

بررسی تاثیر غلظت های مختلف سرب بر آناتومی گونه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) در مراحل مختلف تکوین

سیده زهره صادری^۱، فاطمه زرین کمر^{۲*}

۱. کارشناس ارشد علوم گیاهی؛ ۲. دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۱۰

چکیده

در دهه های اخیر، افزایش بی رویه فعالیت های بشر در زمینه صنعت و استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی در بخش کشاورزی، افزایش مقدار فلزات سنگین در محیط زیست را در پی داشته است. یکی از مهمترین فلزات آلاینده اکوسیستم سرب می باشد، با این وجود علی رغم اهمیت جهانی، مکانیسم های سمیت سرب در گیاهان به میزان کمی شناخته شده است. در این تحقیق با توجه به اهمیت دارویی و صنعتی بابونه آلمانی، پاسخ این گیاه در رویارویی با آلودگی سرب در سه مرحله رزت، ساقه دهی و غنچه دهی مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور گیاهان در مرحله رزت به محیط هیدروپونیک منتقل شده و تحت تیمار نیترات سرب با غلظت های ۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ میکرومول قرار گرفتند، بعد از طی هر یک از مراحل تکوینی مورد نظر، نمونه های گیاهی جهت انجام مطالعات مدنظر برداشت شدند. نتایج حاکی از تجمع قابل توجه سرب در ریشه این گونه نسبت به اندام هوایی بود. بررسی برش عرضی برگ، ساقه و ریشه گونه مذکور تحت تیمار سرب نشان داد افزایش جذب سرب اثرات مشابهی را بر آناتومی برگ و ساقه بابونه آلمانی در هر سه مرحله تکوین موجب شده است، در حالیکه تاثیر سرب بر آناتومی ریشه این گونه در مراحل مختلف تکوین متفاوت مشاهده شد. به طوری که در مرحله رزت آلودگی سرب، افزایش قطر آوند مرکزی و آوند چوبی را در پی داشت، اما در مرحله ساقه دهی این دو پارامتر با افزایش جذب سرب کاهش یافتند

واژه های کلیدی: آلودگی سرب، بابونه آلمانی، رزت، ساقه دهی، غنچه دهی، مطالعات آناتومی.

مقدمه

ضروری بوده و ممکن است حتی در مقادیر بسیار کم هم برای موجودات زنده سمی و کشنده باشد (Islam et al., 2007). آلودگی سرب سبب بروز مشکلات فراوانی برای گیاهان می شود؛ غلظت بالای سرب در سطح مورفولوژیک کاهش بیومس ریشه و اندام هوایی، مهار جوانه زنی، القای کلروز و نکروز برگ، تغییر رنگ و سوبرینی شدن ریشه را موجب می گردد (Islam et al., 2007, 2008; Kopittke et al., 2007). در فراساختار سلول، تغییر در اندازه و شکل کلروپلاست و افزایش اندازه واکوئل را ایجاد می کند (Islam et al., 2007; Liu et al., 2008) و در سطح فیزیولوژیک، در عمل روزنه ها، محتوای نیترات، تعادل آب سلول ها، فتوسنتز و تنفس اشکال ایجاد کرده، سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می شود (Liu et al., 2008; Islam et al., 2008).

سرب با عدد اتمی ۸۲ و وزن اتمی ۲۰۷/۲ یکی از فلزات سنگینی است که موجب آلودگی محیط زیست شده و مشکلات جدی برای همه جانداران به بار می آورد (Pais and Jones, 2000). منابع عمده سرب دود خروجی از آگزوز وسایل نقلیه بنزین سوز، رنگ های صنعتی و پساب های خانگی و صنعتی است (Harrison and Laxen, 1977). در ایران نیز با اینکه هنوز آلودگی خاک در حد کشورهای پیشرفته نیست، ولی توسعه سریع صنعتی و کشاورزی و استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی عوامل اصلی آلودگی اکوسیستم اطراف بزرگراه ها، محیط های شهری و زمین های کشاورزی محسوب می شوند (Rahmani et al., 2000; Samani majd et al., 2009; Karbasi et al., 2007).

این فلز از مهمترین فلزات آلاینده محیط زیست به حساب می آید که در فرآیندهای متابولیسمی عنصری غیر

سطحی است. برگ‌ها منقسم، باریک و کشیده بوده، به شکل متناوب روی ساقه قرار می‌گیرند. کشت این گیاه توسط بذر صورت می‌گیرد و مراحل تکوین این گونه را می‌توان به ۶ مرحله سبزشدن، رزت، به ساقه رفتن (ساقه‌دهی)، غنچه‌دهی، گلدهی و رسیدگی بذر تقسیم کرد (Ghahreman, 1994; Omidbeygi, 2000). طبق تحقیقات انجام شده این گونه توانایی مقاومت قابل توجهی در مقابل آلودگی فلزات سنگینی چون کادمیوم و نیکل دارد (Pavlovic et al., 2006; Kovacik et al., 2008).

بنابراین با در نظر گرفتن مقاومت قابل توجه بابونه آلمانی در مواجهه با برخی فلزات سنگین، واکنش این گونه نسبت به سمیت سرب، به عنوان یکی از جدی‌ترین آلاینده‌های زیست محیطی قابل توجه است (Islam et al., 2007). هم‌چنین با توجه به تاثیر تنش فلزات سنگین بر ساختار گیاه (Deng et al., 2009; Islam et al., 2001; Filotheou et al., 2007)، بررسی تغییرات آناتومی گیاهان تحت تنش، بر فهم تاثیرات سمیت سرب در گیاهان کمک بسیاری می‌کند. از طرف دیگر، از آنجا که گیاهان در مراحل مختلف رشد، پاسخ‌های متفاوتی به تنش می‌دهند، در این تحقیق تاثیر آلودگی سرب بر آناتومی گونه بابونه آلمانی در مراحل مختلف تکوین مورد بررسی قرار گرفت. از بین مراحل تکوین بابونه سه مرحله رزت، ساقه‌دهی و غنچه‌دهی در این مطالعه مورد توجه قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسی تغییرات آناتومیک بابونه آلمانی تحت غلظت‌های مختلف سرب در مراحل مختلف تکوین در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. کاشت گیاهان و شروع تیمار: بذر بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*) از مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان تهیه گردید. بذرها مهرماه ۱۳۸۷ در گلخانه علوم گیاهی دانشگاه تربیت مدرس با دمای ۱۵/۱۰ درجه سانتی‌گراد، در مخلوطی از خاک و شن در عمق یک سانتی‌متری کشت شدند. سپس گیاهان نود روزه از محیط گلخانه به اتاق کشت و محلول ۱/۲ هوگلند اصلاح شده با pH کنترل شده 6.7 ± 0.2 ، هوادهی مداوم، فتوپریود ۱۶ ساعته و دمای ۲۵/۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند

گیاهان برای بقا در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین سه مکانیسم اصلی را در پیش می‌گیرند، بنابراین می‌توان از این حیث آن‌ها را به سه دسته تقسیم کرد:

(۱) گیاهان معرف^۱: این گیاهان فلزات را در بافت‌های هوایی خود انباشته می‌کنند و اثرات ناشی از سمیت فلز مانند زرد شدن، چروکیدگی و پیری زودرس برگ‌ها - با توجه به غلظت فلز محیط - در این گیاهان پدیدار می‌شود. در این گیاهان غلظت فلز جذب شده در گیاه بیانگر غلظت فلز در خاک است (Memon, 2001; Kupper et al., 1999).

(۲) گیاهان دوری‌گزین^۲: این گیاهان علی‌رغم حضور غلظت‌های بالای فلزات سنگین در خاک، به طور موثر مانع ورود فلز به اندام هوایی می‌شوند و ممکن است حاوی مقادیر بالایی از فلزات در ریشه‌های خود باشند (Prabha and Padmavathiamma, 2007).

(۳) گیاهان انباشته کننده^۳: این گیاهان در آلودگی‌های کم تا زیاد توانایی جذب و تجمع فلزات سنگین را در اندام هوایی خود دارند (Memon et al., 2001; Kupper et al., 1999). در واقع غلظت فلز در این گیاهان در حدود ۱۰۰۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از غلظت فلز در سایر گیاهانی است که در خاک‌های آلوده رشد می‌یابند (Anderson et al., 1999; McGrath et al., 2002).

جذب سرب به وسیله گیاهان و ورود آن به زنجیره غذایی، سلامت انسان‌ها و حیوانات را به گونه‌ای جدی تهدید می‌کند. علی‌رغم اهمیت جهانی مساله آلودگی سرب، هنوز نامشخص است که چه غلظت‌هایی از سرب سبب کاهش رشد گیاهان مختلف می‌گردد و متاسفانه مکانیسم‌های سمیت سرب در گیاهان به میزان کمی شناخته شده است (Kopittke et al., 2007; Islam et al., 2007).

یکی از گونه‌هایی که واکنش آن نسبت به آلودگی فلزات سنگین مورد بررسی قرار گرفته است بابونه آلمانی است، بابونه آلمانی با نام علمی *Matricaria chamomilla* و *Matricaria recuita* گیاه علفی و یک‌ساله با ارتفاعی بین ۵۰ تا ۸۰ سانتی‌متر و از خانواده کاسنی است. ریشه این گیاه مخروطی شکل و کم و بیش

1. metal indicator
2. metal excluders
3. metal accumulator

میکروسکوپ Olympus (مدل BH2)، ساخت کشور ژاپن) تحت مطالعات میکروسکوپی قرار گرفتند و توسط دوربین Olympus (مدل DP12) از آن‌ها عکس‌هایی گرفته شد. در نهایت اندازه‌گیری‌ها در سطح سلول به وسیله نرم افزار Measurement انجام گردید. مطالعات آماری: آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد. هم‌چنین رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت پذیرفت.

نتایج

نتایج حاصل از مطالعات آناتومیکی برش عرضی برگ و ساقه در مراحل مختلف تکوین نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های سلولی بافت‌های مختلف برگ و ساقه در مراحل مختلف تکوین نشان داد که افزایش غلظت سرب تا ۱۸۰ میکرومول سبب کاهش ضخامت اپیدرم و آوند چوبی و آبکشی برگ و ساقه، ضخامت پهنک برگ، پارانشیم مغز و قطر ساقه و افزایش ضخامت کوتیکول برگ و پارانشیم پوست ساقه شده است، اما قطر کیسه‌های ترش‌حی و ضخامت کوتیکول ساقه در تیمارهای مختلف با نمونه شاهد در سطح ۰/۰۱ تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول‌های ۱ و ۲ و شکل ۱).

نتایج حاصل از مطالعات آناتومیکی برش عرضی ریشه در سه مرحله تکوین

آلودگی سرب در مراحل مختلف تکوین اثرات متفاوتی بر آناتومی ریشه بابونه داشت. در مرحله پنجه‌دهی افزایش غلظت سرب تا ۱۸۰ میکرومولار، افزایش در قطر ریشه، آوند مرکزی و آوند چوبی را در پی داشت اما در مرحله ساقه‌دهی افزایش جذب سرب موجب کاهش قطر آوند مرکزی و آوند چوبی می‌شود. براساس نتایج حاصل، در غلظت ۱۸۰ میکرومولار آوند آبکش در مرحله پنجه‌دهی و ساقه‌دهی به ترتیب دارای کمترین و بیشترین قطر است (جدول ۳ و شکل ۲، B و C).

براساس نتایج حاصل، در مرحله غنچه‌دهی بیشترین و کمترین اندازه قطر ریشه، آوند مرکزی، چوبی و آبکش به ترتیب در تیمار ۲۴۰ و ۱۸۰ میکرومولار سرب مشاهده شد و تیمارهای ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میکرومولار در قطر ریشه،

(Utmazian et al., 2007). سعی شد تمام بوته‌های انتقال داده شده در این مرحله همسان باشند. بعد از هشت روز نگهداری در شرایط کنترل شده جهت سازگاری با محیط جدید، نمونه‌های گیاهی تحت تیمار نیترات سرب با غلظت‌های ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ میکرومول قرار گرفتند. محلول غذایی هر چهار روز یکبار تعویض می‌شد.

برداشت نمونه‌های گیاهی در سه مرحله رزت، ساقه‌دهی و غنچه‌دهی: نمونه‌های گیاهی در سه مرحله برداشت شدند؛ اولین برداشت هفت روز بعد از تیماردهی و در مرحله رزت انجام شد. جمع‌آوری دوم چهارده روز بعد از تیماردهی انجام شد. در این زمان گیاهان مورد مطالعه وارد مرحله ساقه‌دهی شده بودند. برداشت سوم نیز در بیست و یکمین روز تیمار و در مرحله غنچه‌دهی انجام شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها برای هضم/اسیدی و استخراج سرب از گیاه: نمونه‌های خشک‌شده اندام هوایی و ریشه توسط نیتروژن مایع در هاون کوبیده و تبدیل به پودر شدند. سپس میزان ۰/۵ گرم از پودر تهیه شده از اندام هوایی و ریشه برای انجام فرآیند هضم اسیدی توزین شد. در این تحقیق از روش اکسیداسیون تر برای استخراج سرب از گیاه استفاده شد. بدین منظور آمیزه‌ی نیتریک اسید، پرکلریک اسید و سولفوریک اسید با نسبت حجمی ۴۰ : ۴ : ۱ به کار رفت (Gupta, 2000).

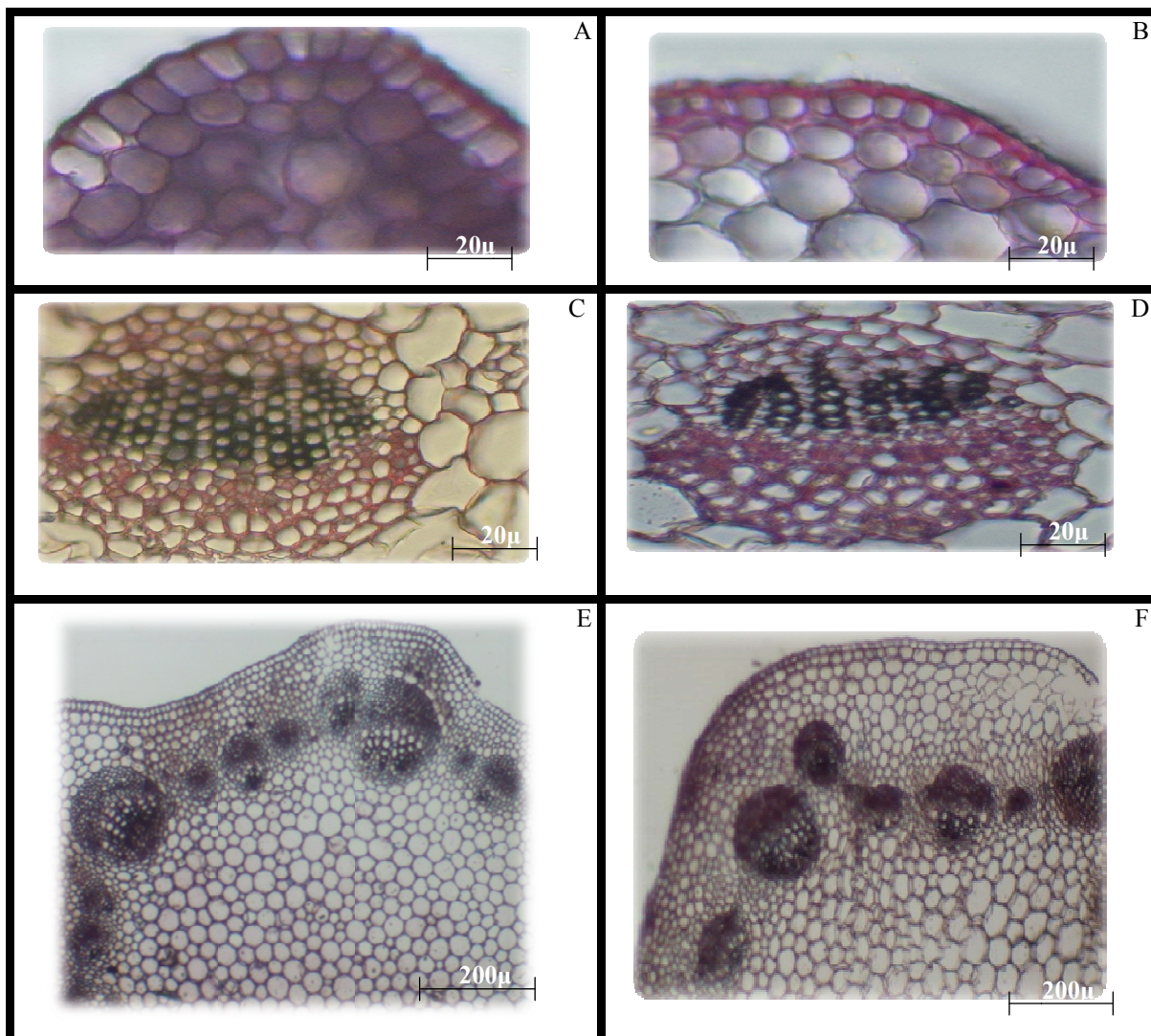
سنجش میزان سرب در نمونه‌های گیاهی: نمونه‌های گیاهی و محلول‌های استاندارد به منظور سنجش میزان سرب موجود در آن‌ها توسط دستگاه ICP-OES (مدل VISTA-PRO ساخت شرکت varian، کشور استرالیا) مورد آنالیز قرار گرفتند.

تهیه برش از نمونه‌های برداشت شده جهت مطالعات آناتومی: از نمونه‌های فوق برای بررسی و مطالعات آناتومی با میکروسکوپ نوری، برش‌گیری شد. برش‌های برگ، ساقه و ریشه در ۳ تکرار برای هر تیمار انجام شد. از نواحی راسی و نیز در نزدیکی یقه برش‌گیری از ریشه و ساقه صورت گرفت، در مرحله بعدی برش‌های تهیه شده رنگ آمیزی شدند.

رنگ آمیزی برش‌های تهیه شده و انجام مطالعات میکروسکوپی: پس از رنگ آمیزی مضاعف و استفاده از کارمن زاجی و سبز متیل از نمونه‌های مورد مطالعه لام‌های ثابت تهیه شد. لام‌های مذکور، توسط

پارانشیمی را در پی دارد. از طرف دیگر افزایش این آلاینده در محیط رشد گیاه باعث شده که دستجات آوندی سریع‌تر وارد رشد ثانویه شود.

آوند مرکزی و آوند چوبی تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (جدول ۳) و (شکل ۲، D). هم‌چنین مشاهده شد که در هر سه مرحله تکوینی افزایش غلظت سرب ضخیم شدن دیواره سلول‌های



شکل ۱. تصاویر برش عرضی برگ در نمونه‌های شاهد و تیمار. A و B: اپیدرم تحتانی و کوتیکول در نمونه شاهد (A) و تیمار ۱۸۰ میکرومولار (B) مرحله غنچه دهی. C و D: رگبرگ اصلی در نمونه شاهد (C) و تیمار ۱۸۰ میکرومولار (D) مرحله غنچه دهی. E و F: مقطع عرضی ساقه در نمونه شاهد (E) و تیمار ۱۸۰ میکرومولار (F) مرحله ساقه دهی.

Fig. 1. Cross section of leaf in control and 180 μ M treatments. A & B: abaxial epidermis and cuticle of leaf in control (A) and 180 μ M treatment (B) plants in flowering stage; C & D: midrib of control (C) and 180 μ M treatment (D) plants in flowering stage; F & E: cross section of stem in control (E) and 180 μ M treatment (F) plants in shooting stage.

جدول ۱. تاثیر آلودگی سرب بر ساختار برگ بایوپنه آلمانی در مراحل مختلف تکوین.
Table 1. Influence of Pb pollution on leaf structural of *M. chamomilla* in different stages of development.

developmental stages	Pb concentration (µM)	ضخامت اپیدرم		ضخامت کوتیکول		قطر رگبرگ		قطر کیسه		Leaf area
		ضخامت اپیدرم	ضخامت اپیدرم	ضخامت کوتیکول	ضخامت کوتیکول	میانگین	میانگین	قطر آوند آبکش	قطر آوند چوبی	
		thickens of adaxial epidermis	thickens of abaxial epidermis	thickens of adaxial cuticular	thickens of abaxial cuticular	diameter of midrib leaf	diameter of xylem	diameter of phloem	diameter of glandular duct	
rosette	0	10.45 a	12.32 a	1.20 d	1.74 d	91.44 a	34.56 a	12.74 a	28.44 a	383.54 a
	60	9.99 b	11.52 b	1.40 c	2.08 c	79.90 c	28.80 c	11.72 bc	27.86 a	374.12 b
	120	9.95 b	10.11 c	1.84 b	2.58 b	85.55 b	31.74 b	12.12 b	27.15 a	377.17 b
	180	9.02 d	8.61 e	2.20 a	3.04 a	70.79 e	23.62 d	10.00 d	25.34 a	353.06 d
shooting	240	9.49 c	9.33 d	2.03 ab	2.73 b	75.01 d	26.69 c	11.35 c	26.70 a	360.56 c
	0	11.28 a	11.72 a	1.45 d	1.81 d	96.91 a	35.56 a	14.24 a	29.47 a	400.35 a
	60	11.00 ab	11.40 a	1.93 c	2.46 c	86.55 b	32.13 b	12.96 b	28.92 a	394.21 a
	120	10.32 c	10.71 b	2.52 ab	2.79 ab	78.90 c	30.79 b	11.88 c	28.14 a	373.40 b
flowering	180	9.52 d	10.15 c	2.68 a	3.04 a	73.94 d	25.41 c	10.52 d	25.87 a	359.57 c
	240	10.70 bc	11.03 b	2.20 bc	2.73 bc	84.14 b	30.14 b	12.58 b	28.03 a	378.92 b
	0	11.61 a	11.69 a	1.71 c	1.84 c	98.92 a	39.56 a	15.36 a	30.24 a	407.02 a
	60	11.21 a	11.58 a	2.29 b	2.70 b	89.80 b	36.79 b	13.60 b	29.55 a	398.88 a
	120	10.62 b	10.87 b	2.56 ab	2.92 ab	79.70 c	31.80 c	13.01 c	28.67 a	378.07 b
	180	10.09 c	10.48 c	2.84 a	3.10 a	77.34 c	29.60 c	12.29 d	26.47 a	365.24 c
	240	10.67 b	11.08 b	2.32 b	2.76 b	87.48 b	36.24 b	13.68 b	28.89 a	382.59 b

Within each column, means followed by the same letter are not significantly different at the 0.01 level of probability by Duncan's multiple range tests

جدول ۲. تاثیر آلودگی سرب بر ساختار ساقه بابونه آلمانی در مراحل مختلف تکوین.

Table 2. Influence of Pb pollution on stem structural of *M.chamomilla* in different stages of development

مراحل تکوین	غلظت سرب (میکرومول)	ضخامت اپیدرم (میکرومتر)	ضخامت کوتیکول (میکرومتر)	ضخامت پارانشیم پوست (میکرومتر)	قطر دسته آوندی (میکرومتر)	قطر آوندچوبی (میکرومتر)	قطر آوند آبکش (میکرومتر)	قطر مغز ساقه (میکرومتر)	قطر ساقه (میکرومتر)
developmental stages	Pb concentration μM	thickness of epidermis	thickness of cuticle	thickness of cortex	diameter of vascular system	xylem diameter	phloem diameter	pith of stem	diameter of stem
ساقه‌دهی shooting	0	7.52 a	0.68 a	41.34 c	70.91 a	30.22 a	10.52 a	495.49 a	600.35 a
	60	7.17 b	0.69 a	44.08 b	65.44 b	27.44 b	10.01 b	485.46 b	583.54 b
	120	6.22 c	0.72 a	54.48 a	47.25 d	23.61 c	9.16 c	476.93 b	576.07 b
	180	6.16 c	0.73 a	55.86 a	44.55 d	22.08 c	8.91 c	468.38 c	567.57 c
	240	6.97 b	0.70 a	45.03 b	60.26 c	26.12 b	9.98 b	481.69 b	578.92 b
غنچه‌دهی flowering	0	7.56 a	0.68 a	43.12 c	71.91 a	31.22 a	11.72 a	496.82 a	601.85 a
	60	7.23 a	0.69 a	45.64 b	66.01 b	28.56 b	11.21 b	491.37 a	585.14 b
	120	6.23 b	0.72 a	55.68 a	49.58 c	24.71 c	10.59 c	479.22 b	578.74 b
	180	6.12 c	0.73 a	56.79 a	47.22 c	23.09 c	10.02 d	469.32 c	568.52 c
	240	7.01 b	0.70 a	46.36 b	63.18 b	27.13 b	11.18 b	482.16 b	579.65 b

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مشترک نشان داده شده اند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند. $P \leq 0/01$

Within each column, means followed by the same letter are not significantly different at the 0. 01 level of probability by Duncan's multiple range tests.

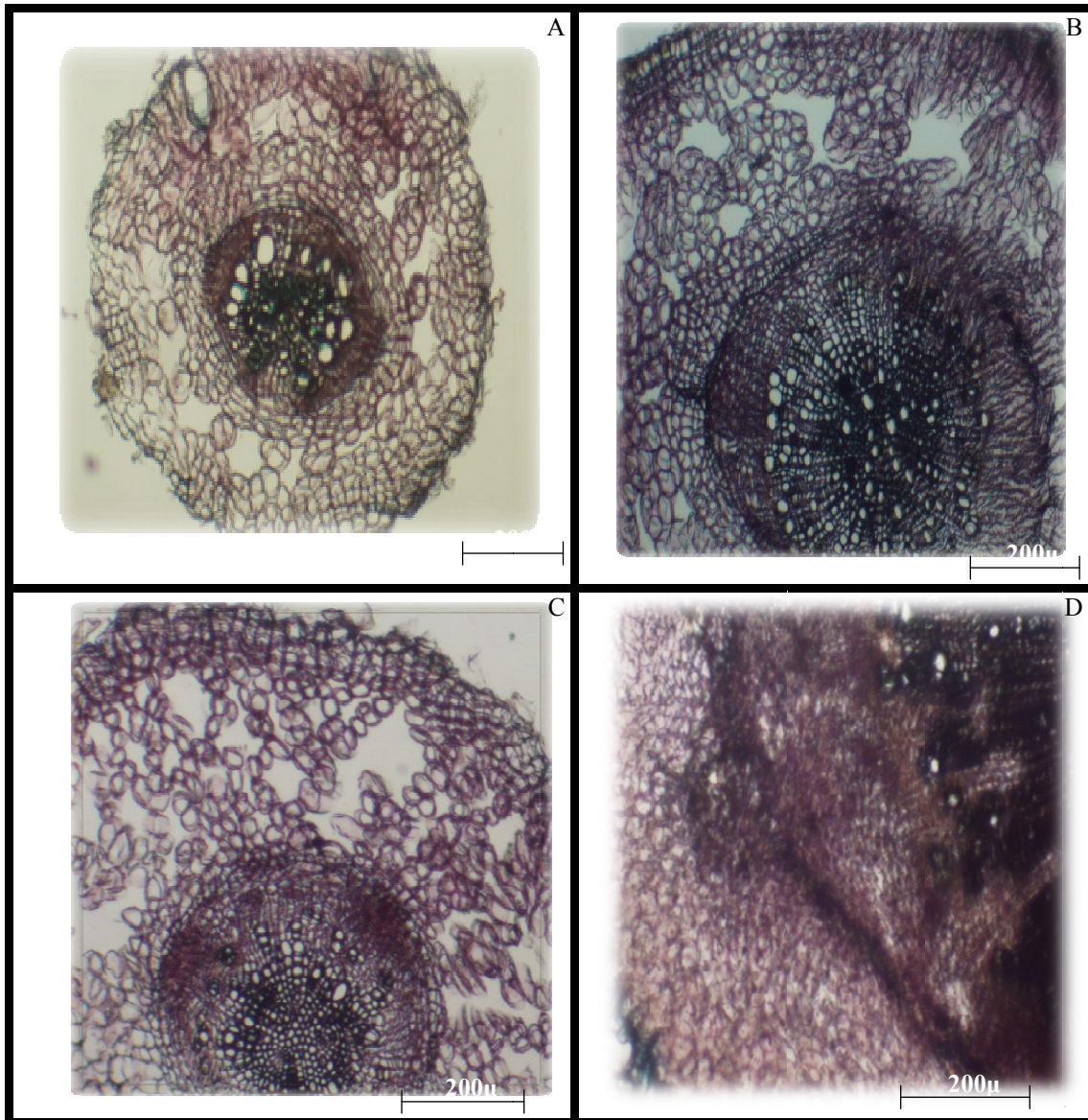
جدول ۳. تاثیر آلودگی سرب بر ساختار ریشه بابونه آلمانی در مراحل مختلف تکوین.

Table 1. Influence of Pb pollution on root structural of *M.chamomilla* in different stages of development.

مراحل تکوین	غلظت سرب (میکرومول)	قطر آوند مرکزی (میکرومتر)	قطر آوندچوبی (میکرومتر)	قطر آوند آبکش (میکرومتر)	قطر ریشه (میکرومتر)
developmental stages	Pb concentration (μM)	diameter of central vascular	diameter of xylem (μm)	diameter of phloem (μm)	Leaf area (μm)
رزت rosette	0	259.31 c	170.47 c	53.69 a	624.77 c
	60	263.20 b	179.43 b	52.85 b	630.10 b
	120	263.90 b	184.61 b	50.38 b	632.33 b
	180	268.89 a	194.63 a	45.45 c	641.96 a
	240	267.64 a	189.81 a	47.26 c	638.36 a
ساقه‌دهی shooting	0	270.31 a	188.54 a	54.54 c	630.11 c
	60	267.05 b	183.36 b	55.36 b	638.57 b
	120	264.81 bc	180.10 bc	56.55 b	642.36 ab
	180	264.59 c	177.36 c	57.71 a	644.73 a
	240	266.61 bc	183.84 b	55.74 b	638.76 b
غنچه‌دهی flowering	0	270.43 c	189.40 c	56.05 c	635.84 c
	60	274.76 ab	193.64 ab	58.51 ab	650.00 a
	120	273.31 b	192.67 b	57.57 b	645.36 b
	180	272.88 b	192.55 b	57.63 b	644.57 b
	240	276.60 a	195.37 a	59.44 a	651.83 a

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مشترک نشان داده شده اند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند ($P \leq 0/01$)

Within each column, means followed by the same letter are not significantly different at the 0. 01 level of probability by Duncan's multiple range tests.



شکل ۲. تصاویر برش عرضی ریشه در (A) نمونه شاهد، (B) نمونه تحت تیمار ۱۸۰ میکرومولار در مرحله پنجه‌دهی، (C) نمونه تحت تیمار ۱۸۰ میکرومولار در مرحله ساقه‌دهی، و (D) نمونه تحت تیمار ۲۴۰ میکرومولار در مرحله غنچه‌دهی.

Fig. 2. Cross section of root in control (A); 180 µM treatment in rosette stage (B); 180 µM treatment in shooting stage (C); 240 µM treatment in flowering stage (D). phloem:ph; xylem: xy; space:S.

غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی گیاهان تحت تیمار نتایج حاصل از سنجش میزان سرب در اندام هوایی و ریشه گیاهان تحت تیمار و نمونه‌های شاهد در هر سه مرحله مورد مطالعه حاکی از تفاوت معنی‌دار جذب سرب در ریشه و اندام هوایی بود. هم‌چنین بیشترین تجمع سرب در هر سه مرحله تکوین در تیمار ۱۸۰ میکرومولار مشاهده شد. در مرحله پنجه‌دهی، تیمار ۶۰ میکرومولار دارای کمترین غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی بود. در مرحله ساقه‌دهی مشاهده شد که تیمارهای ۶۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ میکرومولار در میزان غلظت سرب اندام هوایی و ریشه تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (جدول ۴).

میزان غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی گیاهان تحت تیمار با هم ندارند، هم‌چنین تفاوت در غلظت سرب اندام هوایی دو تیمار ۶۰ و ۲۴۰ میکرومولار سرب نیز معنی‌دار نبود. در مرحله غنچه‌دهی نیز بیشترین غلظت سرب در ریشه و قسمت سبز اندام هوایی در تیمار ۱۸۰ میکرومولار دیده شد. تیمارهای ۶۰ و ۲۴۰ میکرومولار در میزان غلظت سرب ریشه و اندام زایشی با یکدیگر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (جدول ۴).

جدول ۴. غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی بابونه آلمانی در مراحل مختلف تکوین

Table 4. Lead concentrations in root and shoot of *M. chamomilla* in different stages of development.

مراحل تکوین stages of development	غلظت سرب Pb concentration	Pb concentration in			غلظت سرب در
		(root)	ریشه	(shoot)	اندام هوایی گل (flower)
میکرومول (μM)					
رزت rosette	0	2.1 e		1.8 e	-
	60	10.4 d		4.6 d	-
	120	39.7 c		6 c	-
	180	108 a		12.8 a	-
	240	70.4 b		8.6 b	-
ساقه‌دهی shooting	0	7.6 c		1.4 d	-
	60	20.8 b		1.9 c	-
	120	20.5 b		2.9 b	-
	180	25.9 a		3 a	-
	240	20.4 b		2.1 c	-
غنچه‌دهی flowering	0	1.1 d		0.6 e	0.9 d
	60	9.4 b		3.7 b	4 c
	120	5.3 c		2.1 d	17.8 a
	180	23.8 a		4.2 a	5.5 b
	240	7.5 b		3.5 c	3.6 c

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مشترک نشان داده شده اند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند. $P \leq 0/01$

Within each column, means followed by the same letter are not significantly different at the 0. 01 level of probability by Duncan's multiple range tests.

بحث

نتایج حاصله از مطالعات آناتومیکی برش عرضی برگ و

ساقه در سه مرحله تکوین

تغییرات محیطی منجر به تغییرات آناتومیکی در سلول و بافت‌های برگ می‌شود (Islam et al., 2007). گزارشات متفاوتی در رابطه با تاثیر فلزات سنگین بر آناتومی برگ گیاهان تحت تنش در دسترس است. در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۹ روی گونه *Arachis hypogaea* L. انجام گردید اعلام شد تنش سرب افزایش در اندازه سلول‌های اپیدرمی و ضخامت برگ را در پی دارد (Shi and Cai, 2009). درحالی که مطالعه روی گندم تحت تنش سرب، کادمیوم و نیکل نشان داد سرب و کادمیوم کاهش در اندازه سلول‌های اپیدرمی و نیکل افزایش در طول این سلول‌ها را هم در سطح فوقانی و هم در سطح تحتانی موجب می‌شود (Kovacevik et al., 1999). هم چنین تنش فلزات سنگین تغییراتی را در آناتومی ساقه گیاهان ایجاد می‌کند که این تغییرات در گیاهان گوناگون و تحت تنش‌های مختلف متفاوت است. طبق گزارشات تنش کادمیوم و مس روی گونه *Sorghum bicolor* باعث کاهش در قطر

سیستم آوندی و آوند چوبی ساقه شده است (Kasim, 2006). از طرف دیگر طبق مطالعه انجام شده غلظت‌های سمی نیکل سبب افزایش قطر سیستم آوندی ساقه و کاهش ضخامت پارانشیم پوست در گونه *Grevillea exul* می‌شود (Rabier et al., 2008).

در این مطالعه کاهش اندازه سلول‌های برگ و ساقه در بافت‌های اپیدرم، آوند چوبی و آبکش و پهنک برگ و مغز ساقه که در هر سه مرحله تکوین در نمونه‌های تیمار دیده شد می‌تواند نتیجه کم شدن انعطاف‌پذیری دیواره سلولی در مواجهه با سرب باشد (Kasim, 2006). فلزات سنگین از جمله سرب عملکرد میکروتوبول‌ها را تحت تاثیر قرار داده و از این طریق رشد سلول‌ها را محدود می‌کنند (Adamakis et al., 2010).

کاهش سطح پهنک، در گیاهان تحت تنش، ترقق و مبادله گازها را کاهش می‌دهد؛ هم چنین کوچک شدن قطر رگبرگ میانی به ویژه آوند چوبی اختلال در نقل و انتقال آب و مواد معدنی را سبب می‌شود (Kosobrukhov et al., 2004).

نتایج حاصل از مطالعات آناتومیکی برش عرضی ریشه در سه مرحله تکوین

فلزات سنگین روی آناتومی ریشه گیاهان مختلف، تاثیرات متفاوتی داشته‌اند و جذب و تجمع فلزات در غلظت‌های بالا منجر به تغییرات ساختاری و زیرساختاری در ریشه گیاهان گوناگون شده است. طبق بررسی صورت گرفته تنش کادمیوم و مس، کاهش در ضخامت پارانشیم پوست، بافت پارانشیم مغز، سیستم آوندی و آوند چوبی ریشه را در گونه *Sorghum bicolor* در پی دارد (Kasim, 2006). در مطالعه دیگری روی گونه *Origanum vulgare* تحت تنش مس مشخص شد که سمیت مس کاهش قطر ریشه و افزایش قطر آوند چوبی را موجب می‌شود اما بر قطر آوند آبکش تاثیری ندارد (Bosabalidis and Filotheou, 2004).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنش سرب در مراحل مختلف تکوین اثرات متفاوتی بر آناتومی ریشه بابونه آلمانی دارد. درواقع ریشه به عنوان اولین اندام گیاهی در مواجهه با فلز سنگین متناسب با مراحل مختلف تکوین مکانیسم‌های خاصی را به کار می‌گیرد. در مراحل اولیه رشد با افزایش جذب سرب از طریق ریشه، افزایش قطر ریشه و آوند مرکزی و چوبی مشاهده شد، اما با ورود گیاه به مرحله زایشی کاهش معنی‌دار پارامترهای ذکر شده در نمونه‌های تحت تنش مشاهده گردید. از طرف دیگر پس از طولانی شدن دوره تنش، در تیمار ۲۴۰ میکرومولار افزایش معنی‌داری در قطر ریشه و آوندها دیده شد که مکانیسمی در جهت جبران کاهش رشد است (Bosabalidis and Filotheou, 2004).

به دنبال کاهش و یا ناپدید شدن فضاهای بین سلولی در کورتکس ریشه تیمار ۲۴۰ میکرومولار سرب و ضخیم شدن دیواره سلولی سلول‌های کورتکس، پیشنهاد می‌شود که امکان دارد دیواره سلولی سلول‌های کورتکس محل تجمع سرب باشد.

منابع

Adamakis, I.S., Panteris, E., Eleftheriou, E.P., 2010. Tungsten affects the cortical microtubules of *Pisum sativum* root cells: experiments on tungsten–molybdenum antagonism. *Plant Biol. (Stuttg)*. 12, 114–124.

غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه گیاهان تحت تیمار در

سه مرحله تکوین

براساس نتایج حاصل از این مطالعه تجمع قابل توجهی از سرب در ریشه بابونه آلمانی مشاهده شد که با غلظت سرب اندازه‌گیری شده در اندام هوایی تفاوت معنی داری داشت. این تفاوت ممکن است نتیجه یکی از فرآیندهای زیر باشد: (۱) سمیت‌زدایی سرب به دنبال تجمع اولیه در بافت ریشه شروع شود و در پی آن مقدار سرب انتقال یافته به ساقه به حداقل برسد؛ (۲) فرآیند سمیت‌زدایی در قسمت‌های هوایی گیاه قوی‌تر از ریشه باشد (Khudsar et al., 2000).

از طرف دیگر، بیشترین غلظت فلز سنگین در گیاه در مراحل اولیه رشد رویشی مشاهده شد که می‌تواند به دلیل نیاز گیاه به جذب زیاد مواد معدنی برای رشد باشد (Pulford and Watson, 2003). درواقع بابونه آلمانی برای افزایش مقاومت در تنش سرب، در مراحل مختلف تکوین مکانیسم‌های متفاوتی را به کار می‌گیرد که نتیجه این تفاوت تغییر در میزان جذب قسمت‌های مختلف گیاه در مراحل گوناگون تکوین است، به طوری که با افزایش سن گیاه غلظت سرب در ریشه کاهش می‌یابد؛ به نظر می‌رسد که با افزایش سن، جذب در ریشه با کنترل بیشتری انجام می‌شود (Seregin and Kozhevnikova, 2008). هم‌چنین با عبور از مرحله رویشی و افزایش نقل و انتقال آب و مواد معدنی در جهت تامین نیاز گیاه برای گلدی (Kevin et al., 2006)، غلظت سرب در اندام هوایی به ویژه گل افزایش می‌یابد. این امکان نیز وجود دارد که گیاه با انتقال میزان قابل توجه سرب از ریشه به گل مکانیسمی را جهت خارج کردن آلودگی مذکور از گیاه به کار گرفته است.

- Anderson, C., Brooks, R., Chiarucci, A., Lacoste, C., 1999. Phytomining for nickel, thallium and gold. *J. Geochem. Explor.* 67, 407-415.
- Bosabalidis, A.M., Filotheou, H.P., 2004. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (*Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*). *Plant Sci.* 166, 1497–1504.
- Filotheou, H.P., Bosabalidis, A.M., Karataglis, S., 2001. Effects of Copper Toxicity on Leaves of Oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). *Ann. Bot.* 88, 207-214.
- Ghahreman, A., 1994. *Plant Systematic*, Vol. 3. University Publication Center, Tehran. pp. 496- 507. [In Persian].
- Gupta, P., 2000. *Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis*. New Delhi, Agrobios, India. pp. 438.
- Harrison, R., Laxen, D., 1977. A comparative study on methods for soil analysis of total lead in soil. *Water Air Soil Pollut.* 8, 387-392.
- Islam, E., Liu, D., Li, T.Q., Yang, X.E., Jin, X.F., Mahmooda, Q., Tian, S., Li, J., 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *J. Hazard. Mater.* 154, 914–920.
- Islam, E., Yang, X.E., Li, T.Q., Liu, D., Jin, X.F., Meng, F., 2007. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *J. Hazard. Mater.* 147, 806–816.
- Karbasi, A.R. Moatar, F., Monavari, M., Mosayebi, S.S., 2010. The effect of air pollution on concentration of heavy metals in the soil of Mellat Park. *J. Env. Sci. Tech.* 11(4), 51-63. [In Persian with English summary]
- Kasim, W. A., 2006. Changes Induced by Copper and Cadmium Stress in the Anatomy and Grain Yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Inter. J. Agric. Biol.* 8, 123-128.
- Kevin, W.B., Honys, D., Ward, J.M., Padmanaban, S., Nawrocki, E.P., Hirschi, K.D., Twell, D., Heven S., 2006. Integrating membrane transport with male gametophyte development and function through transcriptomics. *Plant Physiol.* 140, 1151–1168.
- Khudsar, T., Uzzafar, M., Soh, W.Y., Iqbal, M., 2000. Morphological and anatomical variations of *Cajanus cajan* (Linn.) Huth raised in cadmium-rich soils. *J. Plant Biol.* 43, 149-157.
- Kopittke, P.M., Asher, C.J., Kopittke, R.A., Menzies, N.W., 2007. Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environ. Pollut.* 150, 280–287.
- Kosobrukhov, A., Knyazeva, I., Mudrik, V., 2004. *Plantago major* plants responses to increase content of lead in soil: growth and photosynthesis. *Plant Growth Regul.* 42, 145–151.
- Kovacevik, G., Kastori, R., Merkulov, L.J., 1999. Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead and nickel. *Biol. Plantarum.* 42, 119-123.
- Kovacik, J., Klejdus, B., Kadukova, J., Backor, M., 2008. Physiology of *Matricaria chamomilla* exposed to nickel excess. *Ecotox. Environ. Safe.* 72, 1-7.
- Kupper, H., Zhao, F., McGrath, S., 1999. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol.* 119, 305-311.
- Liu, D., Li, T.Q., Yang, X.E., Islam, E., Jin, X.F., Mahmood, Q., 2008. Effect of Pb on Leaf Antioxidant Enzyme Activities and Ultrastructure of the Two Ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. *Russ. J. Plant Physl.* 55, 68–76

- McGrath, S., Zhao, F., Lombi, E., 2002. Phytoremediation of metals, metalloids and radionuclides. *Adv. Agron.*, 75. 1–56.
- Memon, A., Aktoprakligil, D., Ozdemir, A., Vertii, A., 2001. Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. *Turk. J. Bot.* 25, 111-121.
- Omidbeygi, R., 2000. Production and Processing of Medicinal Plants, Vol. 3. Astan Quds Publication, Tehran. pp. 249-261. [In Persian].
- Pais, I., Jones, J., 2000. *The Handbook of Trace elements.* St. Lucie Press. pp. 115-116.
- Pavlovic, A., Masarovicova, E., Kralova, K., Kubova, J., 2006. Response of chamomile plants (*Matricaria recutita* L.) to cadmium treatment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 52, 763–771.
- Prabha, K., Padmavathiamma Loretta, Y., 2007. Phytoremediation technology: hyper-accumulation metals in plants water. *Air Soil Pollut.* 184, 105–126.
- Pulford, I. D., Watson, C. 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environ. Int.* 29, 529– 540.
- Rabier, J., Schwob, I.L., Notonier, R., Fogliani, B., Madje, S.B., 2008. Anatomical element localization by EDXS in *Grevillea exul* var. *exul* under nickel stress. *Environ. Pollut.* 156, 1156–1163.
- Rahmani, H.R., Kalbasi, M., Haj rasooliha, S.H., 2000. Soil pollution by Pb released from traffic in some of Iran highways. *J. Sci. Technol. Agric. Natural Res.* 4, 31-41. [In Persian with English summary].
- Samani majd, S., Taebi, A., Afuni, M., 2007. Pb and Cd pollution of soils in urban streets outskirt. *J. Environ. Stud.* 43, 1-10. [In Persian with English summary].
- Seregin, V., Kozhevnikova, A.D., 2008. Roles of root and shoot tissues in transport and accumulation of cadmium, lead, nickel, and strontium. *The Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastanii).* 55, 3–26.
- Shi, G., Cai, Q., 2009. Leaf plasticity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to heavy metal stress. *Environ. Exp. Bot.* 67, 112–117.
- Utmazian, M., Wieshammer, G., Vega, R., Wenzel, W., 2007. Hydroponic screening for metal resistance and accumulation of cadmium and zinc in twenty clones of willows and poplars. *Environ. Pollut.* 148, 155-165.
- Deng, H., Ye, Z., Wong, M., 2009. Lead, zinc and iron (Fe²⁺) tolerances in wetland plants and relation to root anatomy and spatial pattern of ROL. *Environ. Exp. Bot.* 65, 353-362.

Effect of different concentrations of lead on anatomical structure of *Matricaria chamomilla* L. in different developmental stages

S.Z. Sadari¹, F. Zarinkamar^{2*}

1. M.Sc. of Plant Science, University of Tarbiat Modares;

2. Associate Professor, Department of Plant Science, University of Tarbiat Modares

Abstract

In recent decades, increased human industrial activities and enormous fertilizer application in agriculture section has promoted heavy metal release into the environment. Pb is one of the most prominent heavy metal contaminant in the ecosystem. In spite of its global importance, there is little knowledge regards mechanisms of lead toxicity in plants. Regarding industrial and medicinal importance of *Matricaria chamomilla*, the response of this species to lead toxicity was investigated at rosette, shooting and flowering stages. To examine this, plants were transplanted to hydroponic culture at rosette stage and were exposed to different Pb nitrate treatments including 0, 60, 120, 180, 240 μM . Plants were harvested after completing each developmental stages for analysis and studying. The results revealed that the root Pb concentration was greater than that of above ground parts at all studied stages. Examining leaf, stem and root cross sections showed that increased Pb absorption caused similar changes in leaf and stem anatomy at all investigated stages. However, Pb influence on root anatomy was dissimilar at different developmental stages, so that Pb pollution increased the diameter of xylem and vascular tissues at rosette stage but it reduced these traits at shooting stage.

Keywords: Pb pollution, *Matricaria chamomilla*, rosette, shooting, flowers anatomical studies.

* Correspondent author: Fatemeh Zarinkamar; E-Mail: zarinkamar@modares.ac.ir