

بررسی اثر نیکل بر شاخص‌های رشد، محتوای رنگیزه‌ها، کربوهیدرات محلول، پروتئین کل، تجمع نیکل و فعالیت آنزیم پرکسیداز گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.)

سمیرا تقوی^۱، طهماسب آسمانه^{۱*} و محسن موحدی دهنوی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۹/۲۲)

چکیده

فلزات سنگین از جمله نیکل در زمره مهمترین آلاینده‌ها به شمار می‌روند. نیکل یک ریزمغذی ضروری برای گیاهان است. با این وجود با افزایش غلظت نیکل در محیط، مقدار بیش از حد آن در گیاهان تجمع یافته و باعث بروز سمیت می‌شود. گیاه پالایی یک فناوری زیستی است، که از گیاهان برای زدودن و یا کاهش آلاینده‌های زیست محیطی استفاده می‌شود. در این پژوهش، به منظور ارزیابی پتانسیل گیاه پالایی و تجمع نیکل، اثرات سطوح مختلف نیکل بر برخی از شاخص‌های رشد و نمو گیاهان پونه (*Mentha longifolia* L.) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های مختلف نیکل (صفر، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در محیط کشت هیدروپونیک اعمال شد و توانایی گیاه پونه برای تحمل نیکل و اثرات نیکل بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک این گیاه بررسی شد. آزمایش در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی انجام گردید. بررسی نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نیکل در محلول غذایی، شاخص‌های طول ساقه و ریشه، سطح برگ، وزن خشک ریشه و بخش هوایی، محتوای کلروفیل کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین و کربوهیدرات محلول در گیاه پونه کاهش یافت درحالی‌که غلظت نیکل ریشه و بخش هوایی و پروتئین کل افزایش یافت. به‌طورکلی، با بررسی اثر نیکل بر شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه پونه در این پژوهش، این نتیجه حاصل شد که این گیاه قادر به مقاومت به تنش نیکل نبوده، بنابراین برای گیاه پالایی و زدودن مقادیر مازاد نیکل محیط مناسب نیست. همچنین با توجه به حساسیت این گیاه به نیکل، می‌تواند به‌عنوان گیاه شاخص آلاینده‌گی نیکل محیط محسوب گردد.

کلمات کلیدی: پونه، شاخص‌های رشد، فلزات سنگین، گیاه پالایی، مقاومت به تنش

مقدمه

مهمترین آنها فلزات سنگین و سمی، آفت‌کش‌ها و مواد آلی فرار است. خاک نیز به‌طور پیوسته بر اثر مواد زاید سمی آلوده می‌شود و از این طریق موجودات خاک و گیاهانی که در خاک‌های آلوده رشد می‌کنند در معرض خطر قرار می‌گیرند (Tu et al., 2002). واژه فلزات سنگین به فلزها و شبه فلزهایی

با افزایش جمعیت در قرن اخیر، گسترش صنعت و دخالت‌ها و برنامه‌ریزی‌های نادرست انسان، روز به روز بر آلودگی‌های محیط زیست افزوده شده است. طیف وسیعی از آلاینده‌های شیمیایی از صنعت و کشاورزی به منابع آبی راه می‌یابند که

بر گرم وزن خشک در گونه‌های بیش تجمع‌دهنده، گزارش شده است (Ghosh and Singh, 2005). علایم سمیت نیکل در برخی گیاهان شامل عقب‌ماندگی جوانه‌زنی، مهار رشد، کاهش عملکرد (Madhava Rao and Sresty, 2000)، القاء زردی برگ و پژمردگی، اختلال در فتوسنتز و مهار جذب CO₂ از طریق کاهش در هدایت روزنه‌ای، بوده است (Gajewska et al., 2006). مشاهده شده که مقدار اضافی نیکل، باعث نکرور و کلروز برگ گیاهان می‌شود (Seregin and Kozhevnikova, 2006). شواهد نشان می‌دهد که سمیت نیکل در گیاهان، با تنش اکسیداتیو مرتبط است (Boominathan and Doran, 2002). غلظت بالای نیکل ممکن است جذب برخی از فلزات از قبیل کلسیم، منیزیم، آهن، مس و روی را مهار و غلظت آنها را کاهش دهد و حتی منجر به کمبود آنها در گیاه شود (Ahmad et al., 2009). گیاه‌پالایی، استفاده از پتانسیل‌های فیزیولوژیکی گیاهان سبز، جهت کنترل آلاینده‌های آلی و معدنی از جمله نیکل است و فن‌پالایی است که شامل: جذب، تغییر شکل، تجمع و یا تصعید آلاینده‌ها با کمک گیاهان برای زدودن آلودگی‌های آب، خاک و هوا می‌باشد (Ghosh and Singh, 2005). گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.)، یکی از گونه‌های مهم تیره نعناع (Lamiaceae) است و از زمان‌های بسیار دور به عنوان دارو، سبزی معطر و ادویه مورد استفاده بشر قرار می‌گرفته است (امیدبگی، ۱۳۸۴). تجمع بالای نیکل در گیاه پونه که به عنوان سبزی خوراکی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌تواند آثار زیان‌باری برای سلامتی انسان داشته باشد. این گیاه که در حاشیه آب‌های آلوده رشد می‌یابد، به نظر می‌رسد شرایط نامساعد آن محیط‌ها را تحمل کرده و پتانسیل گیاه‌پالایی نیکل را داشته باشد. از طرفی دیگر، گیاه پونه متعلق به تیره نعناع است و پژوهش‌های پیشین حاکی از این است که برخی از گیاهان این تیره قادر به تجمع فلزات سنگین هستند (Angelova, et al., 2006). بر این اساس در این تحقیق، اثرات سطوح مختلف نیکل بر برخی از شاخص‌های رشد و نمو این گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

که دارای چگالی بیش از پنج گرم بر سانتی‌متر مکعب هستند، اطلاق می‌شود. سرب، نیکل، کادمیم، مس، روی، مولیبدن، منگنز، آهن، آرسنیک، نقره، کروم، جیوه، منیزیم، کبالت و سلنیوم از جمله این فلزات می‌باشند (Adriano, 2001). نیکل یک ماده مغذی ضروری برای گیاهان است، با این حال مقدار مورد نیاز این عنصر برای رشد معمولی گیاهان بسیار کم است (Gajewska et al., 2006). تشخیص نیکل به‌عنوان بخشی از آنزیم اوره‌آز (Dixon et al., 1975)، اولین مطالعه بنیادی درباره اثبات ضرورت نیکل برای گیاه را پایه‌گذاری نمود. نیکل نقش مهمی در فرایندهای متابولیکی مهم از جمله تجزیه اوره، متابولیسم هیدروژن و تولید متان دارد (Ghosh and Singh, 2005). با این حال، بالا بودن غلظت فلز در محیط و به دنبال آن در بافت‌های گیاه موجب سمیت می‌شود. نیکل تقریباً سه درصد از ترکیب پوسته زمین را تشکیل می‌دهد و بیست و چهارمین عنصر فراوان زمین است. غلظت کل نیکل معمولاً از ۵ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و با میانگین ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در خاک متغیر است. با این حال، غلظت نیکل در لجن فاضلاب‌ها و یا خاک نزدیک به پالایشگاه‌های فلز بین ۲۴۰۰۰ تا ۵۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک است (Seregin and Kozhevnikova, 2006). در سال‌های اخیر آلودگی نیکل از سراسر جهان از جمله آسیا، اروپا و شمال آمریکا گزارش شده است. غلظت نیکل ممکن است در خاک‌های آلوده به ۲۶۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در آب‌های سطحی آلوده تا ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر برسد. آلودگی خاک و آب با نیکل در سراسر جهان به یک مشکل تبدیل شده است. نیکل برای برخی گیاهان ضروری است اما غلظتش در اکثر گونه‌های گیاهی بسیار کم (۱۰ - ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) است (Nieminen et al., 2007). پاسخ به سمیت یون، به‌طور قابل ملاحظه‌ای، با توجه به گونه گیاهی، مرحله رشد، شرایط کشت، غلظت نیکل و زمان تیماردهی متفاوت است (Kabata-Pendias, 2001). به‌طور کلی، سطح سمیت نیکل، ۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در گونه‌های حساس، ۵۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در گونه‌های نسبتاً متحمل و بیش از ۱۰۰۰ میلی‌گرم

مواد و روش‌ها

بذر پونه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. پس از ضدعفونی بذور و شستشو با آب مقطر، در گلدان‌هایی حاوی شن کاملاً شسته شده و عاری از مواد آلی، کشت گردید و در اتاق کشت در دمای متناوب ۱۸ برای شب و ۲۲ برای روز نگهداری شدند. برای آبیاری گلدان‌ها، تا زمان سبز شدن از آب مقطر استفاده گردید، اما بعد از مرحله سبز شدن (۱۰ روز پس از کاشت)، گلدان‌ها روزانه با محلول غذایی هوگلدن ۰/۵، آبیاری شدند. پس از دو ماه از زمان کاشت، گیاهان به محیط کشت هیدروپونیک انتقال داده شدند.

محلول غذایی براساس فرمول ارائه شده توسط هوگلدن تهیه گردید که شامل ترکیبات ذیل است (اعداد داخل پرانتز غلظت ترکیب بر اساس میکرومولار می‌باشد):

KNO_3 (1000), KH_2PO_4 (20), NaOH (900), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (1500), NH_4NO_3 (500), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500), EDTA (50), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.7), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.1), H_3BO_3 (1), CuSO_4 (0.1), NaCl (100).

تیمارهای آزمایش شامل پنج غلظت سولفات نیکل (صفر، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. هر تیمار سه تکرار و هر تکرار شامل چهار گیاه بود. آزمایش، در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. این غلظت‌های تیمار، با بررسی مقالات انتخاب گردید. ظرفیت گلدان‌های کشت هیدروپونیک یک لیتر بوده و در اتاق کشت در دمای متناوب ۱۸ برای شب و ۲۲ برای روز نگهداری شدند. در طول هفته اسیدیته (pH) محلول غذایی در حدود 0.2 ± 6 ثابت نگه داشته شد. هوادهی محلول‌های غذایی با استفاده از پمپ‌های آکوارיום انجام شد. محلول‌های غذایی نیز، دو بلحاظه هفته، تعویض گردیدند. گیاهان، پس از پنج هفته اعمال تیمار، برداشت گردیده و صفات مورد نظر، مورد سنجش و اندازه‌گیری قرار گرفتند.

میانگین سطح‌های نیکل با استفاده از روش وزنی (مهدویان و همکاران، ۱۳۸۵) محاسبه شد. پس از قطع ساقه از محل یقه و اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه با خط‌کش، وزن آنها، با استفاده از ترازوی دیجیتالی مدل Te313s با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. پس از آن، نمونه‌های گیاهی، در آون در دمای

۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند سپس، وزن خشک آنها تعیین گردید.

اندازه‌گیری غلظت عنصر نیکل در نمونه‌های گیاهی: به

منظور اندازه‌گیری غلظت عنصر نیکل ریشه و بخش هوایی گیاه، از روش جذب اتمی استفاده شد (Lozak and Soltyk, 2002). برای این سنجش، ۰/۱ گرم از اندام گیاهی خشک شده هر گلدان، با ۲ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۰ درصد به مدت یک شبانه‌روز هضم گردید و سپس در حمام آبی به مدت دو ساعت در ۹۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند. پس از سرد شدن، ۱ میلی‌لیتر آب اکسیژنه به نمونه‌ها اضافه شد و لوله‌ها به مدت نیم ساعت، در حمام آبی در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شدند. مقادیر نیکل ریشه و بخش هوایی گیاه، با استفاده از دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی مدل AAS. Shimadzu, 6200 اندازه‌گیری شد و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه، گزارش گردید.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های

فتوسنتزی شامل کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت. بدین ترتیب که ۰/۲ گرم از برگ‌های تازه گیاه، در هاون چینی با ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شده و پس از صاف کردن، جذب آنها با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل UV-2100 در طول موج‌های ۶۶۳/۲۰، ۴۷۰ و ۶۴۶/۸ نانومتر خوانده شد. از استن ۸۰ درصد به عنوان بلانک استفاده شد. غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید.

$$\text{Chl a} = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$$

$$\text{Chl b} = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$$

$$\text{Chl T} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

$$\text{Car} = (1000 A_{470} - 1.8 \text{Chl a} - 85.02 \text{Chl b}) / 198$$

Chl a, Chl b, Chl T و Car در این فرمول‌ها، به ترتیب،

غلظت کلروفیل a، غلظت کلروفیل b، غلظت کلروفیل کل و

غلظت کاروتنوئیدها (شامل کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها) است.

میلی‌لیتر بافر فسفات مونوسدیک (۲۵ میلی‌مولار) با اسیدیته برابر ۶/۸، ۱۰۰ میکرولیتر پیروگالول (۱۰ میلی‌مولار)، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه (۴۰ میلی‌مولار) به حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر رسید. با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش فعالیت آنزیمی شروع شد. در محلول بلانک به جای آب اکسیژنه از آب مقطر استفاده گردید. تغییرات جذب نور در اثر تولید پورپوروگالین از پیروگالول در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده گردید. فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس ضریب خاموشی برابر با $(2/47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1})$ محاسبه شد (قادری‌فر و همکاران، ۱۳۹۳). مقدار فعالیت آنزیم به صورت واحد میلی‌مول بر گرم وزن تر برگ در دقیقه گزارش گردید.

اندازه‌گیری کربوهیدرات: این اندازه‌گیری با روش فنل سولفوریک اسید (Chapin and Kennedy, 1987) انجام گرفت. ۰/۱ گرم از ماده خشک اندام گیاهی (ریشه و بخش هوایی جدا از هم) که کاملاً پودر شده در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد ریخته شد و پس از یک هفته از بخش رویی محلول ۰/۵ میلی‌لیتر و برای ریشه ۱ میلی‌لیتر برای بخش هوایی برداشته و با آب مقطر به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد اضافه و بعد از آن که خوب بهم زده شد به آن ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ افزوده گردید، حدود نیم ساعت پس از خنک شدن کامل محلول، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV-2100 در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد. برای اندازه‌گیری مقدار قند از منحنی استاندارد تهیه شده از گلوکز استفاده شد. غلظت کربوهیدرات، برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه و ارائه گردید.

نتایج

اثر غلظت‌های مختلف سولفات نیکل بر برخی شاخص‌های رشد و فیزیولوژیک گیاه پونه در جدول ۱ نشان داده شده است.

براساس نتایج حاصل از جدول ۱، اعمال سطوح مختلف سولفات نیکل، بر شاخص‌های نیکل بخش هوایی، نیکل ریشه،

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

آنتوسیانین: جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های اندام هوایی، از روش Wagner (۱۹۷۹)، استفاده شد. ۰/۱ گرم از بخش هوایی گیاه را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً سائیده و عصاره در لوله‌های آزمایش سر پیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ در سانتریفیوژ مدل itd-2010 قرار داده شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV-2100 در طول موج ۵۵۰ نانومتر، جذب محلول بالایی، اندازه‌گیری شد. محاسبه غلظت با ضریب خاموشی $33000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ انجام شد و غلظت آنتوسیانین، بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر ارائه گردید.

اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل: برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل در نمونه‌های گیاهی، از روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده گردید. 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 تر گیاهی وزن گردید و ۴ سی‌سی از بافر تریس اسید کلریدریک به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها روی شیکر مدل ۳۰۰۵ به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردید. پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۵۰۰ توسط دستگاه سانتریفیوژ مدل itd-2010 سانتریفیوژ گردیدند و فاز بالایی جدا گردید که حاوی پروتئین کل است. برای اندازه‌گیری پروتئین به روش برادفورد ۰/۱ سی‌سی عصاره پروتئینی از هر نمونه به ۵ سی‌سی محلول برادفورد اضافه شد، به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردید سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV-2100 در طول موج ۵۹۵ نانومتر یادداشت گردید. غلظت پروتئین، برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Resende و همکاران (۲۰۰۲) با اندکی تغییرات انجام شد. مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۵۰

جدول ۱- آنالیز واریانس اثر پنج سطح سولفات نیکل (صفر، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) برای برخی شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی گیاه پونه (*Mentha longifolia L.*)

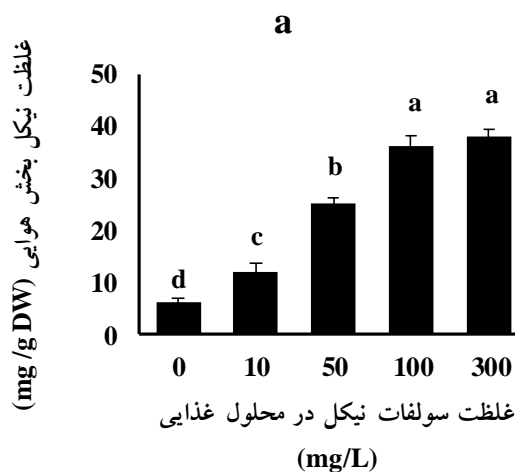
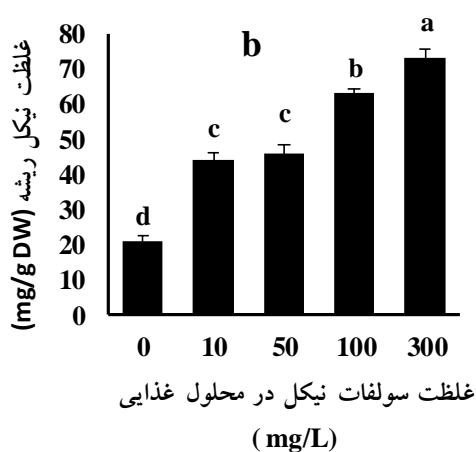
| میانگین مربعات | | | | | | | درجه آزادی | منبع تغییرات |
|----------------------|------------|------------|------------|------------|-----------|----------------|------------|--------------|
| کربوهیدرات بخش هوایی | پروتئین کل | آنتوسیانین | کاروتنوئید | کلروفیل کل | نیکل ریشه | نیکل بخش هوایی | | |
| ۱۰۷** | ۱/۱** | ۵/۹۸** | ۰/۳۵۵** | ۳/۷۴** | ۱۱۷۸** | ۷۸۹** | ۴ | نیکل |
| ۰/۳۶ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۲ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۱۷ | ۲۲ | ۱۳/۹ | ۱۰ | خطا |

* و ** به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار و ns غیر معنی‌دار است.

ادامه جدول ۱-

| میانگین مربعات | | | | | | درجه آزادی | منبع تغییرات |
|----------------|-------------------|---------|----------|----------|------------------------|------------|--------------|
| وزن خشک ریشه | وزن خشک بخش هوایی | سطح برگ | طول ریشه | طول ساقه | فعالیت آنزیم پروکسیداز | | |
| ۰/۰۱۷** | ۰/۰۲۲** | ۱/۴۳** | ۳۳/۹** | ۱۸** | ۰/۱۲** | ۴ | نیکل |
| ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۶ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۹ | ۰/۱۲ | ۱۰ | خطا |

* و ** به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار و ns غیر معنی‌دار است.



شکل ۱- مقایسه اثر سطوح مختلف سولفات نیکل در محلول غذایی بر میانگین نیکل بخش هوایی و نیکل ریشه گیاه پونه (*Mentha longifolia L.*). حروف غیر مشترک نشان می‌دهد اثر تیمارهای مختلف بر میزان نیکل بخش هوایی و نیکل ریشه، براساس آزمون دانکن معنی‌دار است.

($P < 0.05$)

کلیه شاخص‌های رشد در سطح آماری یک درصد معنی‌دار است. بر این اساس در ادامه، بررسی و مقایسه تفکیکی این

کلروفیل کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، پروتئین کل بخش هوایی، کربوهیدرات بخش هوایی، و فعالیت آنزیم پراکسیداز و نیز

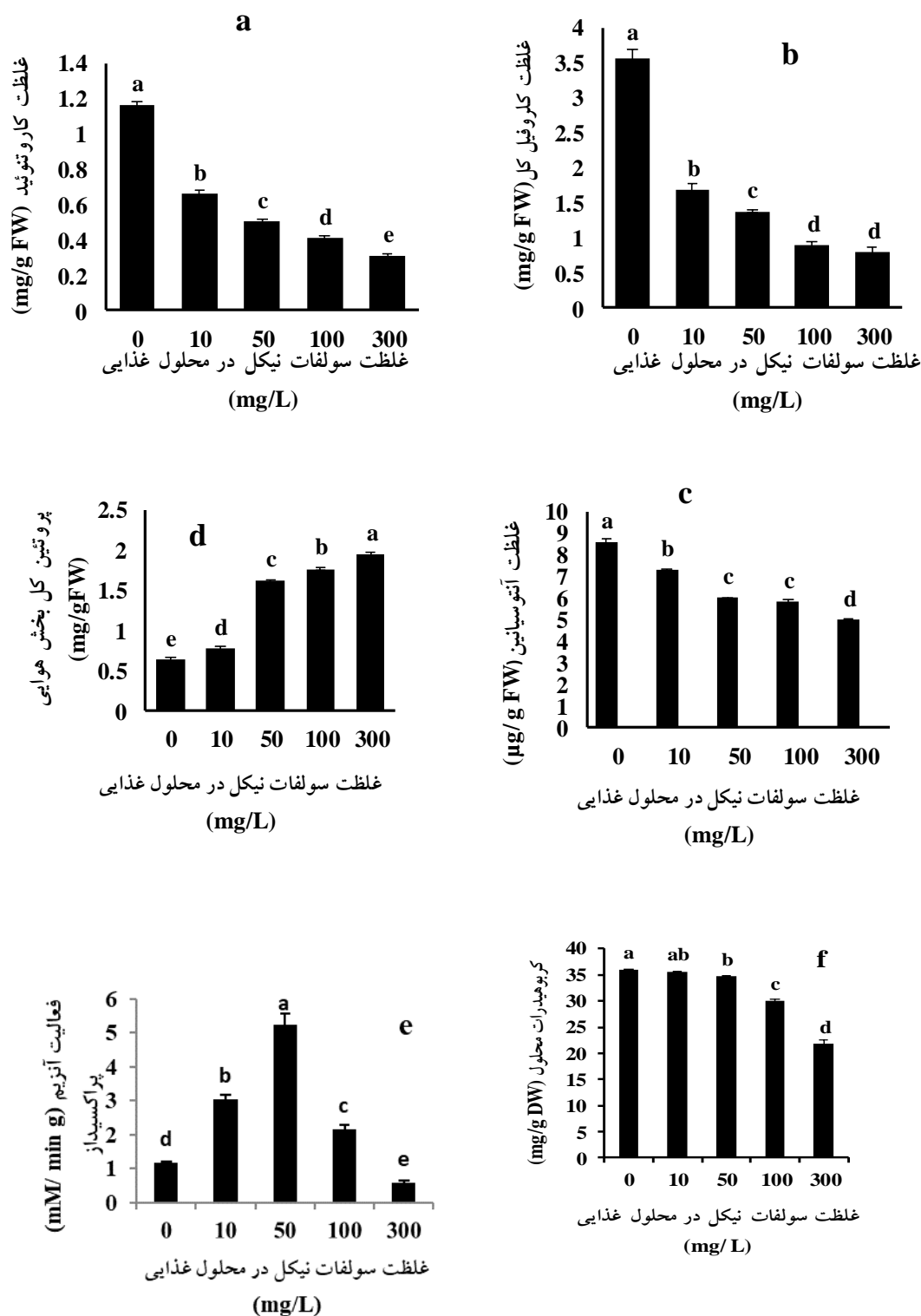
است. بین سطوح ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل با هم و با غلظت‌های بالاتر اختلاف به صورت معنی‌دار بوده است. درحالی‌که اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد بین سطوح ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده نشده است. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار کلروفیل کل (۳/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار آن (۰/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به ترتیب در سطوح صفر و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمد. از جمله فرآیندهایی که تحت تأثیر تنش ناشی از فلزات سنگین قرار می‌گیرد فتوستتوز و رنگیزه‌های فتوستتوزی هستند. نتایج حاصل از بررسی تنش غلظت‌های متفاوت از نیکل، در ذرت نیز نتایج مشابهی داشته و فتوستتوز خالص کاهش یافته و میزان کاهش در غلظت‌های بالاتر و مدت زمان بیشتر تیمار، قابل ملاحظه‌تر بود (Heckathorn *et al.*, 2004). نشان داده شده که میزان کلروفیل کل در برگ‌های گیاه *Phaseolus vulgaris* که در تیمار با شکل معدنی نیکل رشد کرده بودند کاهش یافته است (Monni *et al.*, 2001). کاهش فتوستتوز در تیمار با شکل آلی نیکل در برگ‌های کلم نیز گزارش شده است (Molas, 2002). کاهش محتوای کلروفیل بیانگر افزایش تنش‌های اکسیداتیو است لذا می‌تواند ناشی از پراکسیداسیون غشای کلروپلاست توسط نیکل باشد (Prasad and Freitas, 2003). همچنین ممکن است نتیجه ممانعت از فعالیت آنزیم‌های مسئول در بیوستتوز کلروفیل باشد. نیکل با جلوگیری از جذب عناصر ضروری مثل منیزیم و آهن نیز، می‌تواند از سنتز کلروفیل جلوگیری کنند. از طرف دیگر فلزات سنگین می‌توانند در مراحل مختلف سنتز کلروفیل اختلال ایجاد نمایند که نتیجه آن، کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تنش است (Prasad and Freitas, 2003). همچنین، بیش‌بود فلزات سنگین، با ایجاد محدودیت در لیگاندهای پروتئینی، N-S سبب تخریب دستگاه فتوستتوز می‌شوند، بنابراین فعالیت کلروفیل‌افزایش و منجر به تخریب کلروفیل می‌شود (Sharma and Dubey, 2005). نتایج حاصل از این تحقیق نیز، بیانگر کاهش چشمگیر در مقدار کلروفیل برگ است.

اثرات به عمل آمده است (شکل‌های ۱ تا ۳). شکل a و b اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر غلظت نیکل بخش هوایی گیاه پونه را نشان می‌دهد، همان‌طوریکه مشاهده می‌شود افزایش غلظت نیکل سبب افزایش غلظت نیکل بخش هوایی و نیکل ریشه گردیده است. بین اثر سطوح ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سولفات نیکل بر تجمع نیکل بخش هوایی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

اثر فلز سنگین نیکل بر میزان تجمع این فلز در ریشه و اندام هوایی گیاه پونه نشان داد که، با افزایش غلظت نیکل در محلول غذایی، انباشتگی این فلز در هر دو اندام افزایش معنی‌دار است. اما انباشتگی غلظت نیکل در ریشه نسبت به بخش هوایی بیشتر بوده است. این نتایج با گزارش‌های سایر پژوهشگران مطابقت دارد (Parida *et al.*, 2003) مشخص شده است به دلیل محدودیت مسیر سیمپلاست برای جذب فلزاتی از قبیل نیکل، سرب، کادمیوم و آرسنیک، تجمع فلز در ریشه نسبت به بخش هوایی بیشتر بوده است (Kim *et al.*, 2005). همچنین نشان داده شده است که، غلظت نیکل موجود در گیاه با غلظت آن در خاک و محیط ارتباط مستقیم دارد (Peralta-Videa *et al.*, 2004).

شکل ۲a، اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر مقدار کاروتنوئید گیاه پونه را نشان می‌دهد. همان‌طوریکه مشاهده می‌شود افزایش غلظت نیکل از حدود غلظت ۱۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب کاهش معنی‌دار غلظت کاروتنوئید شده است. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار کاروتنوئید (۱/۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن (۰/۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به ترتیب در سطوح صفر و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمد. اختلال در فتوستتوز می‌تواند سبب کاهش سایر رنگیزه‌ها از جمله کاروتنوئیدها گردد که در این پژوهش نیز چنین بوده است.

شکل ۲b، اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر محتوای کلروفیل کل گیاه پونه را نشان می‌دهد. همان‌طوریکه مشاهده می‌شود افزایش غلظت نیکل از حدود ۱۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب کاهش غلظت کلروفیل کل (۷۷ درصد) نسبت به شاهد گردیده



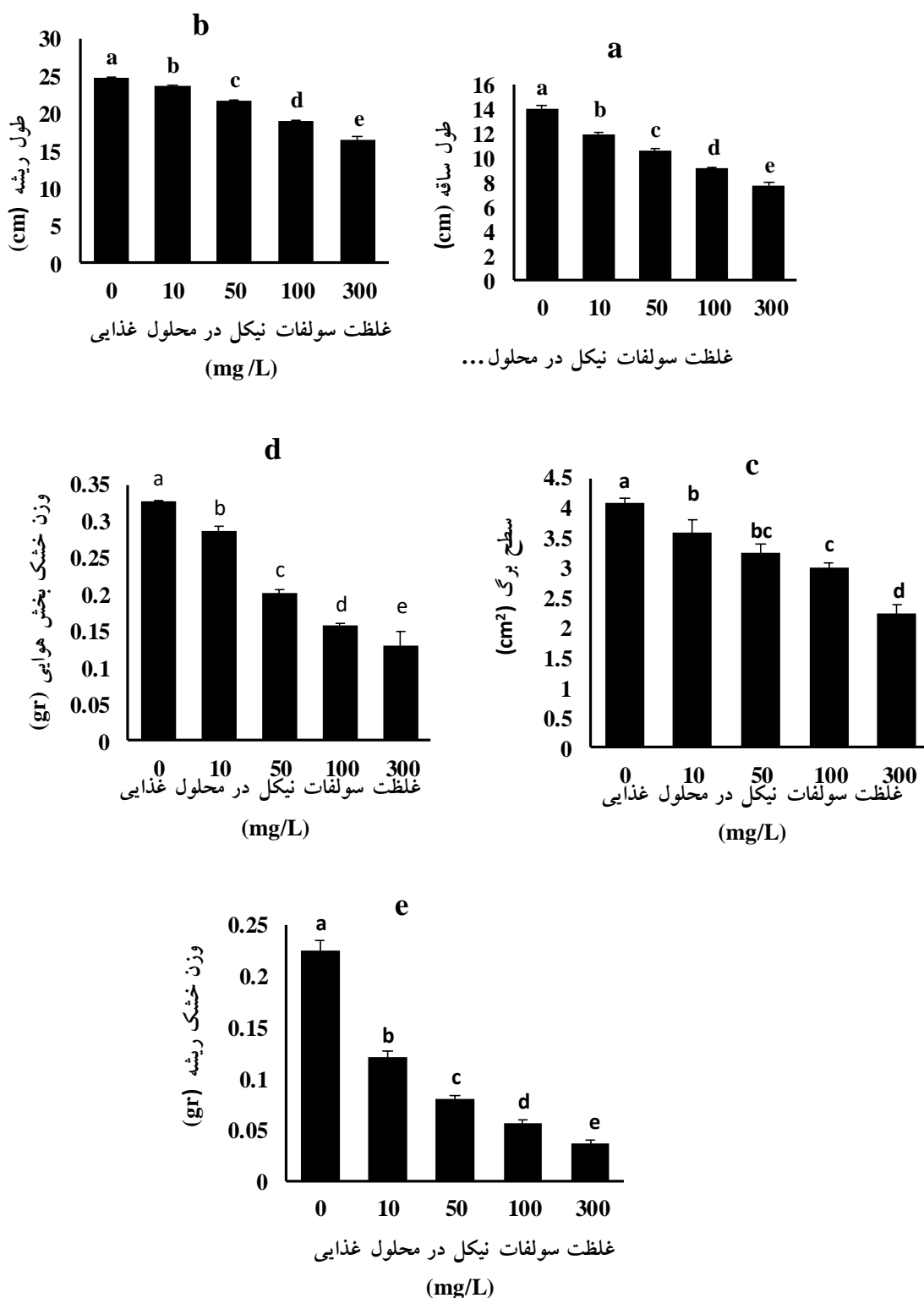
شکل ۲- مقایسه اثر سطوح مختلف سولفات نیکل در محلول غذایی بر میانگین غلظت کاروتنوئید (a)، کلروفیل کل (b) و آنتوسیانین (c)، پروتئین کل بخش هوایی (d)، فعالیت آنزیم پراکسیداز (e)، کربوهیدرات محلول بخش هوایی (f) گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.) حروف غیرمشترک نشان می‌دهد اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های مورد نظر، براساس آزمون دانکن معنی‌دار است ($P \leq 0.05$).

شکل ۲e، اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه پونه را نشان می‌دهد. همان طوریکه مشاهده می‌شود غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد گردیده است، درحالی‌که غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل سبب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز شده است. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل به بالاترین حد (۵/۲۳ میلی‌مولار بر دقیقه بر گرم) و در غلظت ۳۰۰ به کمترین (۰/۶ میلی‌مولار بر دقیقه بر گرم) حد خود رسیده است. همچنین بین اثر سطوح مختلف نیکل (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) اختلاف در سطح ۵ درصد معنی‌دار بوده است. بنابراین تأثیر کاربرد نیکل بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در مرحله رشد رویشی این گیاه، بسته به غلظت مورد استفاده متفاوت بوده است. در این پژوهش نیکل در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش و در غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب کاهش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با شاهد شد. به نظر می‌رسد آنزیم پراکسیداز برای از بین بردن گونه پراکسید هیدروژن تولید شده در اثر افزایش غلظت نیکل تا ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش پیدا می‌کند و در ادامه فعالیت آن در اثر شرایط تنش ناشی از سمیت دوباره کاهش یافته است. تأثیر طولانی‌مدت فلزات سنگین ابتدا سبب القا و افزایش فعالیت آنزیم‌ها به خصوص پراکسیدازها و بعد از آن سبب کاهش فعالیت می‌گردد (Qadir et al., 2004).

شکل ۲f، اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر غلظت کربوهیدرات محلول بخش هوایی گیاه پونه را نشان می‌دهد، همان طوریکه مشاهده می‌شود افزایش غلظت نیکل سبب کاهش غلظت کربوهیدرات بخش هوایی (۳۹ درصد) گردیده است. سطوح ۱۰ و ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل سبب کاهش غلظت کلروفیل نسبت به تیمار شاهد شده‌اند. این اختلاف در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبوده ولی اختلاف این دو تیمار (۱۰ و ۵۰) با سطوح ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به صورت معنی‌دار

شکل ۲c، اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر غلظت آنتوسیانین گیاه پونه را نشان می‌دهد. همان طوریکه مشاهده می‌شود افزایش غلظت نیکل از ۱۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب کاهش غلظت آنتوسیانین (۴۱ درصد) گردیده است. بین اثر سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل بر این شاخص اختلاف معنی‌دار وجود ندارد درحالی‌که اختلاف این دو تیمار با سایر تیمارها (۱۰ و ۳۰۰) در سطح پنج درصد به صورت معنی‌دار است. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار آنتوسیانین (۸/۵۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن (۴/۹۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) به ترتیب در سطوح صفر و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمد. آنتوسیانین‌ها در مکانیسم دفاعی گیاه در شرایط تنش نقش ایفا می‌کنند، لذا کاهش آنها در این پژوهش می‌تواند نشان‌دهنده عدم مقاومت گیاه پونه در برابر غلظت‌های بالای نیکل باشد.

شکل ۲d، اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر پروتئین کل بخش هوایی گیاه پونه را نشان می‌دهد. همان طوریکه مشاهده می‌شود افزایش غلظت نیکل سبب افزایش غلظت پروتئین کل (۶۷ درصد) گردیده است. سطوح ۱۰ و ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل به صورت خطی سبب افزایش مقدار پروتئین کل نسبت به تیمار شاهد شده‌اند و اختلاف بین آنها در سطح ۵ درصد به صورت معنی‌دار بوده است. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار پروتئین کل بخش هوایی (۱/۹۴۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن (۰/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به ترتیب در سطوح ۳۰۰ و صفر میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمد. یکی از دلایل افزایش محتوای پروتئین می‌تواند ناشی از افزایش سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی باشد. همچنین یک سری دیگر از پروتئین‌هایی که در پاسخ به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابند، پروتئین‌های شوک گرمایی هستند. این پروتئین‌ها براساس جرم مولکولی تقسیم‌بندی می‌شوند و وظیفه محافظت و ترمیم پروتئین‌های تحت شرایط تنش را برعهده دارند (Feder and Hofmann, 1999).



شکل ۳- مقایسه اثر سطوح مختلف سولفات نیکل در محلول غذایی بر میانگین طول ساقه (a)، طول ریشه (b)، متوسط سطح برگ (c)، وزن خشک بخش هوایی (d) و وزن خشک ریشه (e) گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.). حروف غیرمشترک نشان می‌دهد اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های مورد نظر، براساس آزمون دانکن معنی‌دار است ($P \leq 0.05$).

بوده است. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار کربوهیدرات محلول (۳۵/۹۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و

به‌طورکلی، تیمار نیکل باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد گیاه پونه گردید. این نتایج با گزارش‌هایی مبنی بر کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاه برنج تحت تیمار غلظت فلز نیکل مطابقت دارد (Molas and Bara, 2004). کاهش در وزن خشک ریشه و بخش هوایی نیز به‌طور مستقیم به کاهش رشد هر دو اندام مربوط است، زیرا رشد مستقیماً بر وزن تر گیاه تأثیر می‌گذارد. ریشه‌ها به عنوان سطوح جذب کننده آب و مواد غذایی تأثیر بسیار زیادی در جذب آب و املاح گوناگون دارند و عوامل مختلف محیطی از طریق تأثیر بر ریشه بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارند. تنش فلزات سنگین از جمله عوامل محدود کننده رشد ریشه‌هاست که به دنبال آن فعالیت‌های رشدی گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. بنابراین، عدم گسترش مناسب سیستم ریشه-ای باعث کاهش سطح جذب کننده مواد غذایی، تغییر در ساختار غشای یاخته‌ای و کاهش جذب محتوای آب می‌شود که این امر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تعرق، تنفس و فتوسنتز اثر گذاشته و در نهایت موجب کاهش رشد در سایر قسمت‌های گیاه و از جمله کاهش زی‌توده گیاه می‌شود (Verma and Dubey, 2001). به‌طورکلی ایجاد تغییر در مورفولوژی ریشه در اثر افزایش غلظت نیکل و تغییر ساختار ریشه باعث کاهش جذب مواد غذایی شده و کاهش رشد و وزن خشک گیاه را به دنبال دارد (Fuentes et al., 2006). غلظت‌های سمی نیکل سبب کاهش رشد گیاه، جلوگیری از توسعه سیستم ریشه و بافت‌مردگی برگ، تخریب مولکول کلروفیل و کاهش فتوسنتز و تنفس گیاه و همچنین آسیب اکسیداتیو می‌شود. اولین نشانه ایجاد خسارت اکسیداتیو در گیاهان، پراکسیداسیون لیپیدها است که در نتیجه آن انسجام غشای سلولی از بین رفته و به‌دنبال آن نفوذپذیری غشا افزایش می‌یابد (Asada, 1999). در حضور غلظت‌های زیاد فلزات سنگین، از جمله نیکل، پراکسیداسیون لیپیدها عامل مهم کاهش رشد گیاه است. کاهش انشعابات فرعی ریشه گیاه در اثر افزایش غلظت نیکل، تغییر رنگ ریشه و کاهش قطر ریشه از جمله اثرات دیگر نیکل بر گیاه است (Arduini et al., 1994).

کمترین آن (۲۱/۸۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) به‌ترتیب مربوط به سطوح صفر و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است. علت کاهش کربوهیدرات در غلظت‌های بالای نیکل که در این پژوهش نیز مشاهده گردید می‌تواند کاهش فتوسنتز یا تحریک سرعت تنفس باشد (Ahmad et al., 2009). همان طوریکه در شکل a و b نمایان است، تیمار نیکل سبب کاهش طول ساقه این گیاه (تا حدود ۴۵ درصد) و کاهش طول ریشه این گیاه (تا حدود ۳۳ درصد) نسبت به شاهد گردیده است. بیشترین طول ساقه (۱۴/۰۸ سانتی‌متر) و کمترین آن (۷/۷۳ سانتی‌متر) به ترتیب در سطوح ۳۰۰ و صفر میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمده است. بیشترین طول ریشه (۲۴/۷۵ سانتی‌متر) و کمترین آن (۱۶/۵۸ سانتی‌متر) نیز، به ترتیب در سطوح ۳۰۰ و صفر میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمده است. علاوه بر این، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد، بین اثر سطوح مختلف تیمار (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر شاخص‌های مورد نظر نسبت به شاهد، مشاهده گردید.

همان طوریکه در شکل c نمایان است، افزایش میزان نیکل سبب کاهش سطح برگ این گیاه نیز، نسبت به شاهد گردیده است. بیشترین سطح برگ (۴/۰۸ سانتی‌متر) و کمترین آن (۲/۲۵ سانتی‌متر) به ترتیب در سطوح ۳۰۰ و صفر میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمده است. علاوه بر این، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد، بین سطوح ۱۰ و ۵۰ و سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل مشاهده نشده است درحالی‌که اختلاف تیمارهای مذکور نسبت به شاهد و تیمارهای ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر معنی‌دار بوده است.

مطابق شکل d و e، افزایش میزان نیکل سبب کاهش وزن خشک بخش هوایی و ریشه این گیاه نسبت به شاهد گردیده است. بیشترین وزن خشک بخش هوایی (۰/۳۲۸ گرم) و کمترین آن (۰/۱۲۹ گرم) به ترتیب در سطوح ۳۰۰ و صفر میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمده است. بیشترین مقدار وزن خشک ریشه (۰/۲۲۵ گرم) و کمترین آن (۰/۰۳۶۷ گرم) نیز، به ترتیب در سطوح ۳۰۰ و صفر میلی‌گرم بر لیتر نیکل بدست آمده است.

به‌طورکلی با بررسی اثر نیکل بر شاخص‌های رویشی و فیزیولوژیک گیاه پونه در این پژوهش مشاهده شد این گیاه قادر به مقاومت به تنش نیکل نبوده و گزینه مناسبی برای گیاه‌پالایی و زدودن مقادیر مازاد نیکل محیط نمی‌باشد. همچنین با توجه به حساسیت این گیاه به تنش نیکل، می‌تواند به عنوان گیاه شاخص (اندیکاتور) آلاینده‌ی نیکل محیط باشد.

بررسی نتایج حاصل نشان داد که سطوح مختلف غلظت نیکل، تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ریشه و اندام هوایی شامل وزن خشک ریشه و اندام هوایی، طول ریشه، طول ساقه و سطح برگ پونه داشت و با افزایش غلظت نیکل، مقدار کمی تمامی صفات فوق الذکر، به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافتند.

نتیجه‌گیری

منابع

امیدبیگی، ر. (۱۳۸۴) تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد اول، دانشگاه تربیت مدرس. مشهد، انتشارات آستان قدس رضوی.
 قادری‌فر، ف.، سلطانی، ا. و صادقی‌پور، ح. ر. (۱۳۹۳) تغییرات بیوشیمیایی طی زوال بذرهای کدوی تخم‌کاغذی. پراکسیداسیون لیپید و صدمات غشا. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران ۶: ۹۶-۱۱۲.
 مهدویان، ک.، قربانلی، م.، منوچهری کلانتری، خ. و محمدی، غ. (۱۳۸۵) تأثیر باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر عوامل فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی فلفل (*Capsicum annuum* L.). مجله زیست‌شناسی ایران ۳: ۴۸-۴۳.

- Adriano, D. C. (2001) Trace elements in Terrestrial Environments; Biochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. Springer-Verlag. New York.
- Ahmad, M. S. A., Hussain, M., Ashraf, M., Ahmad, R. and Ashraf, M. R. (2009) Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Pakistanian Journal of Botany* 41: 1871-1882.
- Angelova, V., Ivanov, K. and Ivanova, R. (2006) Heavy metal content in plants from family Lamiaceae cultivated in an industrially polluted region. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 11: 37-46.
- Arduini, I., Godbold, D. L. and Onnis, A. (1994) Cadmium and copper change root growth and morphology of *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* seedlings. *Physiologia Plantarum* 92: 675-680.
- Asada, K. (1999) The water cycle in chloroplast: Scavenging of oxygen's dissipation of excess photons. *Plant Physiology* 50: 675-680.
- 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.
- Boominathan, R. and Doran, P. M. (2002) Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertolonii*. *New Phytologist* 156: 205-215.
- Chapin, M. F. and Kennedy, G. F. (1987) Carbohydrate analysis. *Lloydia* 22: 111-115.
- Dixon, N. E. (1975) Effect of nickel on plant water relations and growth in green gram. *Indian Journal of Plant Physiology* 18: 372-376.
- Feder, M. E. and Hofmann, G. E. (1999) Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and ecological physiology. *Annual Review in Physiology* 61: 243-282.
- Fuentes, D., Disante, K. L., Valdecantos, A., Cortina, J. and Vallejo, V. R. (2006) Response of *Pinus halepensis* Mill. Seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three Mediterranean forest soils. *Environmental Pollution* 1-8.
- Gajewska, E., Sklodowska, M., Slaba, M. and Mazur, J. (2006) Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll content in wheat shoots. *Biological Plantarum* 50: 653-659.
- Ghosh, M. and Singh, S. P. (2005) A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Environmental Management* 40: 719-726.
- Heckathorn, S. A., Mueller, J. K., LaGuidice, S., Zhu, B., Barrett, T., Blair, B. and Dong, A. (2004) Chloroplast small heat-shock proteins protect photosynthesis during heavy metal stress. *American Journal Botany* 91: 1312-1318.
- Kabata-Pendias, A. (2001) Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, London.
- Kim, T., Yoon, J., Cho, H., Lee, W. B., Kim, J., Song, Y. H., Kim, S. N., Yoon, J. H., Kim-Ha, J. and Kim, Y. J. (2005) Down regulation of lipopolysaccharide response in *Drosophila* by negative crosstalk between the AP1 and NF-kappa B signaling modules. *Nature Immunology* 6: 211-218.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.

- Lozak, A. and Soltyk, K. (2002) Determination of selected trace elements in herbs and their influence. *Science of the Total Environment* 289: 33-40.
- Madhava Rao, K. V. and Sresty, T. V. (2000) Antioxidative parameters in the seedlings of Pigeon pea (*Cajuns Cajun* (L.) Mill) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Science* 157: 113-128.
- Molas, J. (2002) Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni (II) complexes, *Environment Journal of Experimental Botany* 47: 115-126.
- Molas, J. and Baran, S. (2004) Relationship between the chemical form of nickel applied to the soil and its uptake and toxicity to barley plants (*Hordeom vulgare* L.) *Geoderma* 122: 247-255.
- Monni, S., Uhlig, C., Junttila, O., Hansen, E. and Hynynen, J. (2001) Chemical composition and ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to above ground element application. *Environmental Pollution* 112: 417-426.
- Nieminen, T., Ukonmaanaho, M., Rausch, L. and Shoty, N. (2007) Nickel and its release into the environment. *Science Biogeochemistry* 2: 1-30.
- Parida, B. K., Chhibba, I. M. and Nayyar, V. K. (2003) Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. *Scientia Horticulturae* 98: 113-119.
- Peralta-Videa, J. R., De la Rosa, G., Gonzalez, J. H. and Gardea-Torresdey, J. L. (2004) Effects of the growth stage on the heavy metal tolerance of alfalfa plants. *Advances in Environmental Research* 8: 679-685.
- Prasad, M. N. V. and Freitas, H. M. D. (2003) Metal hyperaccumulation in plants—biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electron Journal of Biotechnology* 93: 285-321.
- Qadir, M. and Oster, J. D. (2004) Crop and irrigation management strategies for saline sodic soils and waters aimed at environmental sustainable agriculture. *Science of the Total Environment*, Elsevier Press 19.
- Resende, M. L.V., Nojosa, G. B. A., Cavalcanti, L. S., Aguilar, M. A. G., Silva, L. H. C. P., Perez, J. O., Andrade, G. C. G., Carvalho, G. A. and Castro, R. M. (2002) Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar- *S*-methyl (ASM). *Plant Pathology* 51: 621-628.
- Seregin, I. V. and Kozhevnikova, A. D. (2006) Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 53: 257-277.
- Sharma, R. K. and Madhulika, A. (2005) Biological effects of heavy metals, an overview. *Environmental Biology* 26: 301-313.
- Tu, C., Ma, L. Q. and Bondada, B. (2002) Arsenic accumulation in the hyperaccumulator Chinese Brake (*Pteris vittata* L.) and its utilization potential for phytoremediation. *Journal Environment Quality* 31: 1671-1675.
- Verma, S. and Dubey, R. (2001) Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biological Plantarum* 44: 117-123.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.

Investigation of nickel effect on growth parameters, pigments content, soluble carbohydrates, total protein, nickel accumulation and peroxidase enzyme activity of *Mentha longifolia* L.

Samira Taghavi¹, Asemaneh Tahmaseb*¹, Mohsen Movahedi Dehnavi²

¹Department of Biology, Faculty of Science, Yasouj University, Yasouj, Iran

²Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

(Received: 19/09/2017, Accepted: 13/12/2022)

Abstract

Heavy metals, including nickel, are among the most important pollutants. Ni as a micronutrient is essential for plants, however, with increasing concentrations of nickel in the environment, excess of this element is accumulated in plants and causing toxicity. Phytoremediation is a biotechnology, using plants to remove or reduce environmental pollutants. In this study, to evaluate the nickel phytoremediation potential and accumulation, the effects of different levels of nickel on some growth and development characteristics of *Mentha longifolia* L., were studied. Various concentrations of nickel (0, 10, 50, 100 and 300 mg/l) were treated in hydroponic culture, and in this condition, the plant potential for nickel tolerance and nickel effects on some physiological and morphological characteristics of *M. longifolia* were evaluated. Experiments were conducted in a completely randomized design. Results analysis showed that characteristics including: shoot and root length, leaf area, shoot and root dry weight, total chlorophyll, carotenoid, anthocyanins and soluble carbohydrates content of the plant were reduced by increasing the concentration of nickel in nutrient solution but total protein and shoot and root nickel content increased. Overall, based on evaluating of the effects of nickel on vegetative and physiological characters of *M. longifolia*, in this study, it can be acknowledged that the plant was not resistance to nickel stress, and was not suitable for phytoremediation and removing excess amounts of nickel in the environment. Also, due to the sensitivity of the plant to nickel stress, it can be counted as an indicator of environmental nickel pollution.

Key words: *Mentha longifolia*, Growth characteristics, Heavy metal, Phytoremediation, stress resistance.

Corresponding author, Email: asemaneh@yu.ac.ir