بررسی برهمکنش روی و مس بر تجمع عناصر، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و مالون دی‌آلدهید در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*)

صدیقه سلجوقی و منیره رنجبر*

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۹/۰۳)

چکیده

روی و مس از عناصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان هستند. این دو عنصر در غلظت‌های بالا به‌عنوان فلز سنگین عمل کرده و باعث تنش اکسیداتیو می‌شوند. هدف این تحقیق بررسی اثر این عناصر بر گیاه ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* از گیاهان مهم دارویی و غذایی است. دراین مطالعه بذرهای گیاه در گلدان‌های حاوی کوکوپیت و پرلیت کاشته و در مرحله چهار برگی تحت تیمار غلظت‌های صفر، ۳۵۰ و ۵۵۰ میکرومولار سولفات روی و صفر، ۲۰ و ٤٠ میکرومولار سولفات مس در سه تکرار قرار گرفتند. پس از یک ماه تیمار تجمع این عناصر میزان پرولین، قند محلول، پروتئین کل، رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان مالون دی‌آلدهید، تعداد و سطح برگ بررسی شد. نتایج نشان داد اثر سطوح مختلف غلظت‌های مس و روی بر درصد جوانه‌زنی، تعداد برگ و طول ساقه گیاه ریحان از نظر آماری معنی‌دار نبود. اما با افزایش توأم فلز روی و مس وزن تر و خشک ریشه و ساقه به‌ترتیب تا ۰/۵٤۰، ۰/۱۲۰، ۰/۱۸۲ و ۰/۱٦۰ گرم و سطح برگ گیاه تا ٦/۱۷۲ سانتیمتر مربع در تیمار ٤٠ میکرومولار سولفات مس بدون روی همچنین محتوی مالون دی‌آلدهید (۰/۱۸۷ میکرومول بر گرم) و پرولین در غلظت ۵۵۰ میکرومولار روی همراه با هر دو غلظت مس، میزان قند محلول، پروتئین کل در غلظت ۵۵۰ میکرومولار روی همراه با ٤٠ میکرومولار مس افزایش یافت. تیمار مس و روی از نظر آماری بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز تأثیر معنی‌داری نداشت. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در غلظت‌های بالای روی و مس کاهش یافت به طوریکه میزان کلروفیل کل به ۹/۷۹ میلی‌گرم بر گرم رسید. با افزایش غلظت مس و روی در محیط تجمع این عناصر در ریشه و ساقه افزایش یافت. البته تجمع در ریشه در مقایسه با اندام هوایی بیشتر بود. افزایش سطوح بالای روی و مس در محیط باعث کاهش میزان تجمع مس در ساقه و ریشه و روی در ساقه گردید که تأییدکننده وجود برهمکنش بین دو عنصر است. افزایش هر یک از این دو عنصر در محدوده غلظت‌های ذکرشده تأثیر نامطلوب بر این گیاه ندارد اما بر همکنش آنها می‌تواند تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه داشته باشد. بر این اساس غلظت بهینه این دو عنصر در گیاه ریحان ۳۵۰ میکرومولار همراه با دو غلظت مس به‌نظر می‌رسد.

کلید واژه: پروتئین کل، پرولین، ریحان، قند محلول، کلروفیل، مالون دی‌آلدهید

مقدمه

امروزه آلاینده‌های زیادی به اشکال مختلف وارد محیط می‌گردند و آثار زیان‌باری بر پدیده‌های گوناگون زیستی بر جای می‌گذارند. آلودگی محیط‌زیست از مهم‌ترین مشکلات

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ranjbar@iaufala.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

جوامع بشری محسوب می‌شود که سلامتی و رفاه انسان را به خطر انداخته است. در بین آلاینده‌های زیست محیطی، فلزات سنگین حائز اهمیت هستند و یک خطر جدی برای محیط زیست محسوب می‌شوند (Brigezu *et al.*, 1999). فلزات سنگین در گیاهان باعث اختلالات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی، کاهش رشد و بیوماس گیاه، کاهش محتوای کلروفیلی، ایجاد کلروز در گیاهان، آسیب‌رساندن به ساختار غشاء، اثر بر ناحیه سطح تیلاکوئیدها، مختل‌شدن فعالیت آنزیم‌های زنجیره انتقال الکترون، کاهش تولید پروتئین‌ها، افزایش آمینواسیدهای آزاد، کاهش میزان جوانه‌زنی بذر و بازدارندگی فعالیت تولیدمثلی گیاه می‌شوند (Sharma and Dubey, 2005). گیاهان موجود در خاک‌های حاوی فلز قادر به جلوگیری از جذب فلز به‌طور کامل نیستند (هر چند جذب فلزات کنترل و محدود شده است) و فلزات در مقادیر متفاوتی در بافت‌های گیاهان تجمع می‌یابند. در این حال گونه‌های مختلف گیاهی از نظر جذب فلز با یکدیگر تفاوت دارند و برای هر گونه نیز جذب با توجه به نوع آن متفاوت است (Baker, 1987). تحقیقات نشان داده که تغذیه بهینه عناصر کم‌مصرف نقش مهمی در تشکیل ترکیبات شیمیایی فعال موجود در گیاهان دارد. مس و روی عناصر کم‌مصرف ضروری برای رشد گیاهان هستند که در غلظت‌های پایین رشد گیاه را افزایش داده اما در غلظت‌های بالا برای گیاه سمی است (Sheng, 2007). مس در گیاهان به‌عنوان کوفاکتور در پلاستوسیانین، سوپراکسید دیسموتاز، سیتوکروم c اکسیداز، گیرنده‌های اتیلن، اکسیدازهای آپوپلاستی از قبیل آسکوربات اکسیداز، دی‌آمین اکسیداز عمل می‌کند (Fargo, 1994). در غلظت‌های بالا مس با ممانعت از جذب سایر عناصر به‌ویژه آهن، پتاسیم و کلسیم که جزء عناصر غذایی ضروری محسوب می‌شوند از رشد گیاه می‌کاهد. ریشه در مقایسه با اندام هوایی حساسیت بیشتری به یون‌های مس دارد که شاید به‌علت تجمع بیشتر این یون در ریشه در مقایسه با بخش هوایی باشد (Malkova *et al.*, 2002). فلز روی نیز به‌عنوان فعال‌کننده و کوفاکتور برخی آنزیم‌های مهم گیاه از جمله کربنیک انیدرازها، دهیدروژنازها، آلکالین فسفاتازها، فسفولیپازها و RNA پلیمرازها در متابولیسم پروتئین‌ها، قندها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها، فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اکسین، به‌عنوان یک هورمون محرک رشد، ایفای نقش می‌کند (Rion and Alloway, 2004). کمبود روی باعث کاهش ۷۰- ۵۰ درصد فتوسنتز خالص، کاهش محتوای کلروفیل، ساختمان غیرنرمال کلروفیل، کاهش تعداد کلروپلاست غلاف آوندی، کاهش وزن پروتئین، تراوایی غشاهای زنده و افزایش محتوای فسفر غیرآلی می‌شود (Devlin and Witham, 2002). محدوده طبیعی مس و روی در بخش هوایی گیاهان به‌ترتیب ۵ تا ۲۰ و ۲۰ تا ٤۰۰ میکروگرم در گرم ماده خشک گیاهی است. به‌نظر می‌رسد که غلظت‌های بیشتر از حد کفایت مس و روی در بافت‌های گیاهی به‌عنوان یک فلز سنگین علاوه بر به خطر انداختن سلامت انسان و موجودات استفاده‌کننده از این گیاهان، از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد سمی و القای تنش اکسیداتیو می‌توانند عاملی برای بازدارندگی رشد و ایجاد علائم سمیت در گیاه گردند (Alloway, 2013). مس و روی در سطوح کم تأثیر مثبت بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه دارد. با توجه به غلظت کم این عناصر در خاک مورد مطالعه، استفاده از این عناصر به‌دلیل فراهم‌نمودن عناصر غذایی مورد نیاز رشد، ایجاد تعادل در تغذیه گیاه و اثر مثبت این عناصر بر جذب و انتقال سایر عناصر غذایی کم‌مصرف و پرمصرف باعث افزایش سطح برگ، طول ریشه و افزایش فتوسنتز و تنفس، فعال‌سازی آنزیم‌های دخیل در متابولیسم گیاه باعث افزایش وزن خشک ریشه و بخش هوایی می‌گردد. در رابطه با اثر منفی این عناصر در سطوح زیاد نیز باید عنوان کرد که این عناصر در سطوح زیاد به‌عنوان یک فلز سنگین سمی شناخته می‌شوند. در گزارش‌های متعدد اثرهای منفی سطوح زیاد این عناصر بر گیاهان مختلف بررسی و گزارش گردیده است (عسگری لجایر و همکاران، ۱۳۹٤). برخی از محققان معتقدند که فلز روی در غلظت‌های محدوده کفایت از طریق محافظت پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی در برابر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

رادیکال‌های آزاد و سایر محصولات حاصل از واکنش‌های احیایی درون سلولی سبب حفظ تمامیت غشای سلول‌ها می شود. به‌علاوه این فلز به‌همراه مس بخش اصلی آنزیم سوپراکسید دسموتاز را به‌عنوان جاروب‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد تشکیل می‌دهند (Jayanthi *et al.*, 2015). ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاه مهم خوراکی، دارویی، یک‌ساله و دارای عطر و بوی مطلوبی است (Labra *et al.*, 2004). این گیاه یکی از سبزی‌های خوراکی اکثر مردم کشور است. علاوه بر بخش‌های هوایی، بذر این گیاه نیز خاصیت درمانی داشته و به‌عنوان یک نوشیدنی سالم همراه آب مصرف می‌شود. با توجه به مصرف مداوم این گیاه در ایران و کشت وسیع آن در نقاط مختلف کشور در انواع مختلفی از خاک با میزان مواد معدنی متفاوت، در این پژوهش سعی شده تا تأثیر خاک‌های کشاورزی دارای آلودگی مس و روی بـر تغییر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید)، میزان پرولین، پروتئین، قندهای محلول، مالون دی‌آلدهید، طول، وزن تر و خشک گیاه، سطح و تعداد برگ، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز و میزان تجمع مس و روی در بخش هوایی و ریشه گیاه ریحان بررسی شود تا میزان تأثیرپذیری این گیاه در شرایط وجود روی و مس در غلظت‌های نسبتاً بالا به‌دست آید.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و در گلدان‌هایی با قطر ۲۰ سانتیمتر حاوی کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی کاشته شد. گلدان‌ها در دمای محیط ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه آزاد واحد فلاورجان نگه‌داری شدند. گلدان‌های حاوی بذر هر روز در سه نوبت با آب‌مقطر آبیاری شدند. با مشاهده جوانه‌ها علاوه بر آب‌مقطر روزانه یک مرتبه محلول‌پاشی هوگلند صورت گرفت. با رشد گیاه و رسیدن به مرحله دو برگچه‌ای گلدان‌ها به گروه‌های سه‌تایی (هر تیمار سه تکرار) تقسیم شدند. پس از یک هفته تیمار با محلول‌های سولفات روی با غلظت‌های صفر، ۳۵۰ و ۵۵۰ میکرومولار، سولفات مس با غلظت‌های صفر، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار و تیمارهای توأم (۳۵۰ میکرومولار روی همراه ۲۰ و ۴۰ میکرومولار مس و ۵۵۰ میکرومولار روی همراه با ۲۰ و ۴۰ میکرومولار مس) به صورت محلول‌پاشی آغاز گردید و به‌مدت یک ماه به‌صورت یک روز در میان ادامه یافت. در روزهای دیگر محلول‌پاشی هوگلند به همراه شستشوی بستر کشت با آب‌مقطر انجام شد. این غلظت‌ها با توجه به مطالعات آزمایشگاهی که قبلاً زارع ده‌آبادی و همکاران (۱۳۸۶) بر روی گیاه نعنا و خاوری‌نژاد و همکاران (۱۳۹۰) بر روی لوبیا تحت استرس فلزات روی و مس انجام داده بودند، انتخاب شد. بعد از یک ماه تیمار گیاهان را از درون گلدان‌ها بیرون آورده و بخش هوایی و ریشه آنها جدا و به‌منظور انجام مراحل بعدی استفاده گردید.

اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه: پس از اتمام تیماردهی به‌طور تصادفی از هر گلدان ۲۰ گیاه از حدود ۱۰۰ گیاه موجود را انتخاب کرده و طول آنها اندازه‌گیری شد. میانگین طول گزارش گردید.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه: به‌طور تصادفی ۲۰ گیاه از هر گلدان بر داشته سپس بخش هوایی از بخش زیرزمینی جدا گردید. برای تعیین وزن تر، بخش‌های هوایی جداشده وزن گردید. پس از تعیین وزن تر گیاهان را داخل فویل گذاشته و داخل آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ساعت قرار گرفت پس از خشک‌شدن وزن آنها اندازه‌گیری شد (وحدتی و همکاران، ۱۳۸۹).

اندازه‌گیری تعداد و سطح برگ: تعداد ۲۰ گیاه از هر گلدان جهت بررسی تعداد و سطح برگ مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری سطح برگ سوم و چهارم با دستگاه سنجش سطح برگ (کمپانی آمریکایی CID مدل CI202) انجام شد (مالکی و کریمی، ۱۳۹۲).

اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه: برای تعیین میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید از روش (Lichtenthaler and Welburn, 1994) استفاده گردید.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر برگ هر کدام از تکرارها وزن شد. ساییدن برگ با استون ۸۰٪ تدریجی و تا حصول یک محلول سبز رنگ ادامه یافت. پس از صاف‌کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی جذب محلول بوسیله اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ٦٦٣، ٦٤٦ و ٤٧٠ نانومتر ثبت گردید و در نهایت به‌منظور محاسبه میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید فرمول‌های زیر بر حسب میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد.

کلروفیل a = $(A_{٦٦٣} \times ١٢/٢٥) - (A_{٦٤٦} \times ٢/٧٩)$

کلروفیل b = $(A_{٦٦٣} \times ٥/١) - (A_{٦٤٦} \times ٢١/٥٠)$

کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیل b

کاروتنوئید = $(١٠٠٠ \times A_{٤٧٠} - ١/٨٢ \times Chla - ٨٥/٠٢ \times Chlb)/١٩٨$

A جذب در طول موج‌های مربوطه است.

سنجش میزان مالون دی‌آلدهید گیاه: برای اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد ساییده شد. محلول همگن‌شده به‌مدت ۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی، ٤ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد، حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیوتیک اسید، افزوده شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب‌گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس بلافاصله در یخ خردشده سرد گردید. دوباره مخلوط سردشده به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و شدت جذب نور در طول‌موج ۵۲۳ نانومتر خوانده شد. میزان مالون دی‌آلدهید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر تعیین گردید (Heath and Parcher, 1968).

سنجش میزان پرولین: جهت اندازه‌گیری پرولین ابتدا بخش هوایی گیاه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤٨ ساعت خشک گردید. سپس به ۰/۱ گرم بافت ساییده‌شده ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالسیلیک اسید اضافه گردید و پس از ٤٨ صاف شدند. جهت استخراج پرولین به ۱ میلی‌لیتر از محلول ۱ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۱ میلی‌لیتر استیک اسید اضافه شد. به‌مدت یک ساعت در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا زمانیکه رنگ آجری تولید شود، تثبیت گردید. بلافاصله در آب یخ قرار داده شدند تا واکنش‌ها سریعاً متوقف شوند. به هر لوله ۲ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد. از دو فاز تشکیل‌شده، جذب محلول قرمز بالایی در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد (Al-khayri *et al*., 2004).

سنجش قند محلول: برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش فنل سولفوریک اسید استفاده گردید که مبتنی بر هیدرولیز اسیدی قندهای محلول و ایجاد ترکیب فورفورال است که با فنل تولید کمپلکس رنگی می‌کند. در این روش ۰/۱ گرم نمونه با الکل ۷۰ درصد به حجم ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد و پس از یک هفته نگهداری در یخچال ۲ میلی‌لیتر از نمونه با ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد به‌خوبی مخلوط شد. سپس ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ به آن افزوده نیم ساعت بعد جذب محلول‌ها در طول‌موج ٤٨٥ نانومتر خوانده شد (Al-khayri *et al*., 2004).

سنجش پروتئین کل: اندازه‌گیری پروتئین با استفاده از روش برادفورد (١٩٧٦) انجام شد. در این روش برای تعیین مقادیر پروتئین از منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های معین پروتئین استفاده می‌گردد. برای استخراج عصاره پروتئینی ۰/۰۵ گرم از ماده خشک گیاهی وزن گردید و ٤ میلی‌لیتر از بافر تریس کلریدریک اسید به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها روی شیکر به‌مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردیدند. سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردیدند و فاز بالایی که حاوی پروتئین کل است، جدا گردید. برای اندازه‌گیری پروتئین به روش برادفورد به ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی از هر نمونه ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد اضافه شد و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردیده و سپس جذب در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر یادداشت گردید (Al-khayri *et al*., 2004).

سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز: استخراج عصاره گیاهی برای تعیین فعالیت آنزیم‌ها با استفاده از روش (Kar and Mishra, 1976) انجام شد. ابتدا ۰/۱ گرم از اندام‌های هوایی گیاه به‌مدت یک روز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد گردید. سپس ۰/۱ گرم بافت منجمد به همراه ۲ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات در هاون چینی ساییده و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

داخل اپندورف ریخته و توسط سانتریوفیوژ به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰ در دقیقه قرار گرفت. پس از اتمام کار محلول رویی برای سنجش آنزیم به‌کار رفت.

سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده از روش (وحدتی و همکاران، ۱۳۸۹) انجام شد. ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از محلول رویی عصاره برداشته و به لوله آزمایش منتقل گردید. ۲/۸ میلی‌لیتر از بافر پتاسیم فسفات به عصاره اضافه و بلافاصله ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳٪ اضافه گردید و جذب محلول به‌وسیله اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر ثبت گردید. فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین عصاره تعیین شد. محلول بلانک شامل کلیه محلول‌ها بجز عصاره آنزیمی بود.

سنجش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش (Kar and Mishra, 1976) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۷/۲ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار با (pH = ۸/٦)، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه (٤۰ میلی‌مولار) بود.

محلول بلانک حاوی ۷/۲ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار با (pH = ۸/٦)، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول (۲۰ میلی‌مولار) بود. افزایش جذب نور در طول‌موج ٤۷۰ نانومتر بعد از اضافه‌کردن آب‌اکسیژنه به مخلوط واکنش اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب به نسبت میلی‌گرم پروتئین عصاره بیان گردید.

اندازه‌گیری غلظت روی و مس در گیاهان: برای اندازه‌گیری غلظت روی و مس گیاهان از روش متداول استفاده شد. به این ترتیب که گیاهان به قطعات کوچک تقسیم شده و دو مرتبه با آب دیونیزه شسته شدند سپس نمونه‌ها برای ۲٤ ساعت در آون خشک شدند. از هر نمونه ۱/۲ گرم در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد سپس ۲۵ میلی‌لیتر از نیتریک اسید ٦۵٪ به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها قبل از گرمادادن به‌مدت یک شب در اسید قرار داده شدند. هضم با ظروف در باز در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت تا زمانی که محتوای مایع ظروف بخار و تقریباً خشک شد. سپس ۵ میلی‌لیتر از هیدروژن پراکسید ۳۰٪ برای تکمیل هضم به ارلن‌ها اضافه شد و مجدداً تا بخارشدن مایع حرارت دید. سپس دیواره ارلن‌ها با آب دیونیزه شسته شد و مخلوط تا جوشیدن حرارت دید. محتوای ظروف بعد از خنک‌شدن به ظروف استاندارد ۲۵ میلی‌لیتری منتقل و با آب دیونیزه به حجم رسانده شد. برای تعیین میزان این دو فلز از دستگاه جذب اتمی از Perkin-Elmer مدل ۲۳۸۰ استفاده شد (Sekabira *et al.*, 2011).

آزمایش‌ها در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. آنالیز داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس دو طرفه در سطح احتمال خطا ($P<۰/۰۵$) با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۹ انجام شد. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید.

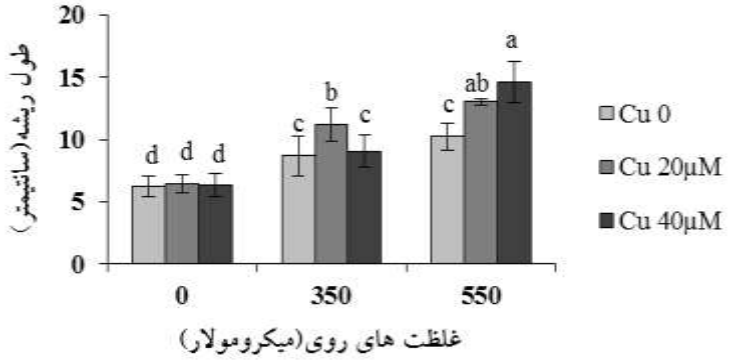
نتایج

اثر غلظت‌های مختلف روی و مس بر طول ریشه و ساقه: تحت تأثیر تیمارهای مختلف مس و روی میزان رشد طولی در ریشه گیاه در غلظت‌های بالا افزایش یافته است. این افزایش در تیمارهای۵۵۰ میکرومولار روی و غلظت ٤۰ مس در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود (شکل ۱). نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول ساقه بیانگر این است که تفاوت طول ساقه گیاه ریحان در تیمارهای توأم روی و مس در کلیه غلظت‌ها همچنین در تیمارهای روی و مس به‌تنهایی در سطح ۵٪ معنی‌دار نبوده است.

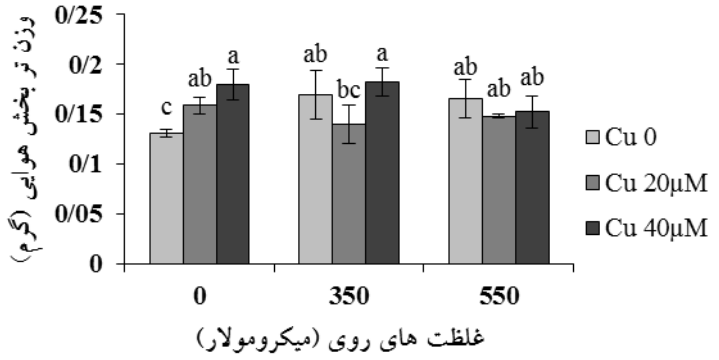
تأثیر غلظت‌های مختلف روی و مس بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه: اندازه‌گیری وزن تر و خشک گیاهان تیمارشده با غلظت‌های صفر، ۳۵۰ و ۵۵۰ میکرومولار سولفات روی همراه با غلظت‌های صفر، ۲۰ و ٤۰ میکرومولار سولفات مس در مقایسه با شاهد نشان داد اعمال تیمارهای فوق باعث افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه و ساقه در سطح احتمال ۵ درصد شده است. به طوریکه وزن تر ساقه در کلیه غلظت‌ها چه در تیمارهای مجزا و چه در تیمارهای توأم روی و مس نسبت به گیاهان شاهد افزایش داشت (شکل ۲). وزن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

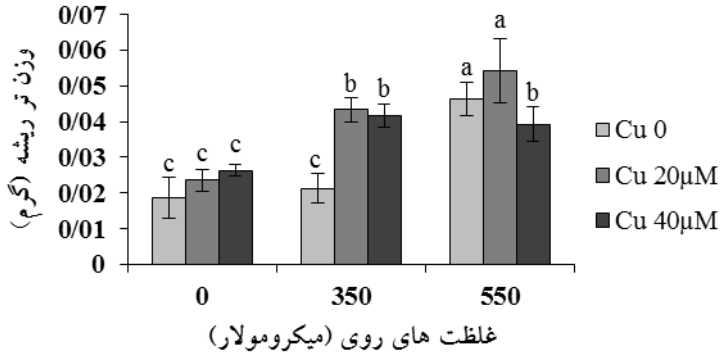
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]



شکل ۱- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر روی طول ریشه گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.



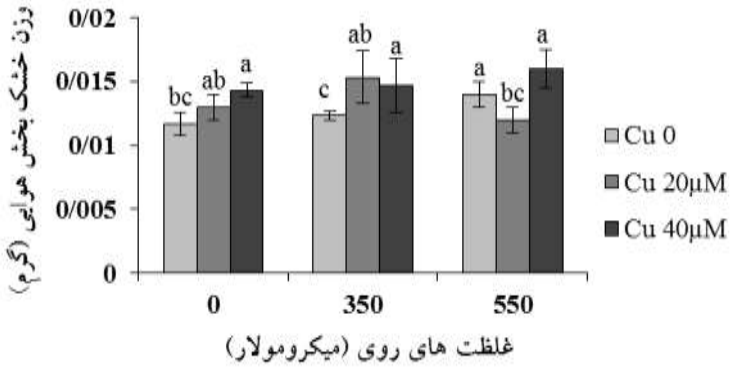
شکل ۲- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر وزن تر بخش هوایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.



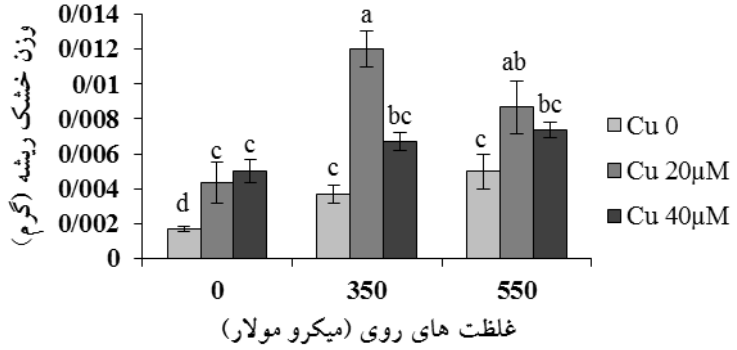
شکل ۳- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر وزن تر ریشه گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.

تر ریشه گیاهان تیمارشده با ۵۵۰ میکرومولار روی بدون مس و غلظت ۲۰ میکرومولار مس بیشترین میزان را داشت. استفاده از مس بدون روی تأثیری بر وزن تر ریشه نداشته و با گیاهان شاهد تفاوتی دیده نشد (شکل ۳). وزن خشک ساقه در غلظت ٤۰ میکرومولار مس بدون روی و با هر دو غلظت روی بیشترین میزان را داشت (شکل ٤). وزن خشک ریشه در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش داشت. در ۳۵۰ میکرومولار روی و غلظت ۲۰ میکرومولار مس (شکل ۵) بیشترین وزن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]



شکل ٤- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر وزن خشک بخش هوایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.



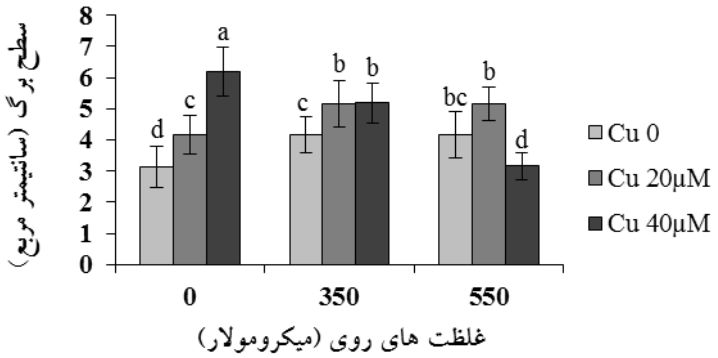
شکل ٥- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر وزن خشک ریشه گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.

خشک ریشه نسبت به سایر گروه‌ها دیده شد.

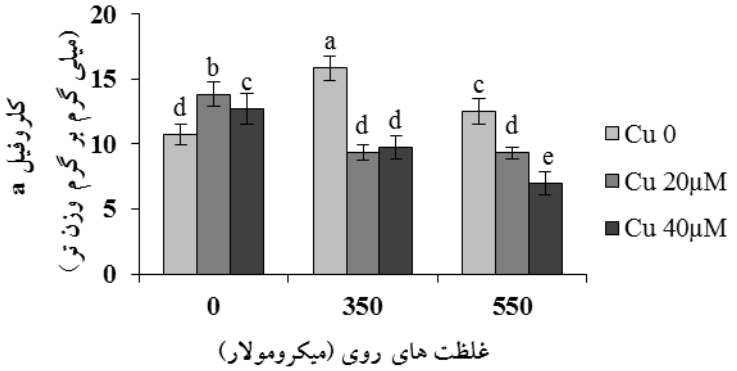
تأثیر برهمکنش غلظت‌های مختلف روی و مس بر سطح و تعداد برگ: براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مشخص شد که میزان سطح برگ گیاه تحت تأثیر تیمارهای مختلف مس بدون حضور روی افزایش یافته است. این افزایش در تیمارهای٤٠ میکرومولار مس بیشتر بود. براساس همین شکل به‌کارگیری روی با غلظت ۳٥٠ میکرومولار در هر دو غلظت مس نسبت به مس صفر، سطح برگ را افزایش داده است. در غلظت‌های ٥٥٠ میکرومولار روی و غلظت ٤٠ میکرومولار مس سطح برگ مشابه گیاهان شاهد بود (شکل ٦). نتایج حاصل از اندازه‌گیری تعداد برگ نشان داد که تفاوت تعداد برگ گیاه ریحان در سطح ٥٪ معنی‌دار نبوده است.

برهمکنش غلظت‌های مختلف روی و مس بر میزان رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید: نتایج حاصل از سنجش رنگیزه‌ها در گیاهان تیمارشده با غلظت‌های مختلف مس و روی و مقایسه آن با نمونه شاهد نشان داد تیمارهای توأم مس و روی سبب تغییر معنی‌دار میزان کلروفیل a (شکل ۷)، کلروفیل b (شکل ۸)، کلروفیل کل (شکل ۹) و کاروتنوئید (شکل ۱۰) گیاهان شد. به طوریکه کلروفیل a در غلظت ۳٥٠ میکرومولار سولفات روی بیشترین افزایش را نشان داد که به تدریج در غلظت ٥٥٠ سولفات روی به همراه مس کاهش یافت. کمترین میزان کلروفیل در تیمار توأم سولفات روی ٥٥٠ میکرومولار و ٤٠ میکرومولار سولفات مس اندازه‌گیری شد. تیمارهای سولفات روی ۳٥٠ میکرومولار همراه با ۲٠ و ٤٠ میکرومولار سولفات مس از نظر میزان کلروفیل a تفاوت آماری با گیاهان شاهد نداشتند. کمترین میزان کلروفیل b

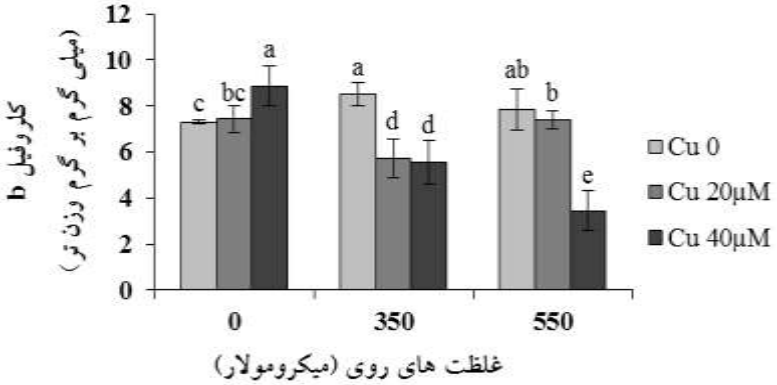
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]



شکل ٦- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر سطح برگ گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.



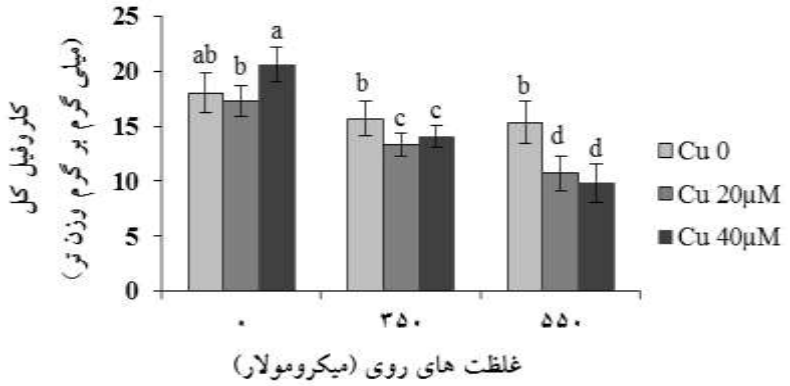
شکل ۷- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان کلروفیل a گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.



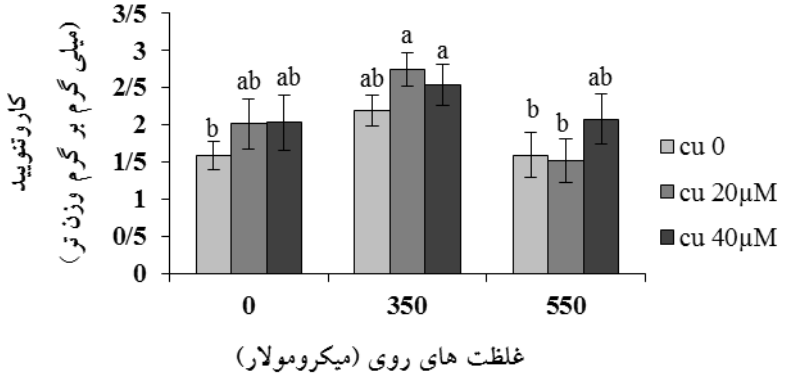
شکل ۸- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان کلروفیل b گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.

(۳/٤٥ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار سولفات مس ٤۰ میکرومولا و سولفات روی ۵۵۰ میکرومولار دیده شد. میزان کلروفیل b در سولفات روی ۳۵۰ میکرومولار همراه با ۲۰ و ٤۰ میکرومولار سولفات مس همچنین در سولفات روی ۵۵۰ میکرومولار و سولفات مس ٤۰ میکرومولار نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت. کلروفیل کل در کلیه تیمارهای توأم نسبت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]



شکل ۹- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان کلروفیل کل گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.



شکل ۱۰- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان کاروتنوئید گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.

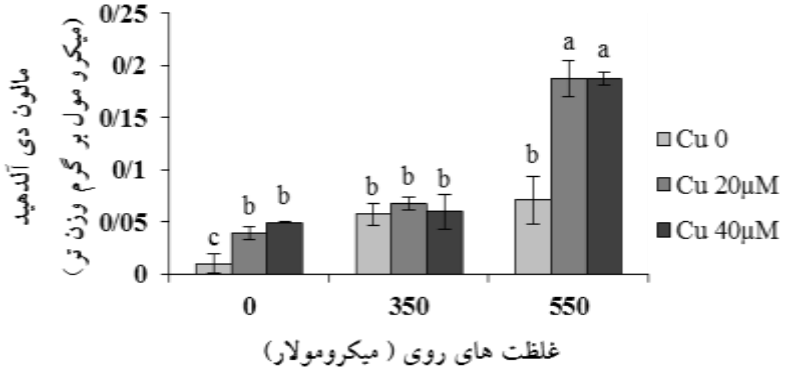
به شاهد کاهش داشت. سایر تیمارها از نظر کلروفیل کل تفاوت آماری با شاهد نداشتند. تیمارهای به‌کار رفته تأثیر چندانی بر میزان کاروتنویید گیاهان نداشته است. به‌طوریکه فقط در تیمارهای سولفات روی ۳۵۰ میکرومولار با سولفات مس ۲۰ و ۴۰ میکرومولار میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد افزایش داشت. سایر تیمارها تفاوتی با شاهد نداشتند.

برهمکنش غلظت‌های مختلف روی و مس بر میزان مالون دی‌آلدهید: همانطور که در شکل ۱۱ ملاحظه می‌گردد محتوی مالون دی‌آلدهید در بخش هوایی گیاه ریحان تحت اثر غلظت‌های مختلف روی و مس دارای روند افزایشی است که این افزایش در غلظت ۵۵۰ میکرومولار سولفات روی به همراه غلظت ۲۰ و ۴۰ میکرومولار سولفات مس بیشترین میزان را نشان می‌دهد. میزان مالون دی‌آلدهید در سایر تیمارها نسبت به گیاهان شاهد بالاتر است ولی کمتر از میزان آن در دو گروه تیمارهای ذکر شده است.

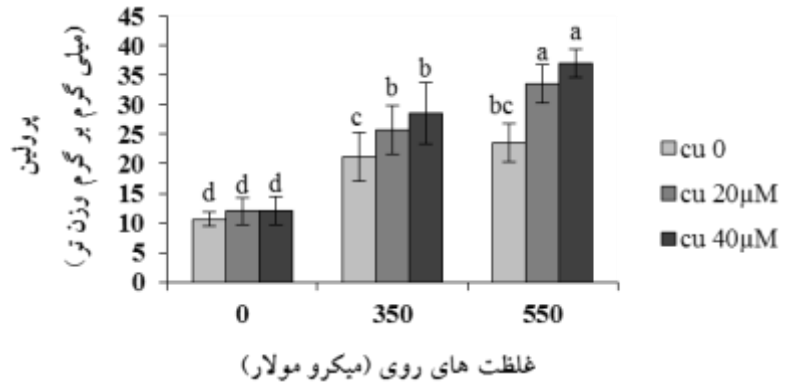
تأثیر غلظت‌های مختلف روی و مس بر میزان پرولین: براساس شکل ۱۲، تیمار با غلظت ۳۵۰ و ۵۵۰ میکرومولار سولفات روی همراه با ۲۰ و ۴۰ میکرومولار سولفات مس باعث افزایش پرولین در گیاهان نسبت به گروه شاهد شده است. استفاده از غلظت‌های مس بدون تیمار روی تأثیری بر میزان پرولین گیاهان نداشته و تفاوت آماری با گیاهان شاهد ندارند. سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با شاهد داشتند ولی میزان پرولین آنها کمتر از گیاهان تیمارشده با غلظت‌های ۳۵۰ و ۵۵۰ میکرومولار سولفات روی به‌همراه ۲۰ و ۴۰ میکرومولار سولفات مس بود.

تأثیر غلظت‌های مختلف روی و مس بر میزان قندهای

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]



شکل ۱۱- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان مالون دی‌آلدهید گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.



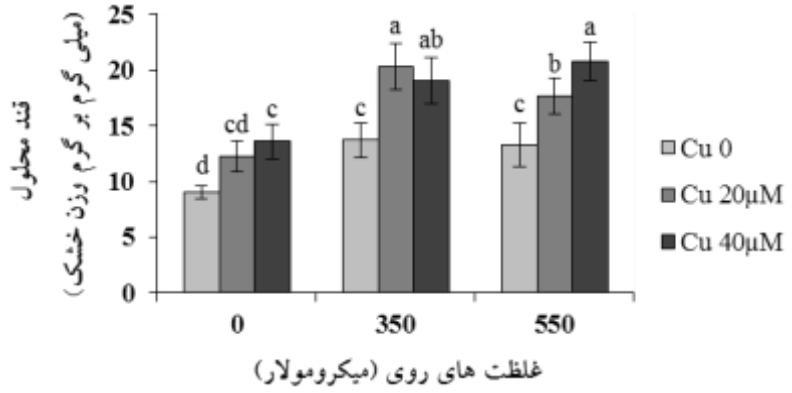
شکل ۱۲- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان پرولین گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.

محلول: تأثیر تیمارهای سولفات روی و مس بر قندهای محلول در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. تیمار همزمان سولفات مس و روی باعث افزایش میزان قندهای محلول در بخش‌های هوایی شده است. به طوریکه میزان قندهای محلول در تیمار۵۵۰ میکرومولار روی همراه با ۲۰ و ۴۰ میکرومولار مس به‌ترتیب ۱۷/۷۱ و ۲۰/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در غظت‌های ۳۵۰ میکرومولار روی همراه با دو غلظت ۲۰ و ۴۰ میکرومولار مس به‌ترتیب ۲۰/۳۲ و ۱۹/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. در حالیکه این میزان در گیاهان شاهد ۹/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. تیمار گیاهان با سولفات مس یا سولفات روی قندهای محلول را نسبت به گیاهان شاهد افزایش داده است ولی میزان آن از تیمار توأم آنها کمتر است (شکل ۱۳).

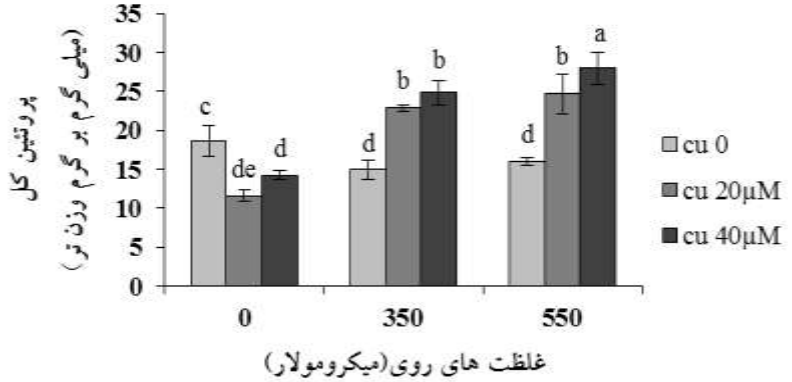
برهمکنش غلظت‌های مختلف روی و مس بر میزان پروتئین کل: شکل ۱۴ نشان می‌دهد که در تیمارهای توأم، میزان پروتئین کل بخش هوایی گیاه نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافته است. افزایش در غلظت ۵۵۰ میکرومولار سولفات روی همراه با ۴۰ میکرومولار سولفات مس بارزتر است. میزان پروتئین در دو تیمار روی (۳۵۰ و۵۵۰ میکرومولار) به تنهایی تفاوتی با یکدیگر نداشتند. نتیجه مشابهی در مورد دو غلظت مس (۲۰ و ۴۰ میکرومولار) به تنهایی دیده شد.

اثر غلظت‌های مختلف روی و مس بر میزان غلظت روی در بخش هوایی و ریشه گیاه: براساس شکل ۱۵ در غلظت ۵۵۰ سولفات روی و غلظت ۴۰ سولفات مس، بیشترین تجمع روی در بخش هوایی مشاهده می‌شود. استفاده از تیمارهای

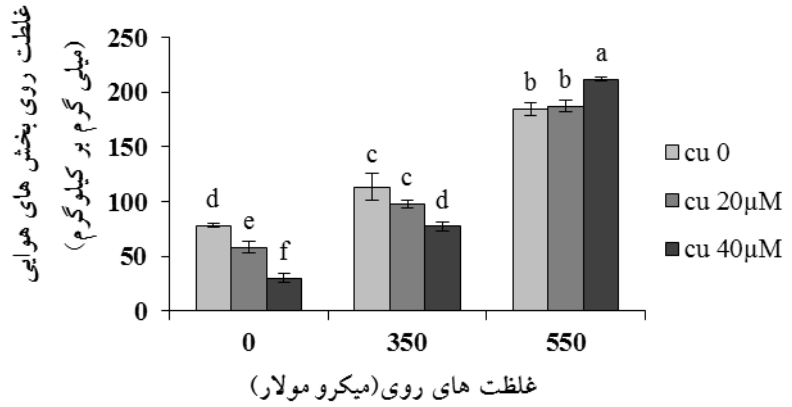
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]



شکل ۱۳- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان قندهای محلول بخش هوایی **گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.**



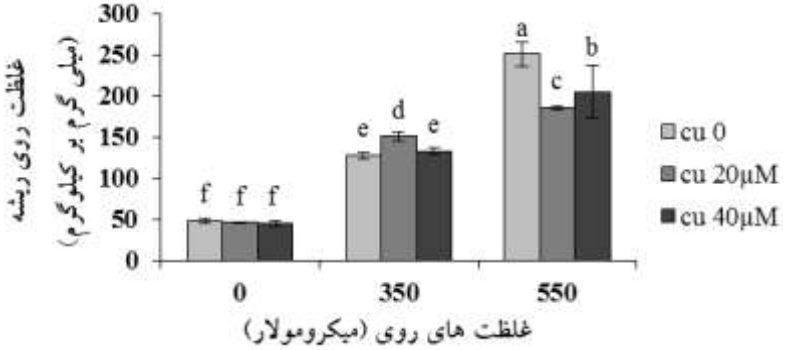
شکل ۱٤- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان پروتئین‌کل بخش هوایی **گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.**



شکل ۱۵- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان روی در بخش هوایی **گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.**

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]



شکل ۱۶- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر میزان روی در ریشه **گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.**

مس به تنهایی در هر دو غلظت باعث کاهش تجمع روی در ساقه شده است. بجز دو تیمار ذکرشده در سایر تیمارها افزایش تجمع روی نسبت به شاهد در بخش هوایی دیده می‌شود. با توجه به شکل ۱۶ با افزایش میزان سولفات روی در کلیه تیمارها به‌غیر از دو گروه تحت تیمار سولفات مس ۲۰ و ۴۰ میکرومولار به تنهایی، افزایش تجمع روی در ریشه مشاهده گردید. بیشترین میزان مربوط به غلظت ۵۵۰ میکرومولار سولفات روی همراه با ۴۰ میکرومولار سولفات مس بود.

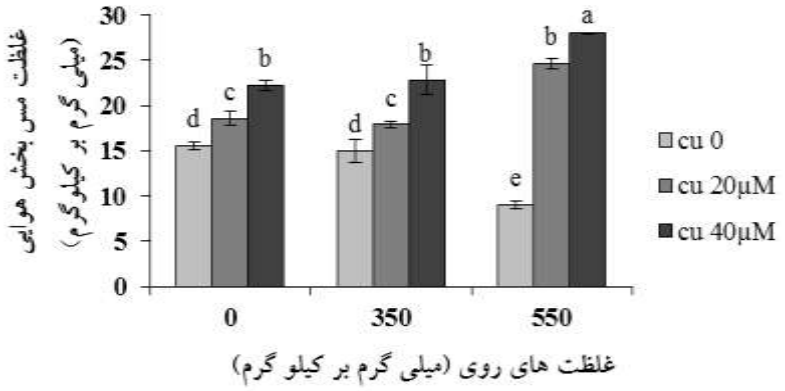
اثر غلظت‌های مختلف روی و مس بر میزان غلظت مس در ساقه و ریشه گیاه: مقایسه برهمکنش تیمار غلظت‌های صفر، ۳۵۰ و ۵۵۰ فلز روی و غلظت‌های صفر، ۲۰ و ۴۰ مس بر تجمع مس در بخش هوایی وریشه گیاه ریحان در شکل‌های ۱۷ و ۱۸ نشان داده شده است. براساس شکل ۱۷ بیشترین تجمع مس در ساقه مربوط به غلظت ۵۵۰ سولفات روی و غلظت ۴۰ میکرومولار سولفات مس بود. براساس همین شکل کمترین تجمع مس در تیمار ۵۵۰ میکرومولار سولفات روی دیده شد. در غلظت ۵۵۰ سولفات روی و غلظت ۴۰ سولفات مس و تیمار ۴۰ میکرومولار سولفات مس تجمع مس در ریشه افزایش یافت. میزان تجمع مس در تیمار سولفات روی ۳۵۰ با شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت (شکل ۱۸).

نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیانگر این است که اختلاف فعالیت این دو آنزیم در گیاه ریحان تحت تأثیر غلظت‌های مختلف روی و مس در سطح ۵٪ معنی‌دارنبوده است.

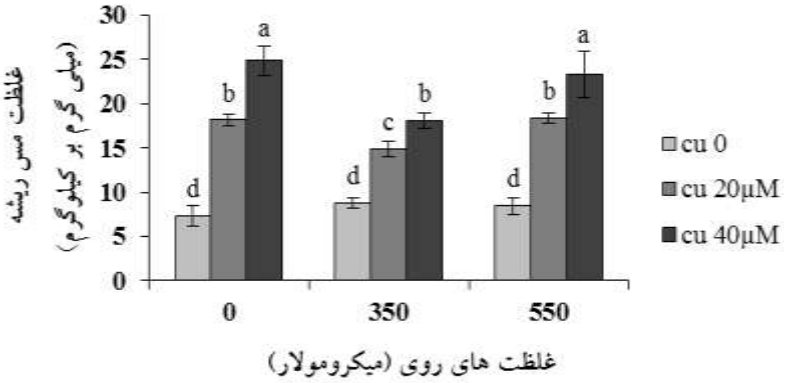
بحث

با توجه به اینکه روی و مس از ریزمغذی‌های لازم جهت رشد گیاه هستند، نسبت مناسب آنها رشد گیاه را افزایش داده و تأثیر مطلوبی بر ویژگی‌های رویشی دارد. به همین دلیل در محدوده غلظت‌های مورد استفاده در این تحقیق رشد گیاه افزایش یافته و باعث افزایش وزن تر و خشک گیاهان شده است. ریشه‌ها به‌عنوان سطوح جذب‌کننده آب و مواد غذایی و اندامی که به‌طور مستقیم تحت تأثیر عناصر مورد مطالعه قرار گرفته تأثیر بسیار زیادی در جذب آب و املاح گوناگون دارند و عوامل مختلف محیطی از طریق تأثیر بر ریشه بر رشد گیاه اثر می‌گذارند. در محدوده غلظت‌های مورد استفاده، رشد ریشه افزایش یافته درنتیجه گسترش مناسب ریشه‌ها باعث افزایش سطح جذب آب و یون‌های موجود در خاک و رشد بخش هوایی گشته است. از طرفی احتمالاً تولید مناسب مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند اکسین، افزایش ظرفیت ریشه‌زایی گیاه، بهبود جذب سایر عناصر غذایی کم‌مصرف و پرمصرف از خاک موجب افزایش صفات رویشی مورد سنجش گردیده است (Malinowska *et al.*, 2015). تغییرات شاخص سطح برگ باعث تغییر در میزان تبخیر و تعرق می‌شود. درنتیجه بر انتقال مواد فتوسنتزی و تغییر در قدرت منبع (سطح برگ) تأثیر خواهد داشت. Arji و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]



شکل ۱۷- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر تجمع مس در بخش هوایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.



شکل ۱۸- مقایسه برهمکنش غلظت‌های سولفات روی و سولفات مس بر تجمع مس در ریشه گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.

تنش‌ها باعث کاهش سطح برگ می‌گردد. لذا استفاده از غلظت‌های بالای روی و مس (۵۵۰ میکرومولار روی و ٤٠ میکرومولار مس) کاهش سطح برگ را به‌دنبال خواهد داشت. استفاده از روی یا مس به‌تنهایی یا تیمار توأم روی و مس بجز غلظت ۵۵۰ روی و ٤٠ مس افزایش سطح برگ را به‌دنبال داشته است. با توجه به سبک‌بودن بافت بستر کشت، عمل تثبیت این عناصر غذایی بعد از کاربرد در محیط کمتر اتفاق افتاده است. درنتیجه گیاه توانسته از عناصر مس و روی به‌کار برده‌شده استفاده کند و فرآیندهای فیزیولوژیک مانند جذب فعال عناصر را افزایش دهد و به تبع آن ارتفاع، کلروفیل و سطح برگ در بعضی از گروه‌های تیمار نیز افزایش خواهد یافت. بر این اساس اهمیت کاربرد عناصر ریزمغذی مس و روی در کشت و کار گیاه ریحان مشخص می‌گردد. در صورتیکه کاربرد غلظت بالای این دو عنصر اثرات عکس بر سطح برگ دارد (Upadhyaya *et al*., 2013).

همان گونه که در نتایج تحقیق اخیر مشاهده می‌شود استفاده از روی به‌تنهایی باعث افزایش میزان کلروفیل b و a شد. این افزایش می‌تواند به‌دلیل نقش عملکردی این فلز در فعال‌سازی پروتئین سنتتازهای مسیر بیوسنتز کلروفیل و نیز برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند گلوتاتیون ردوکتاز در مسیر حفاظت از تخریب کلروفیل توسط رادیکال‌های فعال اکسیژن باشد. تیمار مس نیز به‌تنهایی افزایش میزان کلروفیل‌ها را به همراه داشته است (Murtic *et al*., 2017). احتمال می‌رود فلز مس ساختار کلروفیل را در گیاه مورد مطالعه بهبود بخشیده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

و با جذب بهتر نور خورشید توانسته در تولید رنگدانه‌ها و تبدیل انرژی خورشید به الکترون فعال و فعالیت شیمیایی نقش داشته باشد و کلروپلاست را از پیرشدن محافظت می‌کند که با یافته‌های قربانلی و مصباح در سال ۱۳۸۲ همخوانی دارد. در تحقیق حاضر بکارگیری روی و مس به‌تنهایی در غلظت‌های ذکرشده نه تنها باعث تجزیه و اکسیداسیون کلروفیل‌ها نشده است بلکه سنتز میزان بیشتری از این رنگیزه‌ها را شاهد بودیم که با تنایج سایر تحقیقات همخوانی دارد (Deo and Nayak, 2011). برخلاف این نتیجه در هر دو غلظت روی به همراه استفاده از مس کاهش میزان هر دو کلروفیل دیده شد که شاید به‌دلیل تحمیل تنش اکسیداتیو، کاهش سنتز و تخریب غشاهای کلروپلاستی آنها باشد. زیرا ایجاد اختلال در مراحل مختلف سنتز کلروفیل بوسیله تنش‌های عنصری یکی از دلایل اصلی کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تیمار است. احتمال دارد در غلظت‌های بالا و استفاده همزمان روی و مس در گیاهان ریحان جایگزین‌شدن یون منیزیم مرکزی کلروفیل بوسیله این دو یون صورت گرفته که باعث جلوگیری از به دام‌انداختن نور فتوسنتزی و از بین رفتن کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی باشد (Pan and Du, 2017). تغییر مسیر متابولیسمی به سمت تولید پرولین تحت تنش فلزات سنگین با توجه به داشتن پیش‌ساز مشترک کلروفیل و پرولین باعث کاهش کلروفیل در این گیاه شده که در تحقیقات مشابه نیز دیده شده است (Prasad and Freitas, 2003) در این تحقیق میزان کاروتنوئید چندان تحت تأثیر قرار نگرفته است شاید بتوان کاهش میزان کلروفیل‌ها در شرایط تیمار توأم را به این واقعیت نسبت داد که حفاظت کلروفیل‌ها به‌درستی صورت نگرفته است. شاید عدم‌افزایش میزان کاروتنوئیدها به‌دلیل عدم تحریک مسیر بیوسنتزی این رنگیزه‌های حفاظتی در گیاه ریحان باشد (Lawlor and Cornic, 2002).

در این پژوهش محتوی مالون دی‌آلدهید تحت اثر غلظت‌های مختلف روی و مس، دارای روند افزایشی در کلیه تیمارها بود. در حالیکه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تغییر معنی‌دار نداشتند. ضعیف‌بودن سیستم دفاع آنزیمی در این گیاه برای مقابله با سمیت عناصر سنگین مس و روی باعث افزایش میزان این ترکیب شده است. احتمالاً این گیاه با مکانیسم‌های دیگری غیر از فعال‌شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توانسته اکسیژن‌های فعال تولیدی را هضم و حذف کند. فلز روی فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز به‌عنوان مهم‌ترین آنزیم مسیر پراکسیداسیون را افزایش داده و از این طریق نیز پراکسیداسیون لیپیدها را تحریک می‌کند (Bradfield *et al*., 2017). در تحقیق حاضر فعال‌شدن آنزیم لیپواکسیژناز می‌تواند موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شده که یک عامل مهم ممانعت رشد در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین است که با نتایج حاصل از سایر تحقیقات مطابقت دارد (Liu and Xiong, 2004).

گیاهانی که توان مقاومتی بالا نسبت به تنش دارند سنتز تعدادی از متابولیت‌های محافظ اسمزی مانند پرولین، بتائین و کربوهیدرات‌های احیاکننده را افزایش می‌دهند (Ewemoje, 2007). در این تحقیق مشاهده شده است که تیمار گیاهان با روی همچنین استفاده توأم روی و مس در هر دو غلظت مورد بررسی تجمع پرولین را به همراه داشته است که به‌علت تخریب پروتئین سینتتاز و کاهش تبدیل پرولین به پروتئین (در پروتئین‌های حاوی پرولین) اتفاق افتاده است. زیرا در شرایط تنش بعضی از پروتئین‌های گیاه صرف تولید پرولین می‌شود (Mittler, 2006). مشابه با سایر تحقیقات در گیاهان مورد مطالعه، پرولین از فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن ممانعت می‌کند. این نتیجه‌گیری براساس سایر تحقیقات مشابه به‌دست آمده است (Okieimen, 2011). احتمال می‌رود انباشته‌شدن پرولین در گیاهان تحت تیمار با غلظت‌های بالای مس و روی در تحقیق حاضر سازگاری گیاه برای مقابله با سمیت این فلزات را افزایش داده است. این کار توسط نقش چندگانه پرولین انجام می‌گیرد (Rodriguez *et al*., 2007). پرولین در تنظیم فشار اسمزی، حفاظت از مولکول‌های پروتئینی و جاروب‌کردن رادیکال‌های آزاد با ویژگی آنتی‌اکسیدانی نقش دارد که به احتمال زیاد در تیمار گیاهان ریحان با این دو یون در هر دو غلظت مورد استفاده علت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

افزایش پرولین به این دلیل باشد (Bartels and Sunkar, 2005). به این ترتیب چهار دلیل برای افزایش تجمع پرولین در حین تنش پیشنهاد شده است که شامل تحریک سنتز آن از گلوتامیک اسید، کاهش صادرات آن از طریق آوند آبکش، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش، اختلال در فرآیند سنتز بعضی از پروتئین‌ها است (Llamas *et al*., 2000).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که افزایش غلظت روی یا مس همچنین تیمار توأم این دو یون در هر دو غلظت باعث انباشته‌شدن قندهای محلول شده است. این احتمال وجود دارد که نشاسته موجود در سلول‌های گیاه در شرایط به‌وجود آمده تجزیه شده و به قندهای محلول تبدیل شود به این دلیل که قندها در تنظیم فشار اسمزی نقش داشته و علاوه بر آن احتمالاً با افزایش قندها، گیاه ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب حفظ می‌کند. در سایر تحقیقات نیز نتایج مشابهی دیده شده است (Alaousi–Sosse *et al*., 2004). حتی ممکن است این قندها از مسیرهای غیرفتوسنتزی ساخته شوند. انباشتگی قندها در بخش‌های هوایی گیاهان ریحان مورد مطالعه در این تحقیق می‌تواند به دلیل کاهش بارگیری آوند آبکش و کاهش ظرفیت انتقال و یا کاهش سرعت استفاده از آنها در اندام‌های مخزن باشد (Alaousi–Sosse *et al*., 2004). در این شرایط بخش‌های هوایی محل مناسبی برای ذخیره قندهای محلول هستند که این احتمال در گیاه حاضر نیاز به بررسی بیشتری دارد. در بعضی از موارد فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده قندها مانند انورتاز افزایش و فعالیت سوکروز سنتتاز کاهش می‌یابد. همچنین کاهش مصرف این قندها نیز ممکن است اتفاق بیفتد (Verma and Dubey, 2001). این احتمال وجود دارد که در اثر تیمارهای روی و مس به‌صورت همزمان چنین فرایندی اتفاق افتاده باشد. افزایش قند محلول در گیاه لوبیا (Hendry *et al*., 1992) تحت تنش سولفات مس و افزایش قندهای محلول در گیاه ماش (Baskaran *et al*., 2009). تحت تنش روی گزارش شده است. همچنین گزارش‌هایی نیز مبنی بر ارتباط بین پرولین و کربوهیدرات‌ها مطرح شده است که در پژوهش حاضر نیز این روند قابل مشاهده است.

در شرایط تیمار توأم روی و مس، افزایش پروتئین کل دیده شده است. این احتمال وجود دارد که این دو یون اثر یکدیگر را تشدید کرده و گونه‌های اکسیژن فعال به میزان زیادی تولید شده و باعث تحریک سنتز دسته خاصی از پروتئین‌ها شود که جهت مقابله با تنش سنتز می‌شوند (Turgut *et al*., 2004). در پاسخ به تنش ایجادشده از تیمار توأم روی و مس امکان افزایش تعدادی از این پروتئین‌ها در این تحقیق وجود دارد که احتمال دارد پروتئین‌های شوک گرمایی باشند. این پروتئین‌ها وظیفه محافظت و ترمیم سایر پروتئین‌ها را بر عهده دارند (Feder and Hofmann, 1999) مانند پروتئین‌هایی که در حفاظت غشا برعلیه خسارت ناشی از فلزات سنگین نقش دارند (Robinson *et al*., 1993). احتمال دیگری که هنگام دریافت غلظت‌های بالای روی و مس وجود دارد تولید فیتوکلاتین‌ها و متالوتیونین‌ها در سیتوزول است که با کلاته‌کردن فلزات به رفع مسمومیت ناشی از این فلزات کمک می‌کنند (Cobbett and Goldsbrough, 2002).

بررسی نتایج حاصل از گیاه *Ocimum basilicum* تحت تنش روی و مس نشان داد تجمع این یون‌ها در ریشه در مقایسه با بخش هوایی محسوس‌تر بود. معمولاً فلزات سنگین مانند مس در ریشه و در مقایسه بین برگ‌ها، در برگ‌های پایین تر و مسن‌تر تجمع می‌یابد. به این ترتیب انباشتگی بیشتر کربوهیدرات‌ها نیز در ریشه با توجه به تجمع بیشتر مس در این اندام، در مقایسه با برگ قابل پیش‌بینی خواهد بود. به گزارش محققان به‌دام‌انداختن مس در ریشه به‌صورت کمپلکس متالوتیونین- مس از تجمع آن در بخش هوایی می‌کاهد که با با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد (malkova *et al*., 2002). بررسی Stoyanova و Donchava (۲۰۰۲) بر روی گیاه نخودفرنگی نشان داد که با افزایش مصرف روی میزان آن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

در ریشه‌ها، نسبت به ساقه و برگ افزایش می‌یابد. نتیجه مشابهی در تحقیق حاضر دیده شد. احتمالاً گیاه از طریق فعال‌نمودن سیستم‌های دفاعی در ریشه باعث رسوب‌دادن روی در ریشه می‌گردد و یا مسیرهایی که امکان انتقال روی از این طریق امکان‌پذیر باشد را مسدود می‌نماید. این تفاوت میزان نشان‌دهنده مقاومت گیاه در برابر انتقال روی از ریشه به اندام هوایی است و به نوعی می‌توان بیان نمود که نوعی سازوکار دفاعی و مقاومت به غلظت زیاد روی است که با مطالعات ما مطابقت دارد. با توجه به اینکه مس و روی از عناصر ضروری گیاهان محسوب می‌شوند لذا نحوه تجمع آنها با سایر فلزات سنگین متفاوت خواهد بود (Jayanthi *et al*., 2015). در غلظت زیاد مس همان گونه که در تحقیق حاضر دیده شد محتوای مس ریشه افزایش پیدا می‌کند. بیشتر فلزات سنگین می‌توانند از ریشه به ساقه حرکت کنند. بعضی از گیاهان مقاوم به مس بوسیله نگهداری آن در ریشه از رسیدن یون‌ها به ساقه و برگ‌ها جلوگیری می‌کنند که در گیاه ریحان نیز دیده شد. محدودیت انتقال مس به ساقه و برگ‌ها به‌عنوان یک مکانیسم مقاومت به مس در گیاهان مطرح است (Yurekli and Porgali, 2006). البته این احتمال نیز وجود دارد که گیاه ریحان با ممانعت سلولی فلزات در فضای آپوپلاست ریشه از ورود بیشتر این فلز به درون سیتوزول جلوگیری کرده و درنتیجه انتقال آن را به اندام هوایی کاهش داده است. به همین دلیل یک جزء گسترده فلزات در ریشه گیاهان در فضای آزاد آپوپلاستی یافت می‌شوند. بارگیری فلزات در برگ‌های پیر و ریزش برگ‌های پیر در بسیاری از گونه‌های تحت تنش فلز دیده شده است (Reichman, 2002).

با توجه به اینکه فعال‌شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و پراکسیداز یکی از سازوکارهای دفاعی گیاهان در مواجهه با تنش اکسیداتیو است لذا براساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق می‌توان بیان کرد که بکارگیری غلظت‌های روی و مس مورد استفاده در این پژوهش به گونه‌ای نبوده است که فعالیت آین آنزیم‌ها را به‌دنبال داشته باشد. در تعدادی از تحقیقات نیز نتیجه مشابهی مشاهده شده است (Zhang *et al*., 2007). از طرفی فعال‌شدن این آنزیم‌ها در مواجهه با تنش‌های فلزات سنگین همیشه حالت افزایشی نداشته بلکه بسته به نوع گونه گیاهی این آنزیم‌ها عکس‌العمل‌های متفاوتی را نشان می‌دهند که در تحقیق حاضر واکنش گیاه ریحان در شرایط موجود افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه نیست. این نتیجه در سایر تحقیقات نیز مشاهده شده است (Wong *et al*., 2006). از طرفی احتمال فعال‌شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی غیز از این دو آنزیم نیز هست که نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

نتیجه‌گیری

تأثیرات توأم فلزات مس و روی در گیاه ریحان به‌صورت افزایش طول ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه، میزان پروتئین و قندهای محلول بخش هوایی، پرولین و مالون دی‌آلدهید و کاهش کلروفیل‌ها بروز یافته است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر این تیمارها قرار نگرفتند. در گیاه ریحان افزایش هر یک از این عناصر در محدوده غلظت‌های مورد آزمایش باعث تجمع بیشتر آنها در ریشه شده است. بکارگیری همزمان دو عنصر در غلظت‌های بالا باعث انباشتگی آنها در بخش‌های هوایی و به‌خصوص ریشه می‌گردد. براساس این نتایج مناسب‌ترین غلظت املاح روی و مس مورد استفاده در این گیاه به‌ترتیب ۳۵۰ میکرومولار سولفات روی و ۲۰ تا ٤۰ میکرومولار سولفات مس پیشنهاد می‌گردد تا ضمن رشد مناسب آسیب‌های وارده به حداقل برساند.

منابع

خاوری‌نژاد، ر.، نجفی، ف. و فیروزه، ر. (۱۳۹۰) اثرات سولفات روی بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.). فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی ۲۱: ۱٤-۱.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

زارع ده‌آبادی، س.، اسرار، ز. و مهربانی، م. (۱۳۸٦) اثر فلز روی بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی در گیاه نعناع خوراکی. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۰: ۲۳۹-۲۳۰.

عسگری لجایر، ح.، متشرع‌زاده، ب. و هادیان، ج. (۱۳۹٤) تأثیر مس و روی بر ویژگی‌های رشدی، غلظت برخی عناصر معدنی و ظرفیت انتقال عناصر به دمکرده و جوشانده گیاه دارویی بالنگوی شهری کشت شده در شرایط گلخانه‌ای. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ٦: ۱٦۰-۱٤٥.

قربانلی، م. و مصباح، م. (۱۳۸۲) تغذیه معدنی گیاهان. انتشارات دانشگاه تربیت معلم، تهران.

مالکی کوهبنانی، ا. و کریمی، ح. ر. (۱۳۹۲) ارزیابی پایه‌های پسته و دورگه بین‌گونه‌ای آتلانتیکا × ورا به تنش خشکی. مجله علوم باغبانی ایران ٤٤: ۹۳-۸۱.

وحدتی، م.، اقدسی، م. وصادقی‌پور ح. ر. (۱۳۸۹) برهمکنش ترهالوز و آسکوربیک اسید در رشد گیاهچه‌های آرابیدوپسیس. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی ۱۷: ٤۸-۲۷.

Al-khayri, J. M and Al-bahrany, A. M. (2004) Growth, water content and proline accumulation in drought stressed callus of date palm. Biologia Plantarum 48: 105-112.

Alaousi–sosse, B., Genet, p., Vinit–Dunand, F., Toussaint, M. L., Eproh, D. and and Badot, P. M. (2004) Effect of copper on growth in cucumber plant (*Cucumis sativus*) and its relationship. Plant Science 166: 1213-1218.

Alloway, B. J. (2013) Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. Springer, London, UK.

Arji, A. and Arzani, H. (2003) Evaluation growth indices and proline accumulation in three olive cultivar 'Iran aborigine' to drought stress. Journal of Science and Technology of Agricultural and Natural Resources 10: 91-100.

Baker, A. J. M. (1987) Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. Journal of Plant Nutrition 106: 93-111.

Bartels, D. and Sunkar, R. (2005) Drought and salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Science 24: 23-58.

Baskaran, L., Sundaramoorthy, P., Chidambaram, A. L. A. and Sankar Ganesh, K. (2009) Growth and physiological activity of green gram (*Vigna radiate* L.) under effluent stress. Botany Research International 2: 107-114.

Bradfield, S. J., Kumar, P., White, J. C. and Ebbs, S. D. (2017) Zinc, copper, or cerium accumulation from metal oxide nanoparticles or ions in sweet potato: Yield effects and projected dietary intake from consumption. Plant Physiology and Biochemistry 110: 128-137.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Brigezu, K., Lichtenberger, O., Leopol, I. and Neumann, D. (1999) Heavy metal tolerance of *Silene vulgaris*. Journal of Plant Physiology 158: 536-546.

Cobbett, C. and Goldsbrough, P. (2002) Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. Annual Review of Plant Biology 53: 159-182.

Deo, B. and Nayak, P. K. (2011) Study of copper phytotoxicity on in vitro culture of *Musa acuminata* cv. 'Bantala'. Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development 3: 136-140.

Devlin, E. and Witham, A. (2002) Heavy metal tolerance in plants. Plant Physiology 21: 149-150.

Ewemoje, T. A. (2007) Variable irrigation scheduling effects on growth parameters of *Celosia argentea* in humid tropical environment. Agricultural Engineering International: the CIGR 9.

Feder, M. E. and Hofmann, G. E. (1999) Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. Annual Review of Physiology 61: 243-282.

Heath, R. L. and Parcker, L. (1968) Photo peroxidation in isolated chloroplast kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysic 125: 189-198.

Hendry, G. A. F., Baker, A. J. M. and Ewart, C. F. (1992) Copper tolerant and copper sensitive clons of *Holcus lantust* L. Acta Botanica Neerlandica 271-281.

Jayanthi, P., Senthilkumar, P. and Sivasankar, S. (2015) Interactive effects of copper and zinc accumulation in *Portulaca olearceastem* cuttings, through hydroponics. Advances in Applied Science Research 6: 54-61.

Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, proxidase, and polyphenoloxidase activities during ricande leaf senescence. Plant Physiology 57: 315-319.

Labra, M., Miele, M., Ledda, B., Grassi, F., Mazzei, M. and Sala, F. (2004) Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. Plant Science 167: 725-731.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

Lawlor, D.W. and Cornic, G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant, Cell and Environment 25: 275-294.

Llamas, A., Ullrich, C. I. and Sanz, A. (2000) Cadmium effects on transmembrance electrical potential difference, respiration and membrane permeability of rice (*Oryza sativa*) roots. Plant and Soil 219: 21-28.

Lichtenthaler, H. K. and Welburn, W. R. (1994) Determination of total carotenoids and chlorophyill a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical of Transport 11: 591-592.

Liu, J. and Xiong, Z. T. (2004) Differences in accumulation and physiological response to copper stress in three populations of *Elsholtzia haichowensis*. Water Air Soil Pollution 168: 5-16.

Malkova, R., Vostaka, M. and Grydler, M. (2002) Effects of inoculation with *Clomus intraradices*. On lead uptake by (*Zea meys* L.) and (*Agrostis capillaris* L.). Applied Soil Ecology 23: 55-67.

Malinowska, E., Jankowski, K., Wisniewska-Kadżajan, B., Sosnowski, J., Kolczarek, R., Jolanta Jankowska, J., Grazyna, A. Ciepiela, G. (2015) Content of zinc and copper in selected plants growing along a motorway. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 95: 638-643.

Mittler, R. (2006) Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends in Plant Science 11: 15-19.

Murtic, S., Civic, H., Koleska, I., Oljaca, R., Behmen, F. and Avdic, J. (2017) Zinc and copper dynamics in the soil-plant system in intensive strawberry production. International Journal of Plant and Soil Science 18: 1-7.

Okieimen, F. E. (2011) Heavy metals in contaminated soils: A review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. ISRN Ecology, Article ID 402647: 20.

Pan, C. and Du, X. (2017) Effects of the best combination of copper, zinc, iron, and manganese on the relationship of lettuce resistance to *Botrytis cinerea* and its antioxidant system. Emirates Journal of Food and Agriculture 29: 330-338.

Prasad, M. N. V. and Freitas, H. (2003) Metal hyper accumulation in plants-Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology 6: 275-321.

Reichman, S. M. (2002) The responses of plants to metal toxicity: A review focusing on copper, manganese and zinc. The Australian Minerals and Energy Environment Foundation 13: 1-54.

Rion, B. and Alloway, J. (2004) Fundamental aspects of zinc in soils and plants. International Zinc Association 23: 1-128.

Robinson, N. J., Tommey, A. M., Kuske, C. and Jackson, P. J. (1993) Plant metallothioneins. Biochemical Journal 295: 1-10.

Rodriguez, M. C. (2007) Effects of chromium on photosynthetic and photoreceptive apparatus of the alga *Chlamydomonas reinhardtii.* Environmental Research 105: 234-239.

Sekabira, K., Oryem-Origa, H., Mutumba, G., Kakudidi, E. and Basamba, T. A. (2011) Heavy metal phytoremediation by *Commelina benghalensis* L. and *Cynodon dactylon* L. growing in urban stream sediments. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry 3: 133-142.

Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005) Lead toxicity in plants. Plant Physiology 17: 35-52.

Sheng, K. S. (2007) Effect of copper on the photosynthesis and oxidative metabolism of *Amaranthas tricolor* seedling. Agricultural Sciences in China 10: 1182-119.

Stoyanova, Z. and Donchava, S. (2002) The effect of zinc supply and succinat treatment on plant growth and mineral uptake in zea. Plant Physiology 14: 111-116.

Turgut, C., Katie Pepe, M. and Cutright, T. J. (2004) The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus.* Environmental Pollution 131: 147-154.

Upadhyaya, H., Dutta, B. K. and Panda, S. K. (2013) Zinc modulates drought induced biochemical damages in tea [*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze]. Journal of Agriculture and Food Chemistry 61: 6660-6670.

Fargo, M. E. (1994) Toxic effects of metals. In: Plant and the Chemical Elements: Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity (eds. Vangronsveld, J. and Clijsters, H.) Pp. 149-177. Wiley-Blackwell, Wienheim.

Verma, S. and Dubey, R. S. (2001) Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biological Plantarum 44: 117-123.

Wong, S., Leong, L. P. and Koh, J. H. W. (2006) Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry 99: 775-783.

Yurekli, F. and Porgali, Z. B. (2006) The effects of excessive exposure to copper in bean plants. Acta Biologica Series Botanica 2: 7-13.

Zhang, F. G., Wang, Y. S., Lou, Z. P. and Dong, J. D. (2007) Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedling (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorrhiza*). Chemosphere 67: 44-50.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]

An investigating of the interaction of zinc and copper on the accumulation of elements, antioxidant enzymes, photosynthetic pigments and malon dialdehyde in basil (*Ocimum basilicum*)

Sedigheh Saljougi and Monireh Ranjbar*

Department of Biology, Falavarjan branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
(Received: 29/05/2018, Accepted: 24/11/2018)

Abstract

Zinc and copper are essential elements for plant growth and development. These two elements act as heavy metal in high concentrations and cause oxidative stress. The aim of this study was to investigate the effect of these elements on (*Ocimum basilicum*). This plant is an important herb of medicine and nutrition. In this study, seeds were planted in pots containing cocopeat and perlite and the four-leaf seedlings were treated with zinc sulfate at of 0, 350 and 550 micro-molar concentrations and 0, 20 and 40 micro-molar copper sulfate in three replications. After a month, accumulation of the elements including, proline, soluble sugars, total proteins, photosynthetic pigment and malon dialdehyde contents, leaf area, number of leaves were investigated. The results showed that different concentrations of copper and zinc effects were not significant on germination percentage, number of leaves and stem length. However with increasing zinc and copper, the fresh and dry weight of the root, stems were up to 0.540, 0.120, 0.182 and 0.160 grams and the leaf area of the plant was up to 172.6 square centimeters in 40 micromolar of copper sulfate without zinc. Also, the content of malon dialdehyde (0.187 µMol/g) and Proline at a concentration of 550 micromolar of zinc with both concentrations of copper, the amount of soluble sugar, total protein at a concentration of 550 micromolar of zinc and 40 micromolar of copper increased. Antioxidant enzymes (catalase and peroxidase) did not activate these concentrations. The amount of photosynthetic pigments decreased at high concentrations of zinc and copper so that the total chlorophyll content turned to 79.9 mg/g. With increased concentrations of copper and zinc in the medium, copper and zinc accumulation increased in the root and shoot. Of course, the accumulation in the roots was more than the shoot. Increasing the high levels of zinc and copper in the medium reduced the amount of copper accumulation in the stem, root and zinc in the stem which confirms the existence of interaction between two elements. Increasing each of these two elements within the range of mentioned concentrations did not have an adverse effect on this plant. But their interactions had physiological and biochemical changes in the plant. Accordingly, the optimal concentration of these two elements in a basil was zinc at 350 µm with two concentrations of copper.

Key words: Chlorophyll, Malondialdehyde, *Ocimum basilicum*, Proline total protein, Soluble sugars

Corresponding author, Email: ranjbar@iaufala.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.5.5]