، تجمع این عنصر در ریشه‌ها افزایش یافت در حالی‌که در اندام هوایی در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد دیده نشد. این نتایج نشان می‌دهد که گیاه لیسیانتوس انباشت کننده آلومینیوم می‌باشد. نکته جالب این است که در ریشه‌ها میزان تجمع آلومینیوم بیشتر از برگ‌ها است. نتایج نشان می‌دهد که ریشه مانند یک مانع آپوپلاستی و سیم پلاستی انتقال فلز عمل کرده و منجر به کاهش انتقال فلز به بخش‌های هوایی گیاه می‌شود. علاوه بر

- damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiology* 42: 1265- 1273
- [11] John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., & Sharma, S. (2012). Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*, 3(3), 65-76.
- [12] Konishi, S., Miyamoto, S. and Taki, T. (1985) Stimulatory effects of aluminum on tea plants growth under low and high phosphorus supply. *Soil Science and Plant Nutrition* 31:361-368.
- [13] Kuo, M. C., & Kao, C. H. (2003). Aluminum effects on lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities in rice leaves. *Biologia Plantarum*, 46(1), 149-152.
- [14] Li, X. (2012). Improved pyrogallol autoxidation method: a reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(25), 6418-6424.
- [15] Matsumoto, H., Hirasawa, E., Torikai, H., & Takahashi, E. (1976). Localization of absorbed aluminium in pea root and its binding to nucleic acids. *Plant and Cell Physiology*, 17(1), 127-137.
- [16] Pardo, F., & Imperato, F. (2006). Common hydroxyanthraquinones in alleviation of aluminium toxicity in plants. *PHYtochemistry: Advances in Research, Research Signpost, Trivandrum, India*, 137-147.
- [17] Sandalio, L. M., & Del Río, L. A. (1988). Intraorganellar distribution of superoxide dismutase in plant peroxisomes (glyoxysomes and leaf peroxisomes). *Plant Physiology*, 88(4), 1215-1218.
- [18] Soares, A. A., de Souza, C. G. M., Daniel, F. M., Ferrari, G. P., da Costa, S. M. G., & Peralta, R. M. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food chemistry*, 112(4), 775-781.
- [19] Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66.
- [20] Yamamoto, Y., Kobayashi, Y., Devi, S. R., Rikiishi, S., & Matsumoto, H. (2003). Oxidative stress triggered by aluminum in plant roots. In *Roots: The Dynamic Interface between Plants and the Earth* (pp. 239-243). Springer Netherlands.
- راستای کاهش pH محیط می باشد.
- ### منابع
- [۱] شکوهی خدیجه، قناتی فائزه، (۱۳۸۶). تاثیر آلومینیوم بر کاهش رشد و تغییر در ترکیبات دیواره سلول های توتون، نشریه علوم (دانشگاه خوارزمی) ۸۶۴-۸۵۵.
- [۲] نعمتی فرنوش، قناتی فائزه، (۱۳۸۷). بررسی تاثیر آلومینیوم بر فعالیت سیستم آنزیمی آنتی اکسیدان بر قلمه های ریشه دار گیاه لیسیانئوس
- [۳] نوریه، م. (۱۳۹۴). نقش فسفر در تحمل به آلومینیوم در گیاه لیسیانئوس (*Eustoma grandiflora* L.). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی.
- [4] Brunner, I., & Sperisen, C. (2014). Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. *Ecophysiology of root systems-environment interaction*, 96.
- [5] Devi, S. R., Yamamoto, Y., & Matsumoto, H. (2003). An intracellular mechanism of aluminum tolerance associated with high antioxidant status in cultured tobacco cells. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 97(1), 59-68.
- [6] Ghanati, F., Morita, A., & Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cells. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48(3), 357-364.
- [7] Ghanati, F., Morita, A., & Yokota, H. (2005). Effects of aluminum on the growth of tea plant and activation of antioxidant system. *Plant and soil*, 276(1-2), 133-141.
- [8] Gressel, J. and Galun, E. (1994) Genetic controls of photooxidant tolerance. In: C.H., Foyer, Mullineaux, P.M. (Eds.): *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants*. CRC Press Boca Raton: 237-274.
- [9] Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- [10] Jiang, M. and Zhang, J. (2001) Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative



