غلظت بالای منیزیم در خاک‌های سرپنتین بر همئوستازی کلسیم در گیاه بومی سرپنتین *Alyssum inflatum* تأثیر ندارد

رسول قاسمی* و زهره زارع چاوشی

گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ۴۶۹۷ – ۱۹۳۹۵، تهران، جمهوری اسلامی ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۰۴)

چکیده:

خاک‌های سرپنتین خصوصیات ویژه نامتعارفی مانند غلظت کم کلسیم، غلظت بالای منیزیم و فلزات سنگین دارند که باعث بروز اندمیسم گیاهی زیاد در آنها می‌شود. احتمالاً علت اندمیسم برخی گیاهان بر روی این خاک‌ها حساسیت به کلسیم و نیاز به غلظت‌های بالای منیزیم می‌باشد. از آنجا که کلسیم و منیزیم در جذب و انتقال توسط گیاهان برهمکنش دارند، در این مطالعه اثر منیزیم محیط بر پاسخ حساسیت به کلسیم در گیاه *Alyssum inflatum* مورد بررسی قرار گرفت. این گیاه بومی خاک‌های سرپنتین غرب ایران است و حساسیت کشنده آن به غلظت‌های بالای کلسیم مشخص شده است. بذر گیاه پس از برداشت از زیستگاه طبیعی، در شرایط گلخانه به روش کشت آبی بر روی بستر خنثی پرلیت کاشته شد. از محلول غذایی هوگلند یک چهارم غلظت استفاده شد و غلظت‌های مختلف کلسیم و منیزیم در آن اعمال شد. برای تعیین وضعیت زنده ماندن گیاهان علاوه بر وضعیت ظاهری شامل پژمردگی و خشک شدن بخش‌های هوایی، با رنگ آمیزی ایوانز بلو، مرگ سلولی در ریشه گیاهان تعیین شد. نتایج نشان داد که این گیاه حساسیت بالایی به هر دو کاتیون دو ظرفیتی کلسیم و منیزیم دارد. اثر نسبت Ca/Mg در بقاء گیاه در صورتی که غلظت کلسیم و منیزیم هر دو پایین باشد دارای اهمیت است. نتایج پیشنهاد می‌کند که یکی از دلیل‌های اندمیسم گیاه بر روی خاک‌های سرپنتین حساسیت گیاه به کلسیم است و غلظت زیاد منیزیم در این خاک‌ها در کاهش حساسیت به کلسیم تأثیر ندارد. به علاوه، غلظت بالای منیزیم به عنوان یک عامل استرس‌زای محیطی برای این گیاه به دست آمد.

کلمات کلیدی: ***Alyssum inflatum*** **، سرپنتین، کلسیم، منیزیم**

مقدمه:

خاک‌های سرپنتین خصوصیات منحصر به فردی دارند که تأثیر این خصوصیات بر گیاهان را به عنوان سندرم سرپنتین (serpentine syndrome) نام می‌برند. این خصوصیات ویژه شامل وضعیت فیزیکی، شیمیایی و زیستی آن است. معمولاً در این خاک‌ها افق‌های خاک توسعه نیافته است و به دلیل شیب زیاد از پایداری لازم نیز برخوردار نیستند. به علاوه ترکیب عناصر در آنها دارای توازن موجود در خاک‌های معمولی نیست. آنها غنی از فلزات سنگین مانند نیکل و کروم هستند و غلظت عناصری مانند منیزیم و آهن در آنها بالا است. در عوض غلظت عناصری مانند کلسیم، نیتروژن و فسفر در آنها کم است (Brady *et al*., 2005). به همین دلایل، یکی از جنبه‌های زیست‌شناسی مربوط به خاک‌های سرپنتین میزان بالای اندمیسم بر روی این خاک‌ها نسبت به

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: rsl_ghsm@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.6.4]

خاک‌های معمولی و مجاور آن است (Jenny, 1980). وجود نسبت‌های کم Ca/Mg در خاک‌های سرپنتین از خصوصیاتی است که کم و بیش در همه این خاک‌ها دیده می‌شود (Brooks, 1987) و در مطالعه‌های زیادی از آن به عنوان یکی از عوامل اصلی اندمیسم نام برده شده است (Brady *et al*., 2005). از سویی گیاهان سرپنتین مقاومت بیشتری در برابر نسبت پایین Ca/Mg دارند. به عبارتی این گیاهان توانایی جذب موثر کلسیم و اجتناب از منیزیم اضافه را دارا می‌باشند (Proctor,1970.;Rajakaruna *et al*., 2003; Tyndall and Hull, 1999; Asemaneh *et al*., 2007).

کلسیم و منیزیم از لحاظ شعاع یونی تقریباً مشابهند و به وسیله کریرهای مشابهی (کانال‌های غیرانتخابی) جذب می‌شوند، اما نیاز گیاه به کلسیم بیشتر از منیزیم است و بنابراین بایستی در خاک بین غلظت کلسیم و منیزیم تعادل وجود داشته باشد. گیاهان حساس به کلسیم می‌توانند با حضور و استقرار در شرایط محیطی خاص اثرات حساسیت به کلسیم را در برهم زدن همئوستازی سلول کاهش دهند. Brooks (۱۹۸۷) بیان کرد که در بیشتر خاک‌های سرپنتین نسبت‌های مولی قابل تبادل Ca/Mg بین ۰/۱ تا ۰/۴ وجود دارد، در حالی که این نسبت در خاک‌های غیرسرپنتین حدود ۵ است. همچنین Loew وMay (۱۹۰۱) دریافتند که برای رشد بهینه گیاهان، نسبت کلسیم به منیزیم در محیط باید دارای موازنه‌ای باشد که گیاه با آن سازش داشته باشد. از سویی، حداقل برخی از گیاهان بومی سرپنتین توانایی زیادتری در جذب کلسیم از محیط‌های با غلظت کم کلسیم و حفظ توازن نسبت Ca/Mg درونی‌شان دارند. با مقایسه گونه‌های زراعی و گونه‌های بومی سرپنتین، Walker و همکاران (۱۹۵۵) مشاهده کردند که عملکرد گونه‌های سرپنتین برخلاف گونه‌های زراعی با کاهش کلسیم خاک کاهش نمی‌یابد. همچنین آنها ذکر کردند که گیاهان سرپنتین امکان جذب کمتر منیزیم را نسبت به گیاهان زراعی پیدا کرده‌اند. به عبارتی در گیاهان سرپنتین نوعی مقاومت در برابر ورود منیزیم به دلیل سازش با محیط‌های با غلظت بالای منیزیم تکامل پیدا کرده است.

از بررسی‌های انجام شده توسط Kruckeberg (۱۹۸۵) و Walker و همکاران (۱۹۵۵) این گونه استنباط می‌شود که سازش گیاهان به خاک‌های سرپنتین شدیداً وابسته به سازش آنها به مقادیر کم کلسیم و در مقابل سازش به مقادیر زیاد منیزیم در این خاک‌ها است. اما در هر حال مطالعات زیادی که مبنای سلولی و مولکولی مرتبط با مقاومت به شرایط خاک‌های سرپنتین را بیان کند انجام نشده است. بررسی بر روی گیاه مدل *Arabidopsis thaliana* نشان داده است، که با ایجاد نقص در ژن *CAX* (Calcium exchanger) توانایی رشد این گیاه در محیط‌های با غلظت بالای کلسیم کاهش می‌یابد و Tyndall و Hull (۱۹۹۹) بیان کردند که افزایش تحمل غلظت‌های پایین کلسیم و غلظت‌های بالای منیزیم، افزایش نیاز به منیزیم برای رشد ماکزیمم و سطوح پایین منیزیم در برگ‌ها تعدادی از خصوصیات گیاهان سرپنتین می‌باشد (Bradshaw, 2005). همچنین Vlamis وJenny (۱۹۴۸) پیشنهاد کردند که غلظت پایین کلسیم در خاک‌های سرپنتین استرس اصلی سندرم سرپنتین است و غلظت‌های بالای منیزیم بیشتر برای تضعیف جذب کلسیم می‌باشد.

علی‌رغم همه تأکیدهایی که بر نقش نسبت‌های منیزیم و کلسیم در اندمیسم گیاهان بر روی خاک‌های سرپنتین شده است اما به دلیل متنوع بودن شرایط متفاوت این خاک‌ها نسبت به خاک‌های معمولی و وجود فاکتورهای دیگر موثر در این خاک‌ها مانند غلظت بالای فلزات سنگین، این نکته مطرح شده است که ممکن است عوامل مختلف با درجات مختلف اهمیت موجب بروز اندمیسم در گونه‌های بومی خاک‌های سرپنتین شده باشد (Brady *et al*., 2005; Kazakuo *et al*., 2008). در این مطالعه همچنان این سوال مطرح شد که آیا گیاهان بومی سرپنتین جهت امکان برقراری همئوستازی کلسیم به محیط با غلظت بالای منیزیم (یعنی خاک‌های سرپنتین) پناه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.6.4]

برده‌اند؟ به عبارت دیگر آیا این گیاهان به دلیل مقاومت به غلظت‌های بالای منیزیم، می‌توانند از این خصوصیت برای تقلیل اثرات حساسیت به کلسیم استفاده کنند؟ در این مطالعه از گیاه A. inflatum بومی خاک‌های سرپنتین غرب ایران استفاده شده است (Ghaderian *et al*., 2007; Ghasemi and Ghaderian, 2009). این گیاه متعلق به بخش Odontarrhena، جنس *Alyssum* و خانواده Brassicaceae که شامل گیاهان چندساله است، می‌باشد. بروز صفت مقاومت و بیش انباشت فلز نیکل در این گیاه خصوصیت ویژه‌ای در این گیاه است که می‌تواند همچنین بروز پاسخ‌ها و نیازهای اکولوژیکی متفاوتی را نسبت به سایر گیاهان سرپنتین موجب شده باشد. به دلیل اینکه استفاده از این گیاهان در تکنولوژی‌هایی مانند گیاه‌پالایی و همچنین استقرار بر روی خاک‌های معمولی نیازمند شناخت بیشتر نیازهای اکولوژیکی آنها است، در این مطالعه به بررسی اثر عوامل موثر بالقوه در اندمیسم خاک‌های سرپنتین پرداخته شد.

مواد و روش‌ها:

بذر گیاه *A. inflatum* از خاک‌های سرپنتین غرب ایران در شهریور ۱۳۸۸ جمع‌آوری شد و حداقل به مدت ۳ ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به منظور شکست خواب آن نگهداری شد. برای انجام آزمایش از روش کشت گلدانی بر روی بستر خنثی پرلیت استفاده شد. هر گلدان با حجم ۴۵۰ میلی‌لیتر با پرلیت پر شده و هشت بذر کاشته شد. پس از جوانه‌زنی، دانه‌رست‌ها با محلول غذایی هوگلند تغییریافته تغذیه شدند. ترکیب محلول غذایی شامل ۱ میلی‌مولار نیترات کلسیم، ۰/۵ میلی‌مولار سولفات منیزیم، ۰/۱ میلی‌مولار فسفات دی هیدروژن پتاسیم، ۰/۵ میلی‌مولار نیترات پتاسیم، ۰/۲ میکرومولار سولفات مس، ۰/۲ میکرومولار سولفات روی، ۲ میکرومولار سولفات منگنز، ۵ میکرومولار فریک اتیلن دی آمین- دی- ۲- هیدروکسی فنیل استات (FeEDDHA)، ۱۰ میکرومولار اسید بوریک، ۰/۱ میکرومولار مولیبدات سدیم و۲ میکرومولار کلرید سدیم بود. گلدان‌ها در ظروف زیرگلدانی قرار گرفته و محلول غذایی در همه طول آزمایش به ظروف زیر گلدانی افزوده می‌شد. میزان تبخیر آب به طور روزانه با افزودن آب مقطر جبران شد. آزمایش‌ها در شرایط نیمه کنترل شده گلخانه تحت نور طبیعی انجام شد. حداقل و حداکثر دما در بهار و تابستان ۲۴ و ۳۶ درجه سانتی‌گراد بود. برای هر تیمار سه تکرار و محلول‌های غذایی هر پنج روز یک مرتبه تعویض شدند. درصد زنده ماندن گیاهان تحت تیمارهای مختلف با شمارش تعداد گیاهان زنده مانده انجام شد. فاکتور مورد استفاده در تعیین شروع مرگ گیاهان شامل وضعیت ظاهری گیاهان و شروع پژمردگی و خشک شدن گیاهان بود. همچنین به منظور اطمینان از شروع مرگ گیاهان، زنده بودن سلول‌های ریشه با استفاده از روش رنگ آمیزی با رنگ Evans blue (Mergemann and Sauter, 2000) تعیین گردید. برای این منظور، ریشه‌ها به طول حدود ۵ سانتی‌متر از رأس جدا شده و بلافاصله در محلول رنگ ایوانز بلو ۲٪ به مدت دو دقیقه قرار گرفتند. سپس با استفاده از محلول غذایی جهت جلوگیری از آسیب احتمالی به سلول‌ها بر اثر تغییر شدید فشار اسمزی، شستشو شدند. رنگ‌پذیری ریشه‌ها (که نشانه آسیب غشاء و مرگ سلولی است) با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شد.

در تیمار گیاهان با کلسیم و منیزیم، به ترتیب از نمک‌های نیترات کلسیم با غلظت‌های ۰/۲، ۱ و ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار و سولفات منیزیم با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار در یک طرح فاکتوریل استفاده شد. تیمار بر روی گیاهان یک ماهه انجام شد. تیمارهای مختلف کلسیم و منیزیم به مدت ۱۵۰ روز ادامه داشت و در این مدت گیاهانی که علائم واکنش به کلسیم و منیزیم را نشان دادند مورد آزمایش رنگ‌آمیزی با ایوانز بلو قرار گرفتند.

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و روش آماری One- way ANOVA و Two-way ANOVA انجام شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.6.4]

نتایج:

اثر غلظت ۰/۱ میلی‌مولار منیزیم در غلظت‌های کلسیم: در این بررسی درصد زنده ماندن گیاهان در فاصله زمانی ۲۵ روزه مورد بررسی قرار گرفت. تا ۲۵ روز پس از اعمال تیمارها همه گیاهان در همه تیمارها زنده ماندند و هیچ گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج نشان داد (شکل۱)، که در زمان ۵۰ روز با افزایش غلظت کلسیم از ۱ میلی‌مولار به ۲۰ میلی‌مولار درصد زنده ماندن به صفر کاهش یافت ($P\leq 0.05$). با افزایش غلظت کلسیم از ۱ میلی‌مولار به ۱۰ میلی‌مولار پس از ۷۵ روز کاهش در درصد زنده ماندن گیاهان مشاهده شد ($P\leq 0.05$). پس از ۱۲۵روز با افزایش غلظت کلسیم از ۰/۲ میلی‌مولار، کاهش در درصد زنده ماندن گیاهان مشاهده گردید ($P\leq 0.05$). در این تیمار تمامی گیاهان تنها در غلظت۰/۲ میلی مولار کلسیم به صورت صد درصد زنده ماندند.

اثر غلظت ۰/۵ میلی‌مولار منیزیم در غلظت‌های کلسیم: نتایج نشان داد (شکل۱)، که پس از ۵۰ روز در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار کلسیم کاهش معنی‌داری در درصد زنده ماندن مشاهده شد ($P\leq 0.05$). همچنین مشاهده شد که پس از ۱۲۵ روز با افزایش و یا کاهش غلظت کلسیم از ۱ میلی‌مولار درصد زنده ماندن کاهش یافته است ($P\leq 0.05$). در این تیمار تمامی گیاهان تنها در غلظت۱ میلی‌مولار کلسیم به صورت صد درصد زنده ماندند.

اثر غلظت ۵ میلی‌مولار منیزیم در غلظت‌های کلسیم: نتایج نشان داد ، که پس از ۵۰ روز در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار کلسیم کاهش معنی‌داری در درصد زنده ماندن مشاهده شد ($P\leq 0.05$). در همه تیمارها درصد زنده ماندن کاهش یافت و در هیچ تیماری گیاهان به صورت ۱۰۰٪ زنده نماندند. بنابراین، غلظت ۵ میلی‌مولار منیزیم برای گیاه سمی بوده و این سمیت با افزایش و یا کاهش غلظت کلسیم از ۱ میلی‌مولار بیشتر شده است (شکل۱).

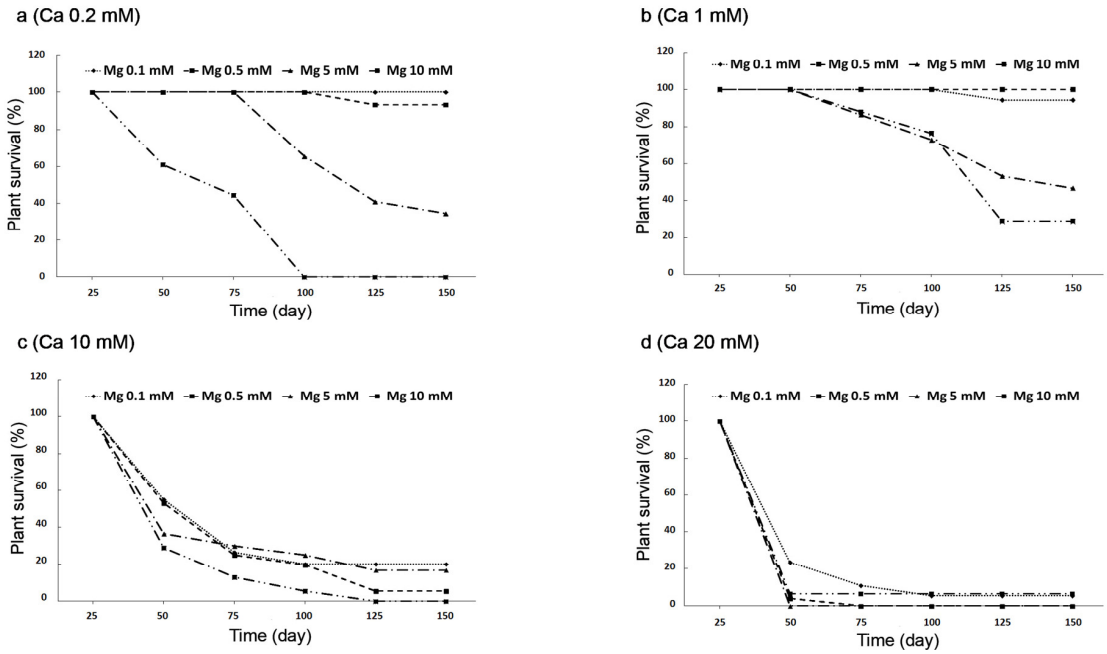
اثر غلظت ۱۰ میلی‌مولار منیزیم در غلظت‌های کلسیم: نتایج نشان داد (شکل۱)، که در زمان ۵۰ روز با افزایش کلسیم از ۱ میلی‌مولار کاهش معنی‌داری در درصد زنده ماندن مشاهده شد ($P\leq 0.05$) . در زمان ۷۵ روز با افزایش غلظت کلسیم از ۱ میلی‌مولار به ۲۰ میلی‌مولار درصد زنده ماندن از ۱۰۰٪ به ۶/۵٪ کاهش یافت ($P\leq 0.05$). پس از ۱۲۵ روز با افزایش و کاهش غلظت کلسیم از ۱ میلی‌مولار درصد زنده ماندن به صفر کاهش یافت ($P\leq 0.05$). در این تیمار همه گیاهان از بین رفتند و مشاهده شد که با افزایش و کاهش غلظت کلسیم از ۱ میلی‌مولار سمیت منیزیم بیشتر شده و باعث کاهش بیشتری در درصد زنده ماندن گیاهان می‌شود.

در تیمارهای مختلف تایید نتایج با رنگ‌آمیزی ریشه گیاهان با رنگ ایوانز بلو (Evans blue) نیز موید مرگ گیاهان در سطح سلولی بود چنانچه با شروع ظهور علایم مرگ گیاهان در بخش‌های هوایی (خشک شدن و پژمرده شدن بخش‌های هوایی) مرگ سلولی یا نفوذپذیر شدن غشاء پلاسمایی آنها نسبت به رنگ در سلول‌های ریشه کاملاً مشهود بود و بدین ترتیب نتایج حاصل از مشاهده وضعیت ظاهری گیاهان با این رنگ‌آمیزی در سطح سلولی کاملاً تایید شد.

اثرات همزمان کلسیم و منیزیم: در این بررسی مشاهده شد که در زمان ۵۰ روز و در غلظت‌های ۰/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار منیزیم با افزایش غلظت کلسیم بیشتر از ۱ میلی‌مولار کاهش معنی‌داری در درصد زنده ماندن مشاهده شد ($P\leq 0.05$). بنابراین در غلظت‌های بالای منیزیم و با افزایش غلظت کلسیم کاهش بیشتری در درصد زنده ماندن گیاه *A. inflatum* مشاهده شد. در زمان ۱۰۰ روز و در غلظت ۱۰ میلی‌مولار منیزیم با افزایش و کاهش غلظت کلسیم از ۱ میلی‌مولار درصد زنده ماندن گیاهان کاهش داشت ($P\leq 0.05$). در زمان ۱۲۵ روز و در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار منیزیم و در غلظت کلسیم ۰/۲ میلی‌مولار درصد زنده ماندن به ۹۳/۳٪ کاهش یافت ($P\leq 0.05$).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.6.4]



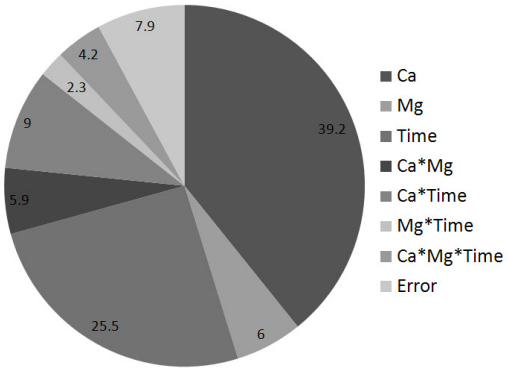
شکل۱- اثر کلسیم و منیزیم بر درصد زنده ماندن گیاه *Alyssum inflatum*. تیمارها در سه تکرار و هر تکرار مشتمل بر ۸-۶ گیاه است. کاهش زنده ماندن گیاهان در غلظت ۰/۲ میلی‌مولار کلسیم، در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار منیزیم پس از ۱۰۰ روز و در غلظت ۱ میلی‌مولار کلسیم، در غلظت ۱۰ میلی‌مولار منیزیم پس از ۱۲۵ روز بر اساس تست توکی معنی‌دار است ($P\leq 0.05$). کاهش در درصد زنده ماندن گیاهان در غلظت ۱۰ میلی‌مولار کلسیم در تمام غلظت‌های منیزیم پس از ۷۵ روز و در غلظت ۲۰ میلی‌مولار کلسیم در تمام غلظت‌های منیزیم پس از ۵۰ روز بر اساس تست توکی معنی‌دار است ($P\leq 0.05$).

در تیمار توأم کلسیم و منیزیم با استفاده از روش آماری Two- way ANOVA و ضریب مربع اتا (Eta squared coefficient) از بین عوامل بررسی شده که شامل غلظت کلسیم، غلظت منیزیم و زمان بود نتایج نشان داد (شکل۲)، که ۳۹/۲٪ تغییرات مشاهده شده در آزمایش مربوط به اثر عنصر کلسیم، ۶٪ مربوط به اثر عنصر منیزیم و ۲۵/۵٪ مربوط به عامل زمان است. از بین این عوامل، بیشترین عامل اثر گذار عنصر کلسیم بود و کم‌ترین درصد تغییرات مشاهده شده مربوط به عامل توأم منیزیم و زمان بود. اثر افزایش غلظت کلسیم و منیزیم در محیط همواره با افزایش مرگ گیاهان همراه بود و بنابراین افزایش غلظت منیزیم در محیط موجب کاهش اثرات کشنده کلسیم نشد.

بحث:

کلسیم از عناصر ضروری گیاهان محسوب می‌شود. علی رغم نقش‌های بسیار مهم کلسیم، توزیع سلولی آن به شدت تحت کنترل سلول بوده چنانچه توزیع نامناسب آن در سیتوپلاسم موجب مرگ سلول می‌شود. خاک‌های سرپنتین حاوی دامنه محدودی از غلظت‌های کلسیم هستند. بنابراین احتمالاً گیاهانی که به نحوی توانایی برقراری همئوستازی کلسیم را در غلظت‌های بالای کلسیم در خاک‌های معمولی ندارند و در صورتی که بتوانند بر شرایط نامساعد محیط خاک‌های سرپنتین غلبه کنند، بر روی این خاک‌ها مستقر خواهند شد. در بررسی‌های انجام شده در مطالعه حاضر مشخص شد که گیاه *Alyssum inflatum* به غلظت‌های بالای کلسیم حساس بوده و غلظت‌های بالای کلسیم باعث مرگ سلول‌های ریشه و به دنبال آن مرگ گیاه شده است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.6.4]



شکل۲- اثر عوامل کلسیم، منیزیم و زمان بر درصد زنده ماندن گیاه *Alyssum inflatum* مقادیر گزارش شده مقدار ضریب مربع اتا به صورت درصد است. تیمارها در سه تکرار و هر تکرار مشتمل بر ۸-۶ گیاه می‌باشد. از بین عوامل بررسی شده بیشترین درصد تغییرات مشاهده شده مربوط به اثر عنصر کلسیم می‌باشد. اثر همه عوامل معنی‌دار هستند($P\leq 0.05$).

بر این اساس می‌توان استدلال کرد که یکی از عوامل اندمیسم در این خاک‌ها غلظت کم کلسیم است به نحوی که گیاه حساس به کلسیم برای اجتناب از سمیت آن، در این خاک‌ها مستقر شده است. غلظت کلسیم در این خاک‌ها قبلاً توسط Ghasemi و Ghaderian (۲۰۰۹) مورد بررسی و آنالیز قرار گرفته و کم بودن آن نسبت به خاک‌های معمولی مورد تایید قرار گرفته بود.

پاسخ گیاه *Alyssum inflatum* به منیزیم: منیزیم در سلول‌های گیاهی نقش‌های ویژه‌ای در فعال سازی آنزیم‌های تنفسی، فتوسنتز، ساخت RNA و DNA به عهده دارد. همچنین بخشی از حلقه پورفیرین کلروفیل است و عمدتاً غلظت آن در گیاهان ۰/۲٪ وزن خشک گیاه می‌باشد (Candan and Tarhan, 2003; Kumar *et al*., 2006). اما در هر حال بالا بودن منیزیم در محیط کشت می‌تواند موجب بروز سمیت در گیاه شود. یکی از عوارض سمیت منیزیم در گیاهان بروز عوارض کمبود کلسیم است (Marschner, 1995) که علت آن نیز رقابت بین این دو عنصر در جذب و انتقال توسط گیاه است. یکی از فرضیات موجود در مورد نحوه سازش گیاهان سرپنتین، افزایش مقاومت در برابر غلظت‌های بالای منیزیم در محیط است که از طریق مقاومت در برابر جذب و یا قدرت بالای کلیت کردن آن در سلول‌ها انجام می‌شود (Brady *et al*., 2005; Kazakou *et al*., 2008; Tyndal and Hull, 1999).

در مطالعه حاضر مشخص شد که غلظت‌های بالای منیزیم برای گیاه *A. inflatum* کشنده می‌باشد. تست زنده بودن ریشه نیز مؤید مرگ سلول‌های ریشه بود. این نتیجه تناسب چندانی با برخی فرضیات مبنی بر مقاومت بالای گیاهان بومی سرپنتین به غلظت‌های بالای منیزیم ندارد. در بررسی خاک‌های سرپنتین زیستگاه گیاه Alyssum inflatum غلظت بالایی از منیزیم مشاهده شد اما در هر حال غلظت قابل تبادل منیزیم در این خاک‌ها که پتانسیل ایجاد سمیت برای گیاه را دارد چندان بالا گزارش نشده بود (Ghasemi and Ghaderian, 2009). بر این اساس، فرض مقاومت بالا به منیزیم نمی‌تواند برای همه گیاهان بومی سرپنتین مورد تایید واقع شود. با توجه به عدم سمیت غلظت‌های بکار رفته کلسیم و منیزیم برای گیاهان جنس *Alyssum* که بومی خاک‌های سرپنتین نیستند (زارع چاوشی، ۱۳۸۹)، مرگ سلولی مشاهده شده در این بررسی که به واسطه بالا بودن غلظت کاتیون‌های دو ظرفیتی کلسیم و منیزیم در محیط رخ داده است نشان دهنده این مطلب است که این گیاه در هر حال به غلظت بالای کاتیون‌های دو ظرفیتی حساسیت دارد. Ghasemi و Ghaderian (۲۰۰۹) دریافتند که افزایش منیزیم در محیط کشت باعث

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.6.4]

کاهش معنی‌دار غلظت کلسیم در بخش‌های هوایی می‌شود، که این امر نشان دهنده اثر رقابتی بین کلسیم و منیزیم در جذب توسط این گیاهان است. نتیجه این مطالعه نشان داد که بروز رقابت بین کلسیم و منیزیم در این گیاه نمی‌تواند نجات دهنده گیاه از مرگ باشد زیرا ورود منیزیم خود به جای کلسیم عامل بروز حساسیت دیگری در گیاه می‌شود. مکانیسم‌های مولکولی که می‌تواند در این زمینه نقش داشته باشد در ادامه مورد بحث قرار خواهد گرفت.

اثر نسبت Ca/Mg بر بقای گیاه *A. inflatum*: در این بررسی نسبت مولی Ca/Mg برابر۲ (۰/۱ / ۰/۲ و ۰/۵ / ۱) بهترین نسبت برای بقای گیاه *A. inflatum* در شرایط این آزمایشات بود ولی مشخص شد که این نسبت Ca/Mg (برابر ۲) مانند ۱۰ / ۲۰ و ۵ / ۱۰ نیز که در این آزمایش‌ها استفاده شدند باعث مرگ گیاه شدند. بنابراین نسبت Ca/Mg اهمیت ندارد بلکه برقرار بودن بر هم کنش‌های میان Mg و Ca برای حفظ هموستازی کلسیم در سلول در صورتی که غلظت کلسیم و منیزیم، هر دو پایین باشند، مهم می‌باشد.

فرآیندهای سلولی: در بررسی‌های سلولی و مولکولی برای تعیین دلایل اندمیسم گیاهان بومی سرپنتین، مهم‌ترین نظریات بر پایه عدم عملکرد و یا تغییر عملکرد عوامل برقراری هموستازی یونی در این گیاهان استوار است (Bradshaw, 2005; Kazakou *et al*., 2008). در مدل ارائه شده توسط Bradshaw (۲۰۰۵)، عدم عملکرد صحیح ترانسپورترهای مسئول برقراری هموستازی کلسیم در سلول‌ها (مانند CAX؛ یک آنتی‌پورتر کلسیم/یون هیدروژن که در تونوپلاست قرار دارد) عامل عدم توانایی گیاهان سرپنتین در بقا بر روی خاک‌های معمولی و اندمیسم آنها بر روی خاک‌های سرپنتین معرفی شده است. در این مدل با بررسی این آنتی‌پورتر در گیاه *A.thaliana* نتایج تایید شده‌ای مبنی بر ایجاد حساسیت به کلسیم در موتان‌های *cax1* بدست آمد (Bradshaw, 2005). آنتی‌پورترهای خانواده ژنی CAX طیف وسیعی از سوبستراها مانند سایر کاتیون‌های دو ظرفیتی را می‌توانند وارد واکوئول کنند و موتان‌های آنها موجب حساسیت به غلظت‌های معمول موجود در خاک‌های معمولی می‌شود (Cheng *et al*., 2003). نتایج به دست آمده در این مطالعه نیز نشان دهنده عدم توانایی این گیاهان در مقابله با غلظت‌های نسبتاً بالای دو کاتیون دو ظرفیتی کلسیم و منیزیم است (غلظت‌هایی که برای گیاهان غیر سرپنتین قابل تحمل است). بنابراین می‌توان با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه نیز به نوعی استدلال مشابه مبنی بر عدم توانایی این گیاهان در برقراری هموستازی یونی دست یافت. یکی از مهم‌ترین مسیرهای ورود کاتیون‌های دو ظرفیتی به سلول‌ها کانال‌های کاتیونی غیر انتخابی (NSCC) است (Demidchik *et al*., 2002). در مدل معرفی شده توسط Bradshaw (۲۰۰۵) همچنین عنوان شده است که عدم امکان برقراری توازن سیتوپلاسمی یون کلسیم موجب برهم خوردن تعادل عادی در عملکرد این کانال‌ها نیز می‌شود. بنابراین تعادل یونی در خاک‌های عادی برای سایر یون‌هایی که به طور معمول توسط این کانال‌ها وارد سلول می‌شود نیز به هم می‌خورد.

یکی از استدلال‌های مرتبط با تغییر عملکرد ترانسپورترهای یونی در گیاهان سرپنتین مربوط است به گیاهانی که توانایی بیش‌انباشت فلزاتی مانند نیکل را به دست آورده‌اند. با تغییرات ترادف آمینواسیدها در ترانسپورترها می‌توان در گرایش آنها نسبت به یون‌های دیگر تغییر ایجاد کرد (Kawachi *et al*., 2012). بر این اساس و با توجه به شواهدی که در زمینه مقاومت آنها در برابر نیکل وجود دارد (Ghasemi *et al*., 2009)، می‌توان استدلال کرد که گرایش حداقل برخی از ترانسپورترهای یون‌های دوظرفیتی مانند کلسیم و منیزیم برای انتقال نیکل و بروز مقاومت در این گیاهان تغییر کرده است. بنابراین در این گیاهان از قدرت و توانایی برقراری هموستازی کلسیم و منیزیم کاسته شده است و این کاهش توانایی به برقراری مقاومت در برابر نیکل اختصاص داده شده است. این فرضیه می‌تواند در آینده مورد آزمون قرار گیرد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.6.4]

سپاسگزاری:

نویسندگان از ریاست دانشگاه پیام نور، مراکز اصفهان و نجف آباد به خاطر فراهم کردن تسهیلات این پژوهش و حمایت مالی و اجرایی این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع:

زارع چاوشی، ز. (۱۳۸۹) بررسی پاسخ گیاه بومی سرپنتین *Alyssum inflatum* به کلسیم و منیزیم در محیط کشت. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور.

Asemaneh, T., Ghaderian, S. M. and Baker, A. J. M. (2007) Responses to Mg/Ca balance in an Iranian serpentine endemic plant, *Cleome heratensis* (Capparaceae) and a related non-serpentine species, *C. foliolosa*. Plant and Soil 293: 49-59.

Bradshaw, H. D. (2005) Mutations in CAX1 produce phenotypes characteristic of plants tolerant to serpentine soils. New Phytologist 167: 81-88.

Brady, K. U., Kruckeberg, A. R. and Bradshaw, H. D. (2005) Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. Annual Review in Ecology Evolution and Systematic 36: 243–266.

Brooks, R. R. (1987) Serpentine and Its Vegetation. Dioscorides Press, Portland.

Candan, N. and Tarhan, L. (2003) Relationship among chlorophyll-carotenoid content, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels by Mg^{2+} deficiency in the *Mentha pulegium* leaves. Plant Physiology and Biochemistry 41: 35-40.

Cheng, N. H., Pittman, J. K., Bronwyn, J. B., Shigaki, T. and Hirschi, K. D. (2003) The Arabidopsis cax1 mutant exhibits impaired ion homeostasis, development, and hormonal responses and reveals interplay among vacuolar transporters. The Plant Cell 15: 347-364.

Demidchik, V., Davenport, R. J. and Tester, M. (2002) Nonselective cation channels in plants. Annual Review of Plant Biology 53: 67-107.

Ghaderian, S. M., Mohtadi, A., Rahiminejad, R., Reeves, R. D. and Baker, A. J. M. (2007) Hyperaccumulation of nickel by two Alyssum species from the serpentine soils of Iran. Plant and Soil 293: 91-97.

Ghasemi, R. and Ghaderian, S. M. (2009) Responses of two population of an Iranian nickel-hyperaccumulating serpentine plant, *Alyssum inflatum* Nyar. to substrate Ca/Mg quotient and nickel. Environmental and Experimental Botany 67: 260-268.

Ghasemi, R., Ghaderian, S. M. and Kramer, U. (2009) Interference of nickel with copper and iron homeostasis contributes to metal toxicity symptoms in the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum inflatum.* New Phytologist 184: 566–580.

Jenny, H. (1980) The Soil Resource: Origin and Behaviour. Ecological Studies 37: 256-259.

Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P. G., Baker, A. J. M., Reeves, R. D. and Troumbis, A. Y. (2008) Hypothesis, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. Biological Reviews 83: 495–508.

Kawachi, M., Kobae, Y., Kogawa, S., Mimura, T., Krämer, U. and Maeshima, M. (2012) Amino acid screening based on structural modeling identifies critical residues for the function, ion selectivity and structure of Arabidopsis MTP1. The FEBS Journal 279: 2339-2356.

Kruckeberg, A. R. (1985) California serpentines: Flora, Vegetation, Geology, Soils, and Management Problems. Univercity California Press, Berkeley.

Kumar, R., Kumar, P. and Sharma, P. N. (2006) Magnesium deficiency induced oxidative stress and antioxidant responses in mulberry plants. Scientia Horticulturae 108: 7-14.

Loew, O. and May, D. W. (1901) The relation of lime and magnesia to plant growth. US Dep Agric Bur Plant Ind Bull 1: 1-53.

Marschner, H. (1995) Mineral nutrition in higher plants. Plant Cell and Environment 11:145-148.

Mergemann, H. and Sauter, M. (2000) Ethylene induces epidermal cell death at the site of adventitious root emergence in rice. Plant Physiology 124: 609-614.

Proctor, J. (1970) Magnessium as a toxic element. Nature 227: 742-43.

Rajakaruna, N., Siddiqi, M. Y., Whitton, J., Bohm, B. A. and Glass, A. D. M. (2003) Differential responses to Na^+/ K^+ and Ca^{2+} in Mg^{2+} in two edaphic races of the *Lasthenia californica* (Asteraceae) complex: A case for parallel evolution on physiological traits. New Phytologist 157: 93-103.

Tyndall, R. W. and Hull, J. C. (1999) Vegetation, flora, and plant physiological ecology of serpentine barrens of Eastern North America. In: Savannas, Barrens, and Rock Outcrop Plant Communities of North America (eds. Anderson, R. C., FraIish, J. S. and Baskin, J. M.) 67-82. Cambridge University press, Cambridge.

Vlamis, J. and Jenny, H. (1948) Calcium deficiency in serpentine soils as revealed by absorbent technique. Science 107: 549-51.

Walker, R. B., walker, H. M., Ashworth, P. R. (1955) Calcium-magnesium nutrition with special reference to serpentine soils. Plant Physiology 30: 214-21.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.6.4]