

ارزیابی اثر اکسین (IAA) و کینتین بر جذب و تجمع سرب در گیاه *Matthiola flavida* Boissاحمد مهتدی، M.Sc.^۱، سید مجید قادریان، Ph.D.^{۱*}۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، کدپستی ۷۳۴۴۱-۸۱۷۴۶
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: ghaderian@sci.ui.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۳/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۲/۱۷

چکیده

هدف: هدف از این تحقیق بررسی اثر غلظت‌های مختلف اکسین (IAA) و کینتین بر جذب و تجمع سرب در گیاه *Matthiola flavida* بود.

مواد و روش‌ها: جمعیت فلز دوست گیاه *M. flavida* در شرایط هیدروپونیک کشت داده شد. سپس گیاهان به مدت ۱۴ روز تحت تیمار ترکیب غلظتی یک میکرومولار سرب و غلظت‌های ۰، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار IAA و کینتین قرار گرفتند. در پایان آزمایش میزان سرب در بخش هوایی و ریشه آنها توسط دستگاه طیف سنج اتمی اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل آنها نیز با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و محاسبه گردید.

نتایج: نتایج افزایش غلظت سرب را به ترتیب در بخش هوایی بیش از ۴۸ و ۱۱۰ درصد در غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار IAA نسبت به کنترل نشان داد. کاهش معنی دار غلظت سرب بخش هوایی با افزایش غلظت کینتین در محیط کشت مشاهده گردید. غلظت سرب ریشه با افزایش غلظت هورمون‌های IAA و کینتین در محلول غذایی کاهش معنی داری یافت. تفاوت معنی‌داری در وزن خشک بخش هوایی در غلظت‌های مختلف IAA و کینتین نسبت به کنترل مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: افزایش میزان سرب بخش هوایی در گیاه *M. flavida* در غلظت‌های پایین IAA مشاهده گردید ولی کینتین اثر مثبت و آشکاری بر بیوماس و غلظت سرب نشان نداد.

واژگان کلیدی: اکسین، کینتین، سرب، گیاه پالایی، *Matthiola flavida* Boiss

مقدمه

افزایش آلاینده‌های محیطی ایجاد شده به وسیله فلزات سنگین یک مشکل جدی را در دنیای مدرن ایجاد کرده است. روش‌های مختلفی برای زدودن فلزات سنگین وجود دارد. استفاده از گیاهان جهت زدودن فلزات سنگین (گیاه پالایی) در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. در طول دو دهه گذشته مطالعات متعددی برای افزایش کارایی گیاه پالایی از جمله بکارگیری کودها و تنظیم pH خاک انجام شده است. اخیراً استفاده از هورمون‌های گیاهی (PGRs) به عنوان یک روش جایگزین برای بهبود کارایی گیاه پالایی مورد بررسی قرار گرفته است (۱). از هورمون‌های گیاهی برای سال‌های طولانی در گل پروری و کشاورزی برای اهداف گوناگون از جمله تاخیر یا تسریع در رسیدگی، القا ریشه زنی، کنترل علف‌های هرز و غیره استفاده شده است. با این وجود مطالعات کمی در مورد استفاده از هورمون‌های گیاهی جهت افزایش بیوماس و میزان فلز در گیاه برای گیاه پالایی صورت گرفته است.

استفاده از هورمون‌های گیاهی جهت گیاه پالایی چندین مزیت دارد از جمله کاربرد آسان، هزینه مناسب و سازگاری با محیط زیست (۱). هورمون‌های گیاهی شامل اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها، اسید آبسزیک، اتیلن، براسینواسترئوئیدها و جاسمونات‌ها هستند. هورمون‌های گیاهی به روش‌های گوناگون عمل کرده و بر گیاهان به طرق مختلف اثر می‌گذارند. فعالیت آن‌ها بستگی به غلظت استفاده از آن‌ها، فاکتورهای محیطی که جذب آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه دارد. بیشتر مطالعات در این زمینه تاکنون بر روی افزایش مقاومت گیاهان به سمیت فلزی و یا آزمایش کارایی گیاه پالایی سرب القا شده توسط کلاتور در ترکیب با تیمار هورمون‌های گیاهی متمرکز شده است (۲، ۳، ۴، ۵ و ۶).

سیتوکینین‌ها (CKs) یک دسته از هورمون‌های گیاهی هستند که نقش اصلی را در تقسیم و تمایز سلول‌های گیاهی بازی می‌کنند. تحقیقات معدودی نشان داده که بکارگیری این هورمون باعث افزایش میزان تعرق و به دنبال آن افزایش جذب فلزات سنگین محلول در خاک شده است (۴ و ۷). Cassina و همکاران (۱) اولین بار استفاده از هورمون‌های گیاهی را برای افزایش استحصال فلز در گیاه بیش تجمع دهنده نیکل *Alyssum murale* جهت فرایند معدن‌کاری گیاهی (phytomining) مورد آزمایش قرار دادند. آن‌ها مشاهده کردند که بکارگیری سیتوکینین‌ها بر روی گیاه *A. murale* رشد کرده

در خاک سرپنتین، میزان بیوماس بخش هوایی را ۴۱ تا ۷۵ درصد در مقایسه با گیاهان کنترل افزایش می‌دهد، ولی افزایشی در میزان نیکل بخش هوایی مشاهده نشد. اگرچه به دلیل افزایش میزان بیوماس، مقدار نیکل پالایش شده (میلی‌گرم نیکل در گلدان) زمانی که گیاه سیتوکینین را هم به صورت برگ‌گی و هم از خاک دریافت کرده بود افزایش یافت.

هورمون اکسین (IAA) که افزایش دهنده رشد می‌باشد باعث افزایش تقسیم سلولی و طول شدن کلئوپتیل می‌شود. افزایش سطح ریشه بویژه ناحیه‌ای که فاقد لایه‌های اندودرم و اگزودرم می‌باشد می‌تواند باعث افزایش جذب فلز در گیاه شود (۵). IAA با افزایش تقسیم سلولی و گسترش سلول و رشد ریشه جانبی موجب رشد ریشه می‌شود (۸). IAA در گیاهانی که تحت استرس شوری و فلزات سنگین قرار دارند موجب افزایش رشد ریشه و در برخی مواقع رشد بخش هوایی می‌شود. همچنین IAA اثر استرس خشکی را با افزایش رشد ریشه کاهش می‌دهد (۵). اثر افزایش رشدی که IAA بر روی گیاهان تحت استرس دارد می‌تواند برای اهداف گیاه پالایی مورد استفاده قرار گیرد. مشخص شده که IAA همراه با EDTA یک اثر هم افزایی روی جذب سرب در محیط دارد (۲ و ۳). در این رابطه در یک مطالعه در مورد اثر ترکیب EDTA و IAA بر جذب سرب در گیاه *Medicago sativa* در شرایط هیدروپونیک مشخص شد که افزایش میزان سرب در برگ گیاهان تیمار شده با سرب و EDTA/IAA حدود ۲۸ برابر بیشتر از گیاهانی بود که فقط با سرب تیمار شده بودند (۲). Wang و همکاران (۹) افزایش معنی دار میزان سرب در ریشه‌های ذرت را وقتی تحت تیمار اکسین قرار داشتند گزارش کردند. تحقیقات نشان داده که افزایش تجمع سرب مرتبط با افزایش بیوماس خشک ناشی از تیمار هورمون‌ها است (۶)، هرچند برخی آزمایش‌های دیگر بر روی تعدادی از گیاهان چنین اثری را نشان نداده است (۴).

شناسایی مناسب‌ترین هورمون برای بهبود گیاه پالایی و همچنین روش صحیح بکارگیری و مدت زمان استفاده هنوز نیازمند بررسی بیشتر است. گیاه *Matthiola flava* از خانواده شب بو و بومی نواحی ایران می‌باشد که در تحقیقات اخیر مشخص شده که تجمع دهنده سرب در شرایط طبیعی می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف IAA و کینتین بر جذب و تجمع سرب در شرایط هیدروپونیک در گیاه *M. flava* طراحی و انجام گردید.

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر احتمالی هورمون‌های IAA و کینتین بر جذب و تجمع سرب در گیاه *M. flavida* بذر جمعیت خاک آلوده به سرب و روی معدن ایرانکوه اصفهان جمع آوری گردید. بذر گیاهان جهت جوانه زنی و بدست آوردن دانه رست‌های مناسب برای انتقال به کشت هیدروپونیک، در ظرف‌های حاوی کود گیاهی کاشته شدند. بعد از ۳ هفته، دانه رست‌های مناسب به محلول غذایی در ظرف‌های پلی اتیلنی غیر قابل نفوذ به نور با حجم یک لیتر منتقل شدند (۳ گیاه در هر ظرف). محلول غذایی استفاده شده، محلولی با ۰/۵ غلظت محلول غذایی هوگلند بود. ترکیب محلول مورد استفاده عبارت بود از:

3 mM KNO₃, 2 mM Ca(NO₃)₂, 1 mM NH₄H₂PO₄, 0.5 mM MgSO₄, 20 μM Fe(Na)-EDTA, 1 μM KCl, 25 μM H₃BO₃, 2 μM MnSO₄, 2 μM ZnSO₄, 0.1 μM CuSO₄ and 0.1 μM (NH₄)₆Mo₇O₂₄,

pH محلول غذایی با محلول دو میلی مولار بافر MES و با استفاده از KOH در محدوده ۵/۵ ثابت نگه داشته شد. محلول‌های غذایی هر هفته با محلول‌های تازه جایگزین گردید و گیاهان در اتاقک کشت با دمای متناوب ۲۰/۱۵ درجه سانتی گراد (شب/روز)، تناوب نوری (۱۴ ساعت نور)، شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و رطوبت نسبی ۷۵ درصد نگهداری شدند.

پس از آنکه گیاهان به مدت ۱۰ روز در محلول غذایی رشد کردند، به محلول آزمایش منتقل شدند که در آن عناصر ماکرو با ۰/۱ غلظت محلول غذایی تغییر یافته هوگلند و عناصر میکرو به طور کامل وجود داشت. همچنین محلول غذایی بدون NH₄H₂PO₄ و Fe(Na)-EDTA تهیه شد. برای بررسی IAA، گیاهان تحت تیمار ترکیب غلظتی یک میکرومولار سرب و غلظت‌های ۰، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار IAA قرار گرفتند. جهت بررسی اثر کینتین، گیاهان تحت تیمار ترکیب غلظتی یک میکرو مولار سرب و غلظت‌های ۰، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرو مولار کینتین قرار داده شدند. غلظت‌های مختلف IAA از C₁₀H₉NO₂ و غلظت‌های مختلف کینتین از 6-Furfurylaminopurine تهیه گردید. گیاهان به مدت ۱۴ روز تحت تیمار قرار گرفتند. هر ترکیب غلظتی دارای ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۳ گیاه بود. در پایان آزمایش میزان کلروفیل اندازه گیری شد. ریشه گیاهان جهت زدودن سرب جذب سطحی شده به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۲۰ میلی مولار Na₂EDTA قرار

داده شد. پس از خشک شدن سطحی، گیاهان در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید و میزان وزن خشک محاسبه شد.

جهت اندازه‌گیری میزان سرب در بخش هوایی و ریشه گیاهان (نمونه‌های ۴ تکرار از مخلوط ۳ گیاه در هر غلظت)، حدود ۲۰ تا ۵۰ میلی‌گرم از هر یک از نمونه‌های گیاهی خشک شده به لوله‌های تفلنی مخصوص منتقل و با ۱ میلی‌لیتر از مخلوط اسید کلریدریک ۳۷ درصد و اسید نیتریک ۶۵ درصد به نسبت ۱ به ۴ مخلوط گردید. نمونه‌های حاصله به مدت ۷ ساعت در دمای ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس با آب مقطر به حجم ۵ میلی لیتر رسید. در نهایت مقدار سرب توسط دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی (AAnalyst 100, Perkin Elmer) اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس در نرم‌افزار SPSS انجام شد. به منظور پی بردن به معنی‌دار بودن یا نبودن تفاوت میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون دانکن استفاده شد.

غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در بخش‌های هوایی گیاهان تیمار شده با غلظت‌های مختلف IAA و کینتین بر اساس روش Arnon (۱۰) اندازه‌گیری شد. برای این منظور مقدار ۱۰ میلی‌گرم از برگ تازه گیاهان در لوله‌های مخصوص قرار داده شد و بخوبی ساییده گردید. سپس مقدار ۱ میلی لیتر استن ۸۰ درصد به آن اضافه شده و با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس میزان کلروفیل در محلول رویی با استفاده از میزان جذب محلول در طول موج‌های مختلف با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و محاسبه شد.

فرمول‌های استفاده شده عبارتند از:

$$C_a = 0.0127D_{663} - 0.00269D_{645}$$

$$C_b = 0.0229D_{645} - 0.00468D_{663}$$

$$C = 0.0202D_{645} + 0.00802D_{663}$$

C_a، C_b و C به ترتیب غلظت کلروفیل a، b و کل در محلول با واحد میلی‌گرم بر گرم وزن تر و D میزان جذب در طول موج مربوطه است.

نتایج

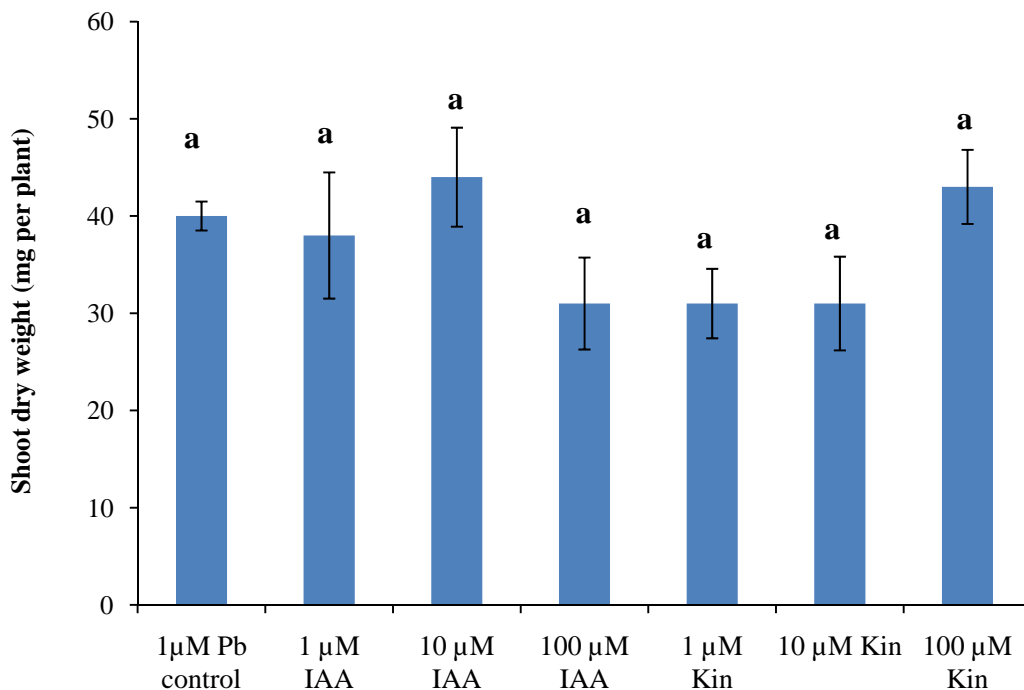
اثر ترکیب غلظتی ۱ میکرو مولار سرب و غلظت‌های ۰، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار IAA و کینتین بر جمعیت ایرانکوه گیاه *M. flavida* در محیط هیدروپونیک به مدت ۱۴ روز مورد

غلظت سرب در ریشه در تیمار ترکیب غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار کینتین و غلظت ۱ میکرومولار سرب نسبت به تیمار کنترل به ترتیب ۲۸، ۶۸ و ۵۷ درصد کاهش نشان می‌داد. این نتایج نشان داد که IAA با تشکیل کمپلکس با سرب مانع جذب آن توسط گیاه می‌شود. همچنین کینتین نه تنها جذب سرب را کاهش می‌دهد بلکه مانع از انتقال آن از ریشه به بخش‌های هوایی گیاه می‌شود.

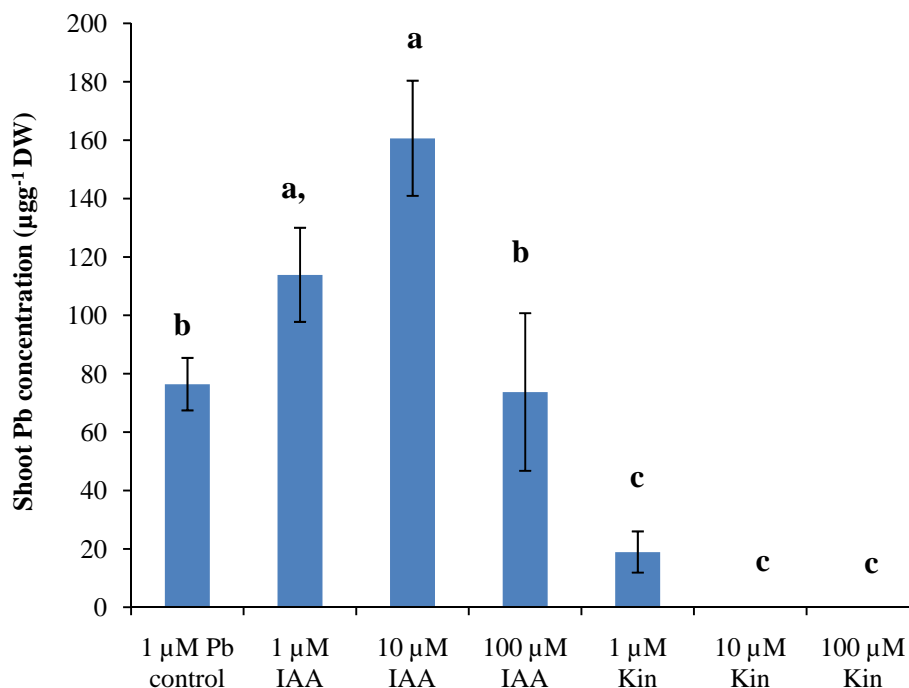
غلظت کلروفیل a، b و کل در بخش‌های هوایی گیاهان *M. flavida* رشد یافته در تیمار ترکیب غلظت ۱ میکرومولار سرب و غلظت‌های مختلف IAA و کینتین اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج حاصله مشخص شد که با افزایش غلظت هورمون‌های IAA و کینتین در ترکیب با غلظت ۱ میکرومولار سرب، غلظت کلروفیل a، b و کل افزایش معنی‌داری پیدا می‌کرد و دارای اثر افزایشی بر میزان کلروفیل در گیاهان تحت تیمار با سرب بودند (شکل ۴). غلظت کلروفیل کل در تیمار غلظت ۱۰۰ میکرومولار IAA و کینتین نسبت به کنترل به ترتیب ۱۶۴ و ۲۲۰ درصد افزایش نشان داد.

بررسی قرار گرفت. از نظر وزن خشک بخش هوایی بین غلظت‌های مختلف IAA و کینتین نسبت به کنترل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$) (شکل ۱). با افزایش غلظت IAA در محلول غذایی از ۱ به ۱۰ میکرومولار، غلظت سرب در بخش هوایی از ۱۱۴ به ۱۶۰ میکروگرم بر گرم افزایش یافت ولی در غلظت ۱۰۰ میکرومولار تأثیری بر تجمع سرب نداشت (شکل ۲). به عبارت دیگر در غلظت ۱ و ۱۰ میکرومولار IAA نسبت به کنترل به ترتیب بیش از ۴۸ و ۱۱۰ درصد افزایش غلظت سرب در بخش هوایی مشاهده شد. غلظت سرب در بخش هوایی با افزایش غلظت کینتین در محلول غذایی بشدت کاهش می‌یافت بطوری که در غلظت ۱ میکرومولار کینتین، غلظت سرب در بخش هوایی نسبت به تیمار کنترل ۷۵ درصد کاهش نشان داد. همچنین در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار کینتین، غلظت سرب در بخش هوایی قابل اندازه‌گیری نبود.

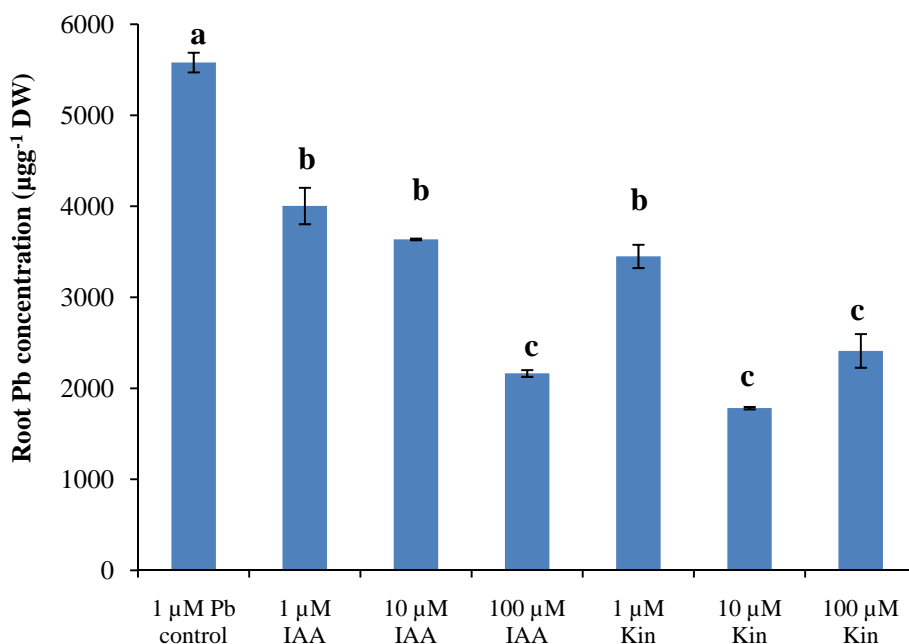
در ریشه غلظت سرب با افزایش غلظت هورمون‌های IAA و کینتین در محلول غذایی کاهش معنی‌داری پیدا کرد (شکل ۳). در تیمار ترکیب غلظت ۱ میکرومولار سرب و غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار IAA نسبت به تیمار کنترل، غلظت سرب در ریشه به ترتیب ۲۸، ۳۵ و ۶۱ درصد کاهش یافت. همچنین



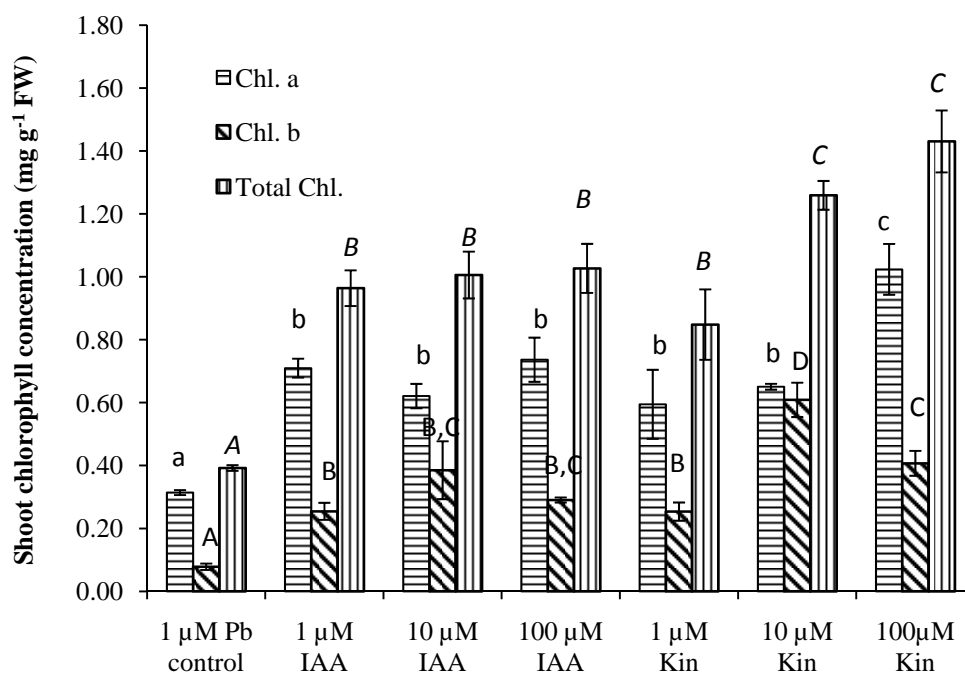
شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف اکسین (IAA) و کینتین بر وزن خشک بخش هوایی (میلی‌گرم) در جمعیت ایرانکوه گیاه *M. flavida* (میانگین ۴ تکرار \pm خطای استاندارد) پس از تیمار با غلظت ۱ میکرومولار سرب و غلظت‌های مختلف IAA و کینتین در شرایط کشت هیدروپونیک بعد از دو هفته تیمار. وجود حروف مشترک بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن ($p < 0.05$) است.



شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف اکسین (*IAA*) و کینتین بر وزن خشک بخش هوایی (میلی‌گرم) در جمعیت ایرانکوه گیاه *M. flavida* (میانگین ۴ تکرار \pm خطای استاندارد) پس از تیمار با غلظت ۱ میکرومولار سرب و غلظت‌های مختلف *IAA* و کینتین در شرایط کشت هیدروپونیک بعد از دو هفته تیمار. وجود حروف مشترک بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن ($p < 0.05$) است.



شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف اکسین (*IAA*) و کینتین بر غلظت سرب در ریشه (میکروگرم بر گرم وزن خشک) در جمعیت ایرانکوه گیاه *M. flavida* (میانگین ۴ تکرار \pm خطای استاندارد) پس از تیمار با غلظت ۱ میکرومولار سرب و غلظت‌های مختلف *IAA* و کینتین در شرایط کشت هیدروپونیک بعد از ۱۴ روز. حروف غیر مشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن ($p < 0.05$) است.



شکل ۴: تغییرات غلظت کلروفیل *a* و *b* کل (برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در جمعیت ایرانکوه گیاه *M. flavida* در پاسخ به تیمار ترکیب غلظت ۱ میکرومولار سرب و غلظت‌های مختلف اکسین (IAA) و کینتین در محیط هیدروپونیک (میانگین ۴ تکرار \pm خطای استاندارد) بعد از دو هفته تیمار. حروف غیر مشترک بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن ($p < 0.05$) است.

بحث

سیتوکینین‌ها یک دسته از هورمون‌های گیاهی هستند که در تقسیم و تمایز سلولی نقش عمده‌ای دارند. همچنین باعث تحریک تشکیل جوانه، پیدایش بخش هوایی، رشد جوانه‌های جانبی و گسترش برگ و سنتز کلروفیل می‌شوند. به علاوه پیری برگ را به تاخیر انداخته و باعث افزایش مقاومت به شوری، دمای پایین و خشکی شده و در برخی گونه‌ها باعث القا باز شدن روزنه‌ها می‌شوند (۱۵ و ۱۶). مطالعات اخیر نشان داده است که بکارگیری سیتوکینین باعث افزایش میزان بیوماس و تعرق شده در نتیجه جذب فلزات سنگین موجود در محلول خاک را افزایش می‌دهد (۴). همچنین گزارش‌هایی وجود دارد که افزایش میزان تعرق و هدایت روزنه‌ای بعد از تیمار IAA و سیتوکینین می‌تواند باعث افزایش فرایند جذب و انتقال فلزات سنگین شود (۱ و ۴). علاوه گزارش شده است که سیتوکینین‌ها در مکانیسم‌های سمیت‌زدایی در گیاهان نیز دخالت دارند که این کار را از طریق افزایش سطح گلوکوتایون و یا تغییر بیان متالوتیونین‌ها انجام می‌دهند که باعث افزایش مقاومت گیاهان می‌شوند (۱۷). کینتین در غلظت‌های بالا باعث القا تقسیم سلولی و رشد گیاه می‌شود و ممکن است که افزایش تعداد سلول‌ها، باعث افزایش

یکی از استراتژی‌های جایگزین برای افزایش کارایی گیاه پالایی استفاده از هورمون‌های گیاهی جهت خنثی کردن اثرات منفی استرس فلزات سنگین در گیاهان در حال رشد و افزایش میزان بیوماس بخش هوایی می‌باشد (۱۱). بسیاری از گیاهان بیش تجمع دهنده فلزات، دارای بیوماس کمی بوده و سرعت رشد آن‌ها نیز کند می‌باشد. بنابراین کارایی آن‌ها برای گیاه پالایی محدود می‌باشد (۱۲). گیاهان مناسب برای گیاه پالایی سرب باید دارای رشد سریع، بیوماس زیاد و به راحتی قابل برداشت باشند. همچنین باید نسبت به سرب مقاوم بوده و سرب را در بخش هوایی خود بیش از ۱۰ درصد تجمع دهند (۱۳ و ۱۴). هورمون‌های گیاهی IAA و کینتین از طریق تسریع تقسیم سلولی، افزایش ریشه‌های جانبی و بخش هوایی و تشکیل بافت آوندی، رشد و نمو گیاهان را تنظیم می‌کنند (۳). استفاده از هورمون‌های گیاهی برای گیاه پالایی فلزات سنگین در تعدادی از گونه‌های گیاهی از جمله آفتاب‌گردان، یونجه و ذرت گزارش شده است (۲ و ۴) ولی گزارشات اندکی در مورد استفاده از این هورمون‌ها در گیاهان بیش تجمع دهنده منتشر شده است (۱).

ناقل‌های غشایی می‌تواند نقش مهمی در پس زدن فلزات یا خروج فلزات بر خلاف جهت شیب الکتروشیمیایی بازی کند. ثابت شده است که IAA با فعال کردن ATPase های غشا پلاسمایی تغییراتی را در انتقال یون‌ها از غشاء ایجاد کرده و در نتیجه گیاهان قادرند میزان یون بیشتری را از طریق انتقال فعال در خود تجمع دهند (۱۸). همچنین IAA احتمالاً در تنظیم پروتئین‌های غشایی که در انتقال سرب دخالت دارند نقش دارد (۲).

بعلاوه، IAA تقسیم سلولی و گسترش ریشه‌های جانبی را تسریع می‌کند که در نتیجه ناحیه سطح ریشه برای جذب فلزات افزایش می‌یابد. Liphadzi و همکاران (۱۹) جهت افزایش رشد ریشه در گیاه آفتاب گردان از IAA استفاده کردند و مشاهده نمودند که میزان تجمع سرب و کادمیوم در برگ‌های این گیاه افزایش می‌یابد. بنابراین هورمون‌های گیاهی می‌توانند یک نقش مهم را در فرایندهای مرتبط با استرس فلزات سنگین بازی کنند و ممکن است که کاهش سمیت فلزات سنگین در گیاهان تا اندازه‌ای مرتبط با به کارگیری خارجی این هورمون‌ها و به خصوص افزایش میزان بیوماس، تعرق و جذب فلزات باشد. بطور کلی IAA دارای پتانسیل کاهش اثر استرس های فلزی است. در حضور فلزات، IAA عموماً دارای اثر مثبت روی پارامترهای رشد ریشه می‌باشد که فلزات بر روی آن‌ها اثر منفی دارند (وزن خشک ریشه، سطح، حجم و طول ریشه).

بررسی اثر ترکیب IAA و EDTA بر روی جذب سرب در گیاه یونجه در شرایط هیدروپونیک نشان داده که این ترکیب باعث افزایش قابل توجه سرب در برگ‌ها شده بطوری که افزایش ۳۰ برابری انتقال سرب از ریشه به برگ‌ها در مقایسه با گیاهانی که فقط با سرب به تنهایی تیمار شده بودند مشاهده شد (۲). در طی تحقیق ما نیز مشاهده شد که با افزایش غلظت IAA تا ۱۰ میکرومولار در محیط، غلظت سرب در بخش هوایی گیاه IAA، میزان سرب کاهش یافت. ثابت شده است که محدوده بین اثرات مفید و مضر هورمون‌های گیاهی کاملاً محدود می‌باشد. برای مثال اکسین‌ها در غلظت‌های کم (10^{-7} تا 10^{-13} مولار) باعث افزایش رشد و در غلظت‌های بالاتر باعث ممانعت از رشد می‌شوند (۵ و ۲۰).

چنین به نظر می‌رسد که ساختار IAA که دارای گروه کربوکسیل می‌باشد با باند کردن سرب و تشکیل کمپلکس باعث می‌شود که جذب سرب کمتر صورت گیرد. بعلاوه، ثابت شده

ظرفیت جذب سرب توسط ریشه‌ها شود. همچنین گزارش شده است که سیتوکینین‌ها میزان فتوسنتز و محصولات فتوسنتزی را افزایش می‌دهند که می‌تواند منجر به افزایش انتقال سرب به برگ‌ها شود (۷). در طی تحقیق ما با وجود آن‌که با افزایش غلظت کینتین در محیط میزان کلرفیل افزایش پیدا می‌کرد ولی میزان سرب در گیاه *M. flavida* نه تنها افزایش نیافت بلکه کاهش نیز نشان داد و از انتقال سرب به بخش هوایی نیز ممانعت به عمل می‌آمد. بنابراین رابطه مثبتی بین افزایش کلروفیل و در نتیجه میزان فتوسنتز و جذب و انتقال سرب در این تحقیق مشاهده نشد. بر خلاف انتظار ما، تیمار کینتین و IAA اثر مثبت مشخصی بر میزان بیوماس در گیاه *M. flavida* نداشت. در این تحقیق مشخص شد که در غلظت ۱ و ۱۰ میکرومولار IAA نسبت به کنترل به ترتیب بیش از ۴۸ و ۱۱۰ درصد افزایش غلظت سرب در بخش هوایی مشاهده شد ولی میزان سرب در ریشه در پی تیمار IAA کاهش معنی‌داری پیدا کرد.

محققین دیگر نیز پاسخ‌های متفاوت گیاهان را در بکارگیری هورمون‌های گیاهی در میزان تجمع فلز سنگین مشاهده کردند. Cassina و همکاران (۱) اثر معنی‌دار تیمار سیتوکینین بر تجمع نیکل در گیاه *Alyssum murale* را مشاهده نکردند. Fassler و همکاران (۵) کاهش میزان غلظت سرب بخش هوایی را در گیاه *Helianthus* بعد از تیمار با IAA مشاهده کردند. Lopez و همکاران (۲) نیز مشاهده کردند که در گیاه یونجه تحت شرایط هیدروپونیک که با غلظت ۲۰۰ میکرومولار سرب و غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار IAA تیمار شده بود، غلظت سرب در ریشه با افزایش غلظت‌های IAA افزایش می‌یابد ولی در بخش هوایی چنین وضعیتی مشاهده نمی‌شود. همچنین Liu و همکاران (۱۸) مشاهده کردند که غلظت ۱۰۰ میکرومولار IAA باعث افزایش تجمع سرب در بخش هوایی گیاه *Sedum alfredii* که تحت تیمار ۲۰۰ میکرومولار سرب در محلول غذایی رشد داده شده بود می‌شود. همچنین آنها افزایش وزن خشک، ناحیه سطح ریشه، حجم و طول ریشه را با بکارگیری IAA مشاهده کردند.

جذب یون‌های فلزی در گیاهان از طریق ناقل‌های غشایی صورت می‌گیرد که امکان حرکت یون‌ها از عرض غشا سلولی را فراهم می‌کنند. به دلیل اینکه سرب برای گیاهان غیر ضروری و سمی است ناقل اختصاصی برای آن وجود ندارد (۹). یکی از مسیرهای ممکن برای انتقال سرب از غشا پلاسمایی سلول‌های ریشه، کانال‌های کاتیونی از جمله کانال‌های کلسیمی است. تغییر در

4. Tassi E, Pouget J, Petruzzelli G, Barbafieri M. The effects of exogenous plant growth regulators in the phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*. 2008; 71(1): 66-73.
5. Fassler E, Evangelou MW, Robinson BH, Schulin R. Effects of indole-3-acetic acid (IAA) on sunflower growth and heavy metal uptake in combination with ethylene diamine disuccinic acid (EDDS). *Chemosphere*. 2010; 80: 901-907.
6. Hadi F, Bano A, Fuller MP. The improved phytoextraction of lead (Pb) and the growth of maize (*Zea mays* L.): the role of plant growth regulators (GA₃ and IAA) and EDTA alone and in combinations. *Chemosphere*. 2010; 80(4): 457-462.
7. Sayed SA. Effects of lead and kinetin on the growth, and some physiological components of safflower. *Plant Growth Regul*. 1999; 29: 167-174.
8. Taiz L, Zeiger E. *Plant physiology*. Sunderland: Sinauer Associates INC. 2002.
9. Wang H, Shan X, Liu T, Xie Y, et al. Organic acids enhance the uptake of lead by wheat roots. *Planta*. 2007; 225: 1483-1494.
10. Arnon DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *beta vulgaris*. *Plant Physiol*. 1949; 24: 1-15.
11. Ouzounidou G, Ilias I. Hormone-induced protection of sunflower photosynthetic apparatus against copper toxicity. *Biol. Plant*. 2005; 49: 223-228.
12. Kidd PS, Diez J, Martinez M. Tolerance and bioaccumulation of heavy metals in five populations of *Cistus ladanifer* L. *Plant Soil*. 2004; 258: 189-205.
13. Huang JW, Cunningham SD. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. *New Phytol*. 1996; 134: 75-84.
14. Clemens S, Palmgren MG, Krämer U. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci*. 2002; 7: 309-315.
15. Werner T, Motyka V, Strnad M, Schmulling T. Regulation of plant growth by cytokinin. *Plant Biol*. 2001; 98: 10487-10492.
16. Dodd IC. Hormonal interactions and stomatal responses. *J Plant Growth Regul*. 2003; 22: 32-46.
17. Thomas JC, Perron M, LaRosa PC, Smigocki AC. Cytokinin and the regulation of a tobacco metallothionein-like gene during copper stress. *Physiol Plant*. 2005; 123: 262-271.
18. Liu D, Li T, Yang X, Islam E, et al. Enhancement of lead uptake by hyperaccumulator plant species *Sedum alfredii* Hance using EDTA and

است که IAA در غلظت‌های بالا بیوسنتز اتیلین را افزایش داده در نتیجه منجر به کاهش طول ریشه می‌شود. تحقیقات بیشتری مورد نیاز است تا روشن کند چرا در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکرو مولار IAA، میزان سرب در بخش هوایی کاهش می‌یابد.

نتیجه گیری

داده‌های به‌دست آمده در این تحقیق افزایش میزان سرب بخش هوایی را در تیمار غلظت‌های پایین IAA تایید می‌کند ولی تیمار کینتین اثر مثبت مشخصی بر میزان بیوماس و غلظت سرب در گیاه *M. flavida* نشان نمی‌دهد. در این مطالعه فقط دو نوع هورمون و سه غلظت مورد آزمایش قرار گرفت. با توجه به اهمیت اثر هورمون‌ها بر همه جنبه‌های نمو گیاه، نیاز به مطالعه گسترده‌تر آن‌ها وجود دارد از جمله پوشش انواع هورمون‌های گیاهی، دامنه غلظت‌های بیشتر و مدت زمان تیمار طولانی‌تر آن‌ها. به هر حال با توجه به اینکه بررسی اثر هورمون‌های گیاهی بر جذب فلزات سنگین در دنیا در سال‌های اخیر شروع شده است و این اولین گزارش ارائه شده در ایران در این زمینه می‌باشد، بنابراین مطالعات بیشتر برای شناسایی تیمار موثرتر هورمون‌ها با مدت زمان‌های متفاوت برای ارزیابی بهتر جذب و تجمع سرب مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

از تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان به واسطه حمایت مالی از این تحقیق، و همچنین از قطب علمی تنش‌های گیاهی صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Cassina L, Tassi E, Morelli E, Giorgetti L, et al. Exogenous cytokinin treatments of a Ni hyperaccumulator, *Alyssum murale*, grown in a serpentine soil: Implications for phytoextraction. *Int J Phytoremediat*. 2011; 13: 90-101.
2. Lopez ML, Peralta-Videa JR, Benitez T, Gardea-Torresdey JL. Enhancement of lead uptake by alfalfa (*Medicago sativa*) using EDTA and a plant growth promoter. *Chemosphere*. 2005; 61: 595-598.
3. Israr M, Sahi SV. Promising role of plant hormones in translocation of lead in *Sesbania drummondii* shoots. *Environ Pollut*. 2008; 153: 29-36.

IAA. Bull Environ Contam Toxicol. 2007; 78: 280-283.

19. Liphadzi MS, Kirkham MB, Paulsen GM. Auxin enhanced root growth for phytoremediation of sewage sludge amended soil. Environ Technol. 2006; 27(6): 695-704.

20. Salisbury FB, Ross CV. Plant physiology. Belmont: Wadsworth publishing Co.1992.

Evaluation of Auxin (IAA) and Kinetin Effects on Lead Uptake and Accumulation in *Matthiola flavida* Boiss

Mohtadi A, M.Sc.¹, Ghaderian SM, Ph.D.^{2*}

1. Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, 81746-73441, Iran

* Email corresponding author: ghaderian@sci.ui.ac.ir

Received: 6 May. 2012

Accepted: 19 Jun. 2012

Abstract

Aim: The aim of present study was evaluation of IAA and kinetin effects on lead uptake and accumulation in *Matthiola flavida*.

Material and methods: Metallicolous population of *M. flavida* was grown in hydroponic condition. Then plants were exposed to combination of 1 μM Pb and 0, 1, 10, 100 μM IAA and kinetin for 14 days. Finally, Pb concentration was determined in their aerial parts and roots using a flame atomic absorption. Also their Chlorophyll contents were measured and calculated by spectrophotometer.

Results: Results showed increasing aerial part Pb concentration more than 48 and 110% respectively in 1 and 10 μM IAA comparing to control. A significant decreasing aerial part Pb concentration was observed with increasing of kinetin concentration in culture medium. Root Pb concentration significantly decreased with increasing of auxin and kinetin in nutrient solution. Significant differences in aerial part dry weight were not observed in different IAA and kinetin concentrations in comprising with control.

Conclusion: Increasing aerial part Pb concentration in *M. flavida* was observed in low concentration of IAA but kinetin did not show clear and positive effects on biomass and Pb concentration.

Key words: Auxin, Kinetin, Lead, *Matthiola flavida* Boiss, Phytoremediation