فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱، شماره ۲، سال ۱۳۹۱
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۲/۲۶
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۱/۰۹/۰۵

# بررسی تیمار برون‌زای اسیدهای آلی کربوکسیلیک بر برخی ویژگی‌های بیوشمیایی و میزان جذب فلزات کادمیوم و سرب در گیاهچه کلزا

**حکیمه علومی*[۱]، عفت السادات احمدی موسوی[۱]، ندا حسیبی[۱]**

**[۱]گروه اکولوژی، مرکز بین المللی علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، کرمان، ایران**

**چکیده:**

با توجه به ورود بی‌رویه فلزات سنگین به محیط زیست و اهمیت حذف این فلزات از محیط، در این پژوهش تاثیر برخی از اسیدهای آلی کربوکسیلیک بر میزان تجمع فلزات کادمیوم و سرب درگیاهچه یک هفته‌ای تجمع دهنده کلزا (*Brassica napus*) مورد بررسی قرار گرفت. بذرهای کلزا به مدت یک هفته تحت تیمارهای ۱۰۰ میکرومولار کلراید کادمیوم و کلراید سرب همزمان با تیمار ۵۰ میکرومولار سیترات، ۱ میکرومولار اگزالات، ۵۰ میکرومولار فومارات و ۳۰۰ میکرومولار هیستیدین قرار گرفت. جهت بررسی نقش این اسیدها در تخفیف تنش فلزات سنگین، برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی و رشد گیاهچه‌های هفت روزه شامل محتوای کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید و وزن خشک گیاهچه تحت تنش بررسی گردید. هرچند تیمار اسیدهای آلی مذکور بر میزان جذب فلزات کادمیوم و سرب اثر افزایشی داشت، تیمار اسیدهای آلی کربوکسیلیک منجر به افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها و وزن خشک نسبت به گیاهچه‌های تحت تنش کادمیوم و سرب گردد. تنش فلزات کادمیوم و سرب موجب افزایش معنی‌دار پراکسید هیدروژن در گیاهچه‌ها گردید اما کاربرد اسیدهای آلی کربوکسیلیک در این گیاهچه‌ها مقدار پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش داد. بر اساس نتایج، به نظر می‌رسد استفاده از برخی از انواع اسیدهای آلی کربوکسیلیک می‌تواند علاوه بر افزایش جذب فلز توسط گیاهچه کلزا، تاثیر مثبتی بر تخفیف خسارت ناشی از تنش سرب و کادمیوم در این گیاهچه‌ها داشته باشد.

**کلمات کلیدی:** کادمیوم، سرب، اسیدهای آلی کربوکسیلیک، کلزا

**مقدمه:**

غلظت‌های بالای فلزات سنگین در خاک منجر به تخریب اکوسیستم‌های طبیعی می‌شوند. این فلزات اثرات تخریبی زیادی بر محصولات کشاورزی دارند. از جمله فلزات سنگین آلاینده محیط زیست سرب و کادمیوم می‌باشد. سرب با عدد اتمی ۸۲ و وزن اتمی ۲۰۷/۲ از فلزات سنگینی است که موجب آلودگی محیط زیست شده و با ایجاد آثار سمی شدید در انسان و دیگر جانداران خسارت جدی به بار می‌آورد (Huang *et al*., 1997). سرب محلول و تبادلی به راحتی در اختیار جذب گیاهان قرار می‌گیرند (Schwartz and Levin, 1991). فلز کادمیوم نیز از سمی-ترین عناصر برای گیاهان بوده که فاقد نقش زیستی می‌باشد. این فلز به طور عمده ازطریق فرآیندهای صنعتی وکودهای فسفاته وارد محیط زیست و زنجیره غذایی

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: oloumi.ha@gmail.com

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

می‌شود. این فلز به راحتی از ریشه گیاه جذب شده و با تشکیل کمپلکس‌های پیچیده با ترکیبات آلی مانند پروتئین‌ها از فعالیت ضروری سلول‌ها جلوگیری می‌کند. کادمیم با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید گونه‌های فعال اکسیژن زوال غشاء را فراهم می‌کند. از آنجا که این فلز دو ظرفیتی می‌باشد با عناصری مانند منیزیم($Mg^{++}$) موجود در کلروفیل و یا با یون آهن($Fe^{++}$) که دو ظرفیتی‌اند رقابت کرده وجایگزین آنها می‌شود بنابراین فتوسنتز را در گیاه دچار اختلال می‌نماید (Sanita *et al*, 1999; Salt *et al*., 1995).

آلودگی عناصر موجود در خاک بوسیله شیوه‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی برطرف می‌شود یکی از روش‌های ترمیم زیستی خاک شیوه گیاه پالایی یعنی استفاده از گیاه جهت پاک سازی محیط آلوده می‌باشد. یکی از انواع گیاه‌پالایی، فیلتراسیون ریشه‌ای یا استفاده از ریشه‌های گیاه برای جذب آلاینده‌های فلزی از آب‌های سطحی یا زیرزمینی می‌باشد. این عمل برای فلزاتی چون کادمیوم، مس، کروم، سرب و روی مورد استفاده قرار گرفته است. روش دیگر با عنوان گیاه استخراجی، از گیاهان تجمع دهنده فلز برای انتقال فلزات از خاک به ریشه و سپس ساقه ها، برگها و انباشته نمودن آنها در گیاه استفاده می‌شود. این روش بهترین رویکرد برای برداشت مواد آلاینده از خاک و جداسازی آن بدون تخریب ساختمان وحاصلخیزی خاک می‌باشد. یکی از استراتژی‌های اصلی در این روش استفاده از کمک کلات کننده‌های مصنوعی برای افزایش تحرک و جذب مواد آلوده کننده برای ترمیم خاک می‌باشد (Salt *et al*.,1998).

کشت گونه‌های گیاهی که توانایی تجمع غلظت‌های بالای فلزات را دارند (بیش تجمع دهنده‌ها یا بیش انباشته‌گرها) به پیشرفت این تکنولوژی کمک می‌کند. در این شیوه گیاهان غلظت‌های بالای فلزات سنگین را توسط ریشه هایشان استخراج نموده و آن را به زیتوده انتقال می‌دهند. این فرآیند در حالی است که گیاه مقدار بالایی از زیتوده تولید می‌کند. گونه‌های گیاهی تجمع کننده فلزات می‌توانند فلز را در بخش‌های هوایی خود در مقادیر بالاتری ار آنچه که در خاک وجود دارد در خود تغلیظ کنند. این گیاهان سطوح بالای مواد آلوده کننده را جذب و آنها را در ریشه‌ها، ساقه‌ها و یا برگ‌ها تغلیظ می‌کنند. تقریباً ۴۰۰ گونه گیاهی از ۲۲ خانواده شناسایی شده که از این روش استفاده می‌کنند. خانواده شب‌بو یا Brassicacea بیشترین تعداد از این نوع گیاهان شامل ۸۷ گونه از ۱۱ جنس را دارا می‌باشد (Raskin *et al*., Hall, 2002; Madrid and Kirkham, 2000 ;1994). یکی از گیاهان تجمع دهنده فلزات سنگین از خانواده شب‌بو گیاه دانه روغنی کلزا *Brassica napus* می‌باشد. این گیاه که از نظر تولید دانه‌های روغنی نیز از اهمیت اقتصادی ویژه‌ای برخوردار است، به عنوان گیاه تجمع دهنده فلزات شناخته شده است (Dechun *et al*., 2009).

کلات کننده‌های مورد استفاده در گیاه‌پالایی دارای انواع مختلفی بوده که از جمله می‌توان به اسیدهای آلی کربوکسیلیک اشاره نمود. اسیدهای کربوکسیلیک اسیدهای آلی هستند که دارای حداقل یک گروه کربوکسیل (-COOH) می‌باشند. این اسیدها از عمومی‌ترین انواع اسیدهای آلی بوده که دهنده پروتون می‌باشند. اسیدهای کربوکسیلیک که اسیدهای ضعیفی هستند و بر اثر حل شدن در آب تعدادی از مولکول‌های آنها پروتون اسیدی خود را به مولکول‌های آب داده و به سرعت به حالت تعادل می‌رسند، در فن‌آوری گیاه پالایی بعنوان کلات کننده فلزات مورد استفاده قرار می‌گیرند (Huang *et al*., Salt *et al*., 1998; Chaney *et al*., 1997 1997). در پژوهشی Kramer و همکاران (۱۹۹۶) نقش کلاته کننده‌های نیکل (سیتریک اسید و هیستیدین) در یک گیاه انباشته‌گر (آلیسوم) را مورد بررسی قرار داده و بیان نموده که این مواد در سم‌زدایی نیکل در گیاهان نقش دارند. لازم به توضیح است که هیستیدین یکی از بیست اسید آمینه اصلی موجود در سلول‌های زنده از جمله اسیدهای مونوکربوکسیلیک می‌باشد که در تخفیف سمیت فلزات در گیاهان اهمیت دارد. این اسید آمینه که هم به صورت آزاد

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

و هم در ساختمان پروتئین‌ها مشاهده می‌شود، تمایل زیاد برای باند شدن به فلزات سنگین دارد. به‌ویژه اسید آمینه آزاد، به عنوان یک لیگاند مهم و قوی در تجمع فلزات سنگینی مانند نیکل نقش دارد.

در مطالعه دیگری Ma و همکاران (۲۰۰۱) نیز نقش اسید آلی اگزالیک اسید در سم زدایی آلومینیوم در گندم را مورد بررسی قرار داده‌اند. با استفاده از اسیدهای آلی مانند مالیک اسید و سیتریک اسید از طریق اسیدی کردن خاک، تبادل کاتیونی و احیا هیدروکسیدهای فلزی محلول خاک، جذب سطحی ریشه و انتقال فلزات سنگین به قسمت هوایی تسریع یافته در نتیجه گیاهان تجمع دهنده با ظرفیت استثنایی موجب تحرک و تجمع فلزات در گیاهان و فیتواکستراکشن فلزات سنگین از خاک می‌شود (Hall, 2002).

با توجه به گزارشات متعددی که همگی نشان دهنده تجمع فلزات سنگینی مانند کادمیوم و سرب در لایه‌های فوقانی خاک و اجتناب ناپذیر بودن جذب آن توسط گیاهان می‌باشد، در این پژوهش اثرات اسیدهای کربوکسیلیک سیترات، اگزالات، فومارات و هیستیدین برون‌زا بر رشد و میزان تجمع فلزات سنگین کادمیوم و سرب در گیاه کلزا مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین با بررسی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه میزان سم زدایی و تخفیف تنش ناشی از فلزات کادمیوم و سرب توسط اسیدهای آلی در گیاهچه کلزا *Brassica napus* L. مطالعه شد.

**مواد و روش‌ها:**

این پژوهش در سال ۱۳۹۰ در مرکز بین‌المللی علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی انجام گرفت. بذرهای *Brassica napus* L. رقم زرفام از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. پژوهش حاضر در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. تعداد ۲۰ بذر روی کاغذ صافی در ظروف پتری حاوی مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از محلول ۱۰۰ میکرومولار کلراید کادمیوم یا کلراید سرب قرار گرفت. تیمارهای اعمال شده شامل اسید کربوکسیلیک سیترات، اگزالات، فومارات و هیستیدین، تیمار با فلز سنگین کادمیوم یا سرب و نیز تیمار هم‌زمان هریک از اسیدهای آلی با سرب یا کادمیوم بود. غلظت‌های اسیدهای کربوکسیلیک شامل ۵۰ میکرومولار سیترات، ۱ میکرومولار اگزالات، ۵۰ میکرومولار فومارات یا ۳۰۰ میکرومولار هیستیدین بود. برای هر تیمار ۳ تکرار (۳ ظرف پتری) در نظر گرفته شد. بذرهای کاشته شده درظروف پتری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر از تیمارهای مذکور در مدت ۷ روز در دمای ۲±۱۶: ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۶:۸ به ترتیب تاریکی: نور قرار گرفته و سپس گیاهچه ۷ روزه جهت انجام بررسی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی موردنظر استفاده شد.

**سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئیدها):** مقدار ۰/۲ گرم بافت تازه برگی با ترازوی آزمایشگاهی Sartorious مدلBP211 D با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شد و در هاون چینی که حاوی استون ۸۰ درصد بود خوب سائیده شد. محتوای هاون توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ که در قیف شیشه‌ای قرار داشت صاف گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر استون به آن اضافه شد و حجم محلول به ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد. این محلول حاوی کلروفیل a ,b و کاروتنوئیدهاست. شدت جذب این محلول در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV Visible مدل ArrayS2100 Diod خوانده شد (Lichtenthaler, 1987). غلظت این رنگیزه ها با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید.

$$Chl.a(mg.ml^{-1})=12.5\ A_{663.2}-2.79\ A_{646.8}$$
$$Chl.b(mg.\ ml^{-1})=21.51\ A_{646.8}-5.1\ A_{663.2}$$
$$Chl.Total(mg.\ ml^{-1})=Chl.a+Chl.b$$
$$Car(mg.ml^{-1})=(1000A_{470}-1.8cha-85.02chb)/198$$

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

در این فرمول $Ch_a$ ،$Ch_b$ ،$Ch_T$ و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a کروفیل b کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها) می‌باشد. غلظت بر حسب $\mu g.ml^{-1}$ عصاره گیاهی تعیین گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب گرم وزن تر محاسبه گردید.

**سنجش پراکسیداسیون لیپیدها:** برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء غلظت مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدهای حاصل از این واکنش اندازه‌گیری شد. بر این اساس مقدار ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل با استفاده از سانتریفیوژ مدل Napco ۲۰۲۸R به مدت ۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۴ میلی‌لیتر محلول TCA ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیو باربیتوریک اسید (TBA) بود اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم حرارت داده و سپس بلافاصله در یخ سرد وارد شد. مخلوط دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است، جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155\ cm^{-1}mM^{-1}$ استفاده شد (Heath and Packer, 1968). نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن تر محاسبه و ارائه گردید. برای سنجش مقدار سایر آلدئیدها (پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی متیل استال) نیز شدت جذب در طول موج ۴۵۵ نانومتر خوانده شد و جذب سایر رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر از این مقدار کسر گردید (Meir *et al.*, 1992 ). برای محاسبه غلظت این آلدئیدها از ضریب خاموشی معادل $0/458\times10^5 cm^{-1}mM^{-1}$ استفاده شد. این ضریب خاموشی میانگین ضریب خاموشی برای پنج آلدئید مورد نظر است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن تر محاسبه و ارائه گردیدند.

**پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$):** سنجش پراکسید هیدروژن با استفاده از روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. اندام هوایی گیاه در حمام یخ با تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد سائیده شدند. عصاره در سانتریفوژ یخچال‌دار (Centrifuge 5804R,Eppendorf, Germany) در $g$ ۱۰۰۰۰ برای ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH= ۷)و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید و جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1}cm^{-1}$ ۰/۲۸ محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید.

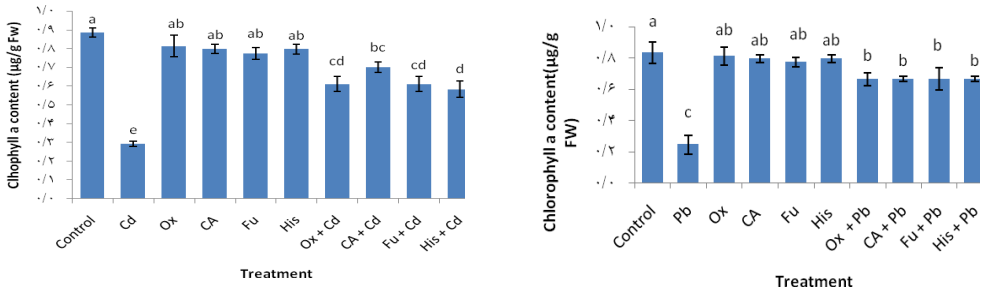
**وزن خشک:** جهت سنجش وزن خشک، گیاهچه‌های هر ظرف به عنوان یک تکرار درنظر گرفته شد. گیاهچه‌ها پس از برداشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. وزن خشک نمونه‌ها با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی Sartorious مدلBP211 D با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم گزارش گردید.

**سنجش کادمیوم و سرب:** به منظور اندازه‌گیری مقدار کادمیوم و سرب گیاهچه‌ها از روش جذب اتمی (هضم اسیدی) استفاده شد. به این منظور مقدار ۰/۵ گرم از بافت گیاهی خشک در ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا نمونه گیاهی به خوبی در اسید حل شود. بعد از این مدت نمونه جهت خروج بخارات

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ] [ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]




**شکل ۱- تاثیر تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر مقدار کلروفیل a گیاهچه‌های تحت تنش ۱۰۰ میکرومولار سرب (راست) و ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم (چپ).**

CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).
مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

اسیدی گرم شد. سپس با استفاده از آب مقطر حجم محلول به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و صاف گردید (Rothery, 1988). سنجش یون محلول حاصل توسط دستگاه جذب اتمی GTA-110 graphite tube Atomizer مدل Spectra aa 220Varian ساخت کشور استرالیا انجام گرفت. طول موج جذب لامپ مورد استفاده مربوط به کادمیوم و سرب به ترتیب ۲۲۸/۸ و ۲۸۳/۳ نانومتر بود و از Deuterium background correction استفاده شد. جهت تعیین غلظت یونها، نمودار استاندارد مربوطه توسط نرم‌افزار دستگاه (Spectra AA) رسم شد و غلظت مجهول محلول‌ها تعیین گردید.

**تجزیه و تحلیل‌های آماری:** به‌منظورمقایسه میانگین داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (v. 17)، آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون دانکن و سطح معنی‌داری ۵ درصد (ضریب اطمینان ۹۵٪) استفاده شد.

## نتایج:

### محتوای کلروفیل:

نتایج مربوط به اثر تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک در گیاهچه‌های تحت تیمار کادمیوم و سرب بر میزان کلروفیل a نشان داد که گیاهچه‌های تحت تنش کادمیوم و سرب مقدار کلروفیل a آنها نسبت به شاهد کاهش یافت. تیمار هم‌زمان گیاهچه‌های تحت تنش فلز سنگین با اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه موجب جلوگیری از این اثر گردید و مقدار کلروفیل a را به طور معنی‌داری نسبت به گیاهچه‌های تحت تنش فلز افزایش داد (شکل ۱).

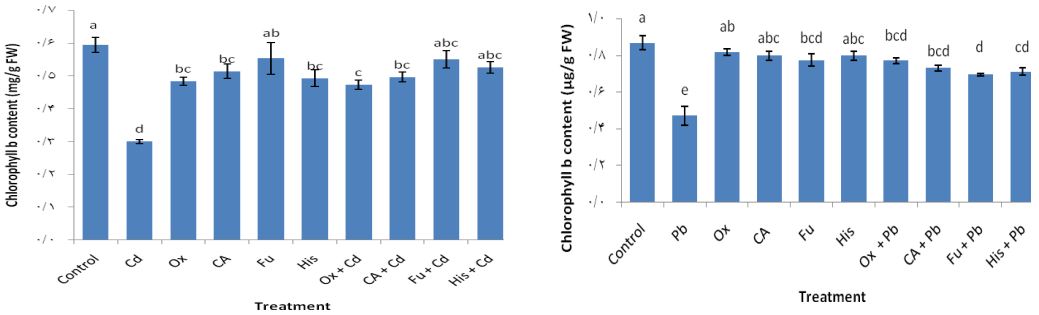
کادمیوم و سرب موجب کاهش معنی‌دار کلروفیل b نسبت به شاهد، اسیدهای کربوکسیلیک و هیستیدین شد اما تیمار اگزالات، سیترات، فومارات و یا هیستیدین با عناصر کادمیوم و سرب موجب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل b نسبت به تنش فلز سنگین شد (شکل ۲)

بیشترین مقدار کلروفیل کل مربوط به شاهد بود. تیمار اسیدهای کربوکسیلیک (اگزالات، سیترات و فومارات) و هیستیدین نسبت به شاهد در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری نشان نداد. تیمار اسیدهای کربوکسیلیک و هیستیدین همراه با فلز سنگین کادمیوم و سرب موجب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل کل نسبت به کادمیوم و سرب شد (شکل۳).

### مقدار کاروتنوئیدها:

براساس نتایج کمترین مقدار کاروتنوئید مربوط به گیاهچه‌هایی بود که تحت تاثیر کادمیوم قرار گرفته بودند.

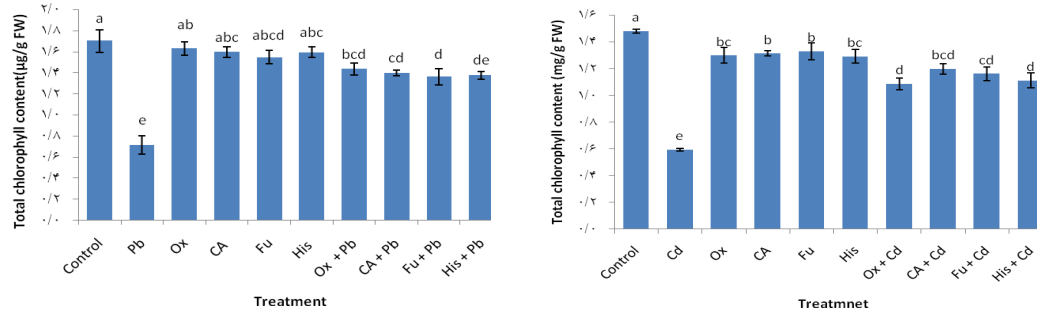
[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]




**شکل۲- تاثیر تیمار همزمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر مقدار کلروفیل b گیاهچه‌های تحت تنش ۱۰۰ میکرومولار سرب (راست) و ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم (چپ).**

CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.




**شکل ۳- تاثیر تیمار همزمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر مقدار کلروفیل کل گیاهچه‌های تحت تنش ۱۰۰ میکرومولار سرب (راست) و ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم (چپ).**

CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

### مقدار کاروتنوئیدها:

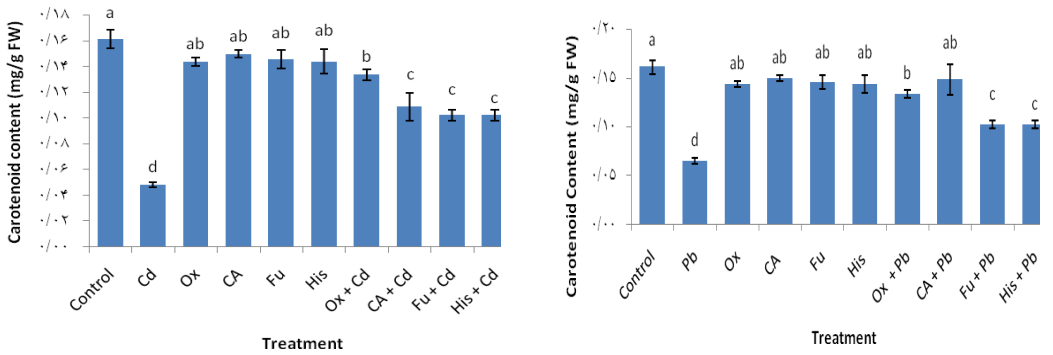
براساس نتایج کمترین مقدار کاروتنوئید مربوط به گیاهچه‌هایی بود که تحت تاثیر کادمیوم بودند. گیاهچه‌هایی که تحت تاثیر همزمان کادمیوم با یکی از اسیدهای اگزالات، سیترات، فومارات و هیستیدین قرار گرفته بودند افزایش معنی‌دار مقدار کاروتنوئیدها نسبت به کادمیوم را نشان دادند (شکل ۳). استفاده همزمان از اگزالات، سیترات، فومارات و یا هیستیدین در گیاهچه‌های تحت تیمار سرب موجب افزایش معنی‌دار مقدار کاروتنوئیدها گردید (شکل ۴).

### پراکسیداسیون لیپیدها:

کادمیوم و سرب موجب افزایش مقدار مالون دی آلدئید شد که این افزایش در سطح احتمال ۵٪ نسبت به شاهد معنی‌دار بود (شکل ۵).مقدار مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدها در تیمار اسیدهای کربوکسیلیک و هیستیدین نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار نشان نداد. استفاده از اگزالات، سیترات، فومارات و هیستیدین هنگامی که گیاهچه‌ها تحت تنش کادمیوم و سرب قرار گرفته بودند موجب کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون غشا نسبت به گیاهچه‌های تحت تنش کادمیوم و سرب شد ($P>0.05$).

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

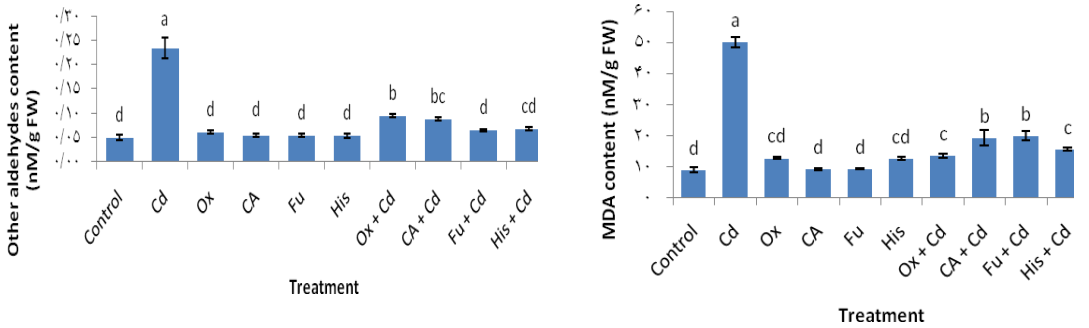
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]




**شکل ۴- تاثیر تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر مقدار کاروتنوئیدهای گیاهچه‌های تحت تنش ۱۰۰ میکرومولار سرب (راست) و ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم (چپ).**

CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.




**شکل۵- تاثیر تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر مقدار مالون دی آلدئید (راست) و سایر آلدئیدهای (چپ) گیاهچه کلزا تحت تنش ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم.**

CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

### مقدار پراکسید هیدروژن:

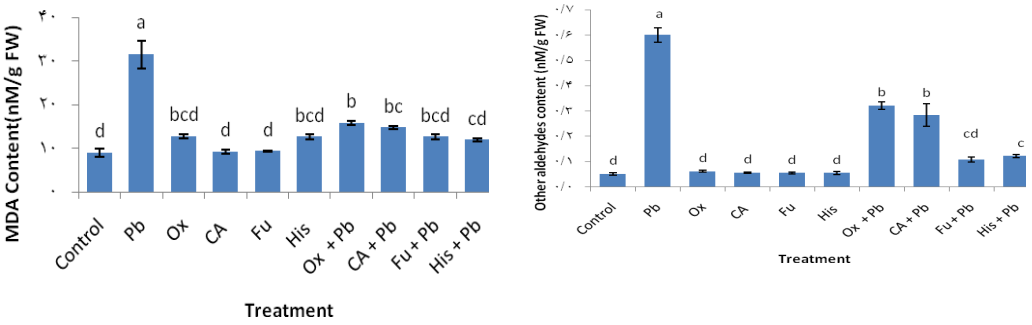
تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک و هیستیدین در گیاهچه‌های تحت تیمار کادمیوم و سرب موجب افزایش معنی دار پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد شدند (شکل ۶ و ۷). تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک اگزالات، سیترات و فومارات و هیستیدین موجب کاهش معنی‌دار پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار کادمیوم و سرب به تنهایی گردید.

### وزن خشک:

تنش کادمیوم و سرب وزن خشک را در گیاهچه‌های ۷ روزه کلزا کاهش داد. هر چند وزن خشک در گیاهچه‌ها هنگام استفاده هم‌زمان اسیدهای آلی کربوکسیلیک با تنش فلزات از نمونه شاهد کمتر بود اما این تیمار میزان وزن خشک نسبت به گیاهچه‌های تحت تنش بهبود بخشید (شکل ۸).

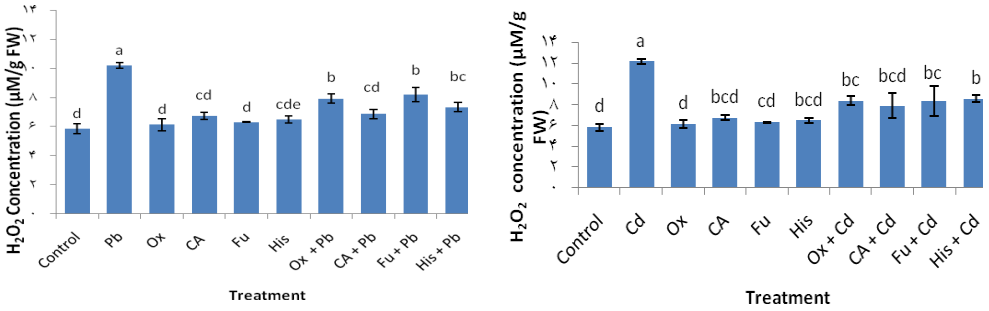
[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]



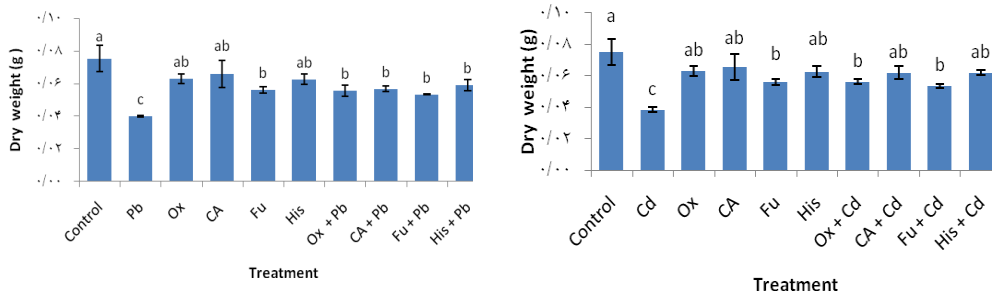

**شکل ۶- تاثیر تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر مقدار مالون دی آلدئید(چپ) و سایر آلدئیدهای (راست) گیاهچه کلزا تحت تنش ۱۰۰ میکرومولار سرب**

CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).
مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.




**شکل۷- تاثیر تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر محتوای پراکسیدهیدروژن گیاهچه کلزا تنش ۱۰۰ میکرومولار سرب (راست) و ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم (چپ).**

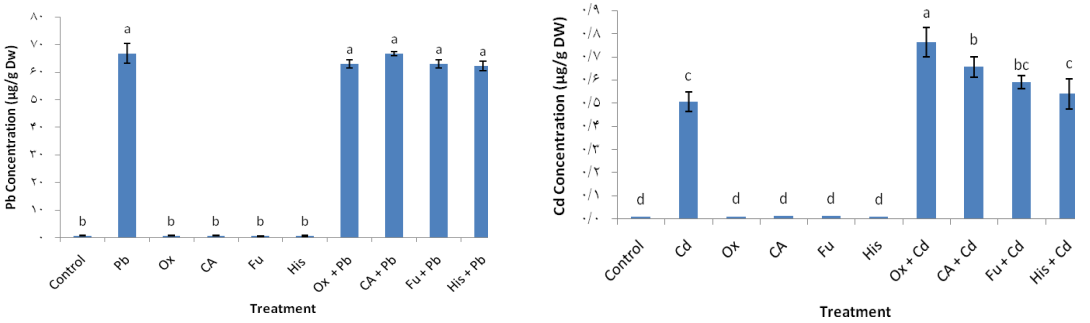
CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).
مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.




**شکل۸- تاثیر تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر وزن خشک در گیاهچه کلزا تحت تنش ۱۰۰ میکرومولار سرب (راست) و ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم (چپ).**

CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).
مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]




**شکل ۹- تاثیر تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک و اسیدآمینه بر محتوای کادمیوم و سرب در گیاهچه کلزا تحت تنش ۱۰۰ میکرومولار سرب (راست) و ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم (چپ).**

CA: (سیترات ۵۰ میکرومولار)، OX: (اگزالات ۱ میکرومولار)، Fu: (فومارات ۵۰ میکرومولار)، اسیدآمینه His: (هیستیدین ۳۰۰ میکرومولار).

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

**مقدار کادمیوم و سرب:**

تیمار هم‌زمان اگزالات-کادمیوم و سیترات-کادمیوم موجب افزایش معنی‌دار محتوای کادمیوم نسبت به شاهد و حتی تیمار کادمیوم به تنهایی شد (شکل ۹). تاثیر هم زمان فومارات یا هیستیدین با کادمیوم موجب افزایش معنی‌دار مقدار کادمیوم نسبت به شاهد شد اما مقدار آن درسطح احتمال ۵٪ نسبت به تیمار کادمیوم به تنهایی کمتر بود (شکل۹).

بیشترین تجمع سرب در گیاهچه‌ها مربوط به گیاهچه‌هایی بود که تحت تاثیر سرب قرار گرفته بودند ($P\leq$۵٪). تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک (اگزالات، سیترات و فومارات) و اسیدآمینه هیستیدین موجب تجمع سرب درون گیاهچه‌ها شد که این مقدار در سطح احتمال ۵٪ کمتر از تیمار سرب به تنهایی اما بیشتر از شاهد بود.

**بحث:**

بررسی رنگیزه‌های فتوسنتزی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تیمار فلزات سنگین کادمیوم و سرب در گیاهچه‌های مورد آزمایش باعث کاهش در محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردد. در حالی که کاربرد اسیدهای کربوکسیلیک توانسته است تا حدودی آسیب‌های حاصله از فلز سنگین را بهبود بخشد. همچنین کاربرد فلزات سنگین کادمیوم و سرب باعث کاهش محتوی کاروتنوئیدها در گیاهچه‌های تحت تیمار گردیده است، در حالی که اسیدهای آلی در گیاهان تیمار شده با فلز سنگین باعث افزایش محتوی کاروتنوئیدها گردیده است.

تغییرات در مقدار رنگیزه‌ها یکی از علائم ظاهری اثر تنش محیطی بر فتوسنتز می‌باشد. گزارشات متعددی مبنی بر اثر فلزات سنگین بر محتوی کلروفیل و کاروتنوئیدهای گیاهان وجود دارد. در گیاه آفتاب‌گردان که در معرض کادمیوم قرار گرفته بود علائم نکروزگی و کلروزه شدن مشاهده شده است. محتوی کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای آن نیز کاهش نشان داده است (Di cagno *et al.*,2001). در کلم برگ نیز گزارش شده است که سمیت کادمیوم باعث کاهش محتوی کلروفیل گردیده است. این کاهش به دلیل اثر بازدارندگی فلزات سنگین از جمله کادمیوم بر جذب آهن در گیاه ذکر شده است (Pandey and Sharma, 2002). در گیاهچه لوبیا نیز کادمیوم باعث کاهش محتوی کلروفیل گردیده است. این

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

کاهش ممکن است در نتیجه بازدارندگی آنزیم‌های مسئول بیوسنتز کلروفیل ایجاد شده باشد (Kirbag and Lanaras *et al*., 1993; Munzuroglu, 2005).

کاروتنوئیدها علاوه بر این که رنگیزه‌های کمکی هستند، دارای نقش آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشند. مطالعات انجام گرفته روی گیاهان آزولا (Dai *et al*., 2006) و *Bacopa monnieri* (Mishra *et al*., 2006) نشان داده است که کاربرد کادمیوم به علت اثرات شدید اکسیداتیو در این گیاهچه‌ها باعث کاهش محتوی کاروتنوئید گردیده است. در تحقیق حاضر با توجه به نقش آنتی-اکسیدانی کاروتنوئیدها، می‌توان نقش مثبت اسیدهای آلی را در جهت افزایش کاروتنوئیدها در شرایط تیمار گیاهچه‌ها با فلز سنگین حائز اهمیت دانست. نتایج به دست آمده از مقایسه وزن خشک نمونه‌ها نیز نشان داد که با استفاده از اسیدهای کربوکسیلیک می‌توان خسارت رشدی ناشی از تنش فلزات سنگین را جبران نمود. کادمیوم و سرب به تنهایی وزن خشک و بیومس گیاهچه‌های کلزا را کاهش داد در حالی که تیمار اسیدهای کربوکسیلیک میزان بیوماس را افزایش داد. شاید بتوان گفت که اسیدهای آلی در برهمکنش با تنش فلزات سنگین از طریق حفاظت از کلروفیل و حفظ غشا از پراکسیداسیون لیپیدها، از کاهش رشد و وزن گیاهان تحت تنش جلوگیری می‌کند.

در مطالعه روی لوبیا سبز، Donngsen و همکاران (۱۹۹۵) گزارش نمودند که اگزالیک اسید موجب بهبود رشد ریشه و اندام هوایی گیاه شاهد و تحت تیمار کادمیوم شد. بیان شده است نه تنها لیگاندهای آلی حلالیت فلزات سنگین را افزایش می‌دهند، بلکه سمیت آن برای گیاه را نیز کاهش می‌دهند. یون‌های آزاد فلزات سنگین در مقایسه با مولکول‌های کمپلکس آلی آن، خاصیت سمیت بیشتری دارند و احتمالا اسیدهای آلی با اثری که بر کاهش خسارت غشا و ماکرومولکول‌های ساختاری دارند موجب حفظ آب سلول‌ها می‌شوند (Donngsen *et al.,* 1995).

تنش فلزات سنگین کادمیوم و سرب، مقدار مالون دی آلدئید و محتوی سایر آلدئیدها را در گیاهچه‌های مورد آزمایش افزایش داد. این نتایج نشان می‌دهد که تنش فلز سنگین منجر به خسارت به غشا گردیده و منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها شده است. همچنین نتایج ارائه شده در این تحقیق نشان داد که در گیاهچه‌هایی که تحت تیمار فلزات سنگین کادمیوم و سرب بوده‌اند، محتوی پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد، در حالی که تیمار با اسیدهای آلی کاهش معنی‌دار محتوی پراکسید هیدروژن در گیاهچه‌های تیمار شده با فلز سنگین را به همراه داشت. قبلا توسط Chen و Wong (۲۰۰۳) گزارش شده که تنش کادمیوم کلرید باعث القا سمیت و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در برگ‌های گیاه برنج گردیده است. این محققین نشان داده‌اند که تنش اکسیداتیو و ایجاد رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون لیپیدها گردیده است. نتایج حاصله از این گزارشات با نتایج آزمایشات انجام شده مطابقت دارد. در پژوهش حاضر مشاهده شد که به طور عموم کاربرد اسیدهای آلی در گیاهچه‌های تحت تمار فلز سنگین کادمیوم و سرب، باعث کاهش محصولات پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه تخفیف اثرات ناشی از تنش این فلزات در گیاهچه‌های مورد آزمایش می‌گردد. پراکسید هیدروژن یکی از اشکال گونه های فعال اکسیژن می‌باشد (Karuppanapandian *et al*., 2011). گزارش شده است که در گیاه نخودفرنگی که در معرض کادمیوم قرار داشتند به دنبال القا تنش اکسیداتیو، محتوی $H_2O_2$ در گیاه افزایش یافته و محصول ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها نیز در سلول‌ها تجمع می‌یابد که احتمالا نتیجه تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در سلول‌ها می‌باشد (Dixit *et al.,* 2001). در این بررسی، تیمار هم زمان اسیدهای آلی کربوکسیلیک، کاهش

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

معنی‌دار محتوی پراکسید هیدروژن در گیاهچه‌های تیمار شده با فلز سنگین را به همراه داشت.

در این بررسی مقدار کادمیوم در گیاهچه با تیمار غلظت سیتریک اسید و اگزالیک اسید افزایش یافت. به نظر می‌رسد این نتایج به دلیل واکنش متقابل کادمیوم با لیگاندهای آلی است که موجب تشکیل شکل کادمیوم باند شده با مواد آلی شده که تحرک بیشتری دارد. جذب این فرم باند شده نسبت به فرم یونی کادمیوم توسط گیاه بیشتر است. گزارش شده است مواد آلی مانند سیترات، مالات، اگزالات، آسکوربات و گلوتامات توانایی کلات شدن با فلزات سنگین را دارند. در مطالعات انجام گرفته توسط Peterson و Alloway (۱۹۷۹) بیان شده است که کمپلکس کادمیوم با مواد آلی نسبت به مقدار مشابه از فرم یونی آن، دارای تحرک بیشتری می‌باشد.

سیتریک اسید با فلزات باند شده و موجب تجمع آنها در اندام هوایی می‌شود. سیتریک اسید در تجمع کادمیوم در برگ‌های گیاه سیب‌زمینی نیز نقش دارد و ترشح آن از ریشه‌ها در فراهمی و جذب کادمیوم توسط گیاه درگیر است. Huang و همکاران (۱۹۹۷) بیان کردند که سیتریک اسید موجب افزایش در دسترس بودن فلزات و افزایش تجمع فلز سنگین در اندام هوایی گیاهان می‌شود. اسیدهای آلی در واکوئل‌ها تجمع می‌یابند، اتصال بین فلزات و اسیدهای آلی در واکوئل‌ها و ذخیره آنها در سم زدایی فلزات نقش دارد. بنابراین اسیدها در مقاومت و تجمع فلزات سنگین در گونه‌های تجمع دهنده نقش بسیار مهمی دارند (Boominathan and Doran, 2003). در یک پژوهش Chiang و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که ورود کادمیوم از فاز جامد خاک به فاز محلول آن از طریق تشکیل کمپلکس لیگاند آلی با کادمیوم صورت می گیرد. سپس کادمیوم موجود در ریزوسفر دسترسی بیشتری برای گیاه داشته و بیشتر در گیاه تجمع می‌یابد.

Salt و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که عنصر روی با هیستیدین در ریشه‌های کلم به صورت کمپلکس در می‌آید. هیستیدین در تشکیل کمپلکس با فلزات سنگین نقش دارد که علت تجمع و مقاومت زیاد نسبت به فلز روی در این گونه گیاهی است. همچنین در گیاه *Alyssum murale* که یک تجمع دهنده نیکل است (Kramer *et al*., 1996)، گزارش شده که هیستیدین، در جریان نیکل در آوند چوبی، انتقال آن به اندام هوایی و کمپلکس کردن نیکل در داخل واکوئل نقش دارد (Eapen and Souza, 2005). اما نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تاثیر هم‌زمان فومارات یا هیستیدین با کادمیوم موجب افزایش معنی‌دار مقدار کادمیوم تنها نسبت به گیاهان شاهد شد، در حالی که مقدار آن درسطح احتمال ۵٪ نسبت به تیمار کادمیوم به‌تنهایی معنی‌دار نبود.

تیمار هم‌زمان اسیدهای کربوکسیلیک (اگزالات، سیترات و فومارات) و اسیدآمینه هیستیدین روی تجمع سرب درون گیاهچه‌ها اثر معنی‌داری نداشت، اما بیشتر از شاهد می‌باشد. بیشترین تجمع سرب مربوط به گیاهچه‌هایی بود که به تنهایی تحت تاثیر سرب قرار گرفته بودند ($P\leq0.05$). گیاهچه‌های تیمار شده توسط اسیدهای آلی، در مقایسه با کادمیوم مقدار سرب جذب شده تفاوتی با سایر تیمارها نداشت که می‌تواند به دلیل محلولیت متفاوت چنین ترکیبات فلزی در محیط باشد. جذب سرب در گیاهچه‌های کلزا نسبت به جذب کادمیوم بیشتر می‌باشد. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده از گیاهچه‌های تحت تنش سرب تیمار شده با اسیدهای کربوکسیلیک، به نظر می‌رسد این تیمارها در غلظت‌های مورد استفاده در این پژوهش نمی‌تواند بر جذب سرب از محیط توسط گیاهچه کلزا تاثیر معنی‌داری داشته باشند.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

**نتیجه‌گیری:**

بر اساس نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد استفاده از سیتریک اسید و اگزالیک اسید می‌تواند در افزایش قابلیت جذب فلز کادمیوم از محیط اطراف ریشه توسط گیاهچه کلزا در شرایط پژوهش حاضر موثر باشد که با توجه به برخی از ویژگی‌های شیمیایی مورد سنجش در این پژوهش، این تاثیرگذاری همراه با تخفیف اثرات تنش در گیاهچه کلزا می‌باشد. استفاده از این اسیدهای آلی هرچند می‌تواند شدت تنش ناشی از سرب را در گیاه کلزا کاهش دهد، اما بر میزان جذب فرم استفاده شده سرب، از محیط ریشه و در محیط آزمایشگاهی تاثیر قابل توجهی ندارد. بنابراین در صورت تایید نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج کار در شرایط محیط‌های آلوده طبیعی یا بررسی خاک آلوده در شرایط آزمایشگاهی شامل خاک اطراف کارخانه‌ها و معادن، استفاده از سیتریک اسید و اگزالیک اسید جهت پالایش مناطق آلوده به کادمیوم توصیه می‌گردد.

**منابع:**


Boominathan, R. and Doran, P.M. (2003) Organic acid complexation, heavy metal distribution and the effect of ATPase inhibition in hairy roots of hyperaccumulator plant species. Journal of Biotechnology 101:131-146.

Chaney, R. L., Malik, M. Lim, Y. M. Brown, S. L., Brewer, E. P., Angle J. S.and Baker, A.J.M. (1997) Phytoremidiation of soil metals. Current Opinion on Biotechnology 8:279-284.

Chen, Y. X. and Wongs, M. H. (2003) Physiological mechanism of plant root exposed to cadmium. Chemosphere 50: 789-793.

Chiang, P., M. K., Wang, C., Chiu Y.and Chou, S. (2006) Effects of cadmium amendments on low-molecular-weight organic acid exudates in rhizosphere soils of tobacco and sunflower. Environmental Toxicology 479-488.

Dai, L.P., Xiong, Z.T., Huang, Y.and Li, M.J. (2006) Cadmium-induced changes in pigments, total phenolics, and phenylalanine ammonia-lyase activity in fronds of *Azolla imbricata*. Environmental Toxicology 21:505-12.

Dechun, S.U., Jianping, X., Weiping, J., Woonchung, W. (2009) Cadmium uptake and speciation changes in the rhizosphere of cadmium accumulator and non-accumulator oilseed rape varieties. Journal of Environmental Sciences 21: 1125–1128

Di cagno, R., Guidini, L. and Soldatini, G. F. (2001) Combined cadmium and ozone treatment affect photosynthesis and ascorbate-dependent defence in sunflower. New Phytologist 151:627-636.

Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R. (2001) Differential antioxidative responsed to Cd in roots and leaves of *Pissum sativum* L. Journal of Experimental Botany 52:1101-1109.

Donngsen, X., Harrison, R. B. and Henry, C. L. (1995). Effect of organic acid on Cadmium toxicity in tomato and bean growth. Journal of Environmental Sciences. 7:399-405

Eapen, S. and Souza, S. F. D. (2005) Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. Biotechnology Advances 23:97-114.

Hall, J.L. (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. Journal of Experimental Botany 53:1-11.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stochiometery of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry and Biophysics 125: 189-190.

Huang, J.W., Chen, J. J. Berti, W.R. and Cunningham, S.D. (1997) Phytoremediation of Lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environmental Science and Technology 31:800-805.

Karuppanapandian, T., Moon, J.C., Kim, C., Manoharan, K. and Kim W. (2011) Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. Australian Journal of Crop Science. 5: 709-725

Kirbag, Z. F. and Munzuroglu, O. (2005) Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, prolin and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica 47: 157-164.

Kramer, U, Cotter-Howells, J D, Charnock, J. M., Baker, A. J. M. and Smith J. A. C. (1996) Free


[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

Pandey, N. and Sharma, C.P. (2002) Effect of heavy metals $Co^{+2}$, $Ni^{+2}$ and $Cd^{+2}$ on growth and metabolism of cabbage. Plant Science 163: 753-758.

Peterson, P.J. and Alloway, B.J. (1979) The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium (M. Webb Ed.). Elsevier, North Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford. 2:45-92.

Raskin, I., Kumar, P. B. N., Dushenkov, A.V and Salt, D.E. (1994) Bioconcentration of heavy metals by plants. Current Opinions on Biotechnology 5: 285-290.

Rothery, E. (1988) Analytical methods for graphite tube atomizers. Varian Australia Pty Lty. Page 102.

Salt, D.E., Prince, R. C. Pickering, I.J. and Raskin, H. (1995) Mechanism of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. Plant Physiology 109:1427-1433.

Salt, D. E., Smith, R. D. and Raskin, I. (1998) Phytoremidiation. Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology 49:643-668.

Sanita, D.,Toppi, L. and Gabrielli, R. (1999) Review, Response to Cd in higher plants. Environmental and Experimental Botany 41:105-130.

Schwartz, J. and Levin,R. (1991) The risk of lead toxicity in homes with Pb paint hazard, Environmental Research 54:1-7.

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants - Protective role of exogenous polyamines. Plant Science 151: 59-66.

histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. Nature 379: 635-638.

Lanaras, T., Moustakas, M., Symeonidis, L., Diomantoglou, S. and Karataglis, S. (1993) Plant metal content, growth responses and some photosynthetic measurements of field-cultivated wheat growing on ore bodies enriched in Cu. Physiologia Plantarum 88: 307–314.

Lichtenthaler, H.K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148:350-382.

Ma, J. F., Ryan P. R., Delhaize, E. (2001) Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids. Trends in Plant Science 6: 273-378.

Madrid, F. and Kirkham, M.B. (2000) Heavy metal uptake by barely and sunflower grown in abandoned animal lagoon soil, Plant and Soil 195: 62-68.

Meir, S., Philosophhadas, S. and Aharoni, N. (1992) Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid–peroxidation products detected during Parsley by a newly developed method. Journal of the American Society for Hourticultural Science. 117: 128-132.

Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Govidarajan, R., Kuriakose, S.V. and Prasad, M.N.V. (2006) Phytochelatin Synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. Journal of Plant Physiology and Biochemistry 44: 25-37.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]

# The investigation of exogenous application of organic carboxylic acids on some biochemical parameters and Cd and Pb absorption by canola seedlings

**Hakimeh Oloumi[1*], Effat Ahmadi Mousavi[1] and Neda Hasibi**

**[1]Department of Ecology, International Center for Science, High Technology & Environmental Sciences, Kerman, Iran**

**[*]Corresponding author: oloumi.ha@gmail.com**

**Abstract:**

With regards to the excess entry of heavy metals to the natural resources and thus the importance of heavy metal removal from the environment, in this investigation, the effects of some organic acid treatment on cadmium and lead absorption was studied one week *Brassica napus* seedlings. Canola seeds were cultured in Petri dishes containing 10 mL of 100 µM $CdCl_2$ or 100 µM $PbCl_2$ and some organic carboxylic acids including 50 µM citrate, 1 µM oxalate, 50 µM fumarate or 300 µM histidine. To study the role of these organic acids in alleviating of heavy metal stress, some biochemical and growth parameters including the content of total chlorophyll, carotenoids, hydrogen peroxide, malondialdehyde and dry weight, were also investigated in the-7- day canola seedlings under Cd and Pb stress. Although organic carboxylic acid treatment increased Cd and Pb absorption by canola seedlings, there was also an increase in the content of total chlorophyll, carotenoids and dry weight in seedlings treated by carboxylic acids. Cadmium and lead stress caused an increase in the hydrogen peroxide but carboxylic acid application decreased the content of malondialdehyde and hydrogen peroxide in the seedlings under heavy metals stress. Based on the results, it seems that the application of some organic carboxylic acids not only improved remediation capability of Cd and Pb by canola seedlings, but also had positive effects on alleviation of Cd and Pb toxicity in canola seedlings.

**Keywords:** *Brassica napus,* Cadmium, Lead, Organic carboxylic acids.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1391.1.2.3.2 ]