بررسی اثر آنتیموان (Sb-EDTA) در رشد و میزان کلروفیل گیاه هندوانه (*Citrullus lanatus*)

مریم سادات عراقی شهری (۱)، مهرداد لاهوتی (۲)، فرشته قاسم زاده (۳)، حمید اجتهادی (۴)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی (فیزیولوژی گیاهی)، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، ۳- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، ۴- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

سمیت آنتیموان (Sb) و آلودگی آن در محیط در سال های اخیر به دلیل کاربرد در مصارف صنعتی افزایش یافته است. این فلز سنگین برای گیاهان، حیوانات و انسان در غلظت بالا سمی می باشد. با توجه به فراوانی Sb در مناطق صنعتی تاثیر غلظت های مختلف آن در *Citrullus lanatus* بررسی گردید. غلظت های ۰،۱۰،۲۰، ۳۰،۴۰و۵۰ میلی گرم در لیتر Sb-EDTA به محیط هیدروپونیک اضافه شد. بعد از دو هفته، نمونه های گیاهی جهت سنجش کلروفیل خام و برخی پارامترهای رشد مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج پژوهش نشان داد که آنتیموان بر وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، طول ساقه و طول ریشه موثر بود و همه آنها را کاهش داد، اما بر نسبت ساقه به ریشه اثر معنی داری نداشت. آنتیموان به طور معنی داری سبب کاهش مقدار کلروفیل خام در بافت های برگ گیاهان تحت تیمار (۰/۶۰ mg/gleaf ،۵۰mg/l)نسبت به گیاهان شاهد (۳/۱۳mg/gleaf)شد. اما حتی غلظت های کم آن نیز کلروفیل خام را به شدت کاهش داد.

مقدمه

آنتیمونی عنصری است شبه فلز وکمیاب که به مقدار کم (در حدود ۰/۳-۰/۲ میلی گرم در کیلوگرم) در پوسته زمین وجود دارد. کانی های آن اغلب به صورت سولفیدها و اکسیدها می باشند. اگر چه فلز سنگین آنتیموان در محیط زیست وجود دارد اما به دلیل استفاده از آن در مصارف صنعتی، دفاعی و پزشکی مصرف آن رو با افزایش است. میزان آنتیموان با رشد اقتصاد جهانی افزایش یافته است، که منجر به افزایش غلظت های Sb در خاک ها و آب های طبیعی شده است، که می تواند روی گیاهان، حیوانات و انسان ها تاثیر بگذارد. آنتیموان یک عنصر غیر ضروری برای گیاهان و حیوانات است.در مقایسه با دیگر عناصر کمیاب، Sb در خاک ها نسبتا متحرک است که احتمال ورود به زنجیره غذایی را از طریق جذب گیاهی افزایش می دهد. مشخص شده است که در گیاهان این عنصر حتی بیشتر از مقداری که در خاک وجود دارد تجمع می یابد. مقدار این عنصر در درختان و درختچه هایی که در خاک های دارای آنتیموان زیاد زندگی می کند به حد 7-50mg/kg هم می رسد. حال آن که حد معمولی آنتیموان در برگ های درختان در گستره 10-27 µg/kg است (٤).

مواد و روش ها

بذرهای سالم گیاه هندوانه پس از شستشو، به مدت ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ ضدعفونی شدند. سپس بذرها به مدت ٢٤ ساعت در آب خیسانده شده و به خزانه منتقل شدند. بذرها تا زمان جوانه زدن در تاریکی و دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و پس از آن به روشنایی منتقل شدند. برای بررسی غلظت های مختلف آنتیموان بر گیاه هندوانه از کشت هیدروپونیک استفاده شد. گیاهچه های هندوانه به محلول غذایی هوگلند منتقل شدند. سه روز پس از انتقال گیاهچه ها به محیط کشت هیدروپونیک، آنتیموان به صورت شلات با EDTA (Sb-EDTA) در غلظت های صفر ، ۱۰،۲۰،۳۰،۴۰ و ۵۰ میلی گرم در لیتر اضافه شد. pH محلول با KOH در محدوده ٦-۵/۸ تنظیم شد. تعویض محلول ها هفته ایی یک بار انجام شد. گیاهان بعد از دو هفته برداشت شدند. طی دوره رشد، فتوپریود شامل ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی و دما ٣٢-

۲۸ درجه سانتی گراد بود. پس از برداشت، وزن تر و وزن خشک اندام های هوایی و ریشه، طول ساقه و ریشه اندازه گیری شد. استخراج کلروفیل از برگ با کمک استن ۸۰ ٪ انجام شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتیریفوژ شد و جذب نوری در طول موج ٦٥۲ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد.

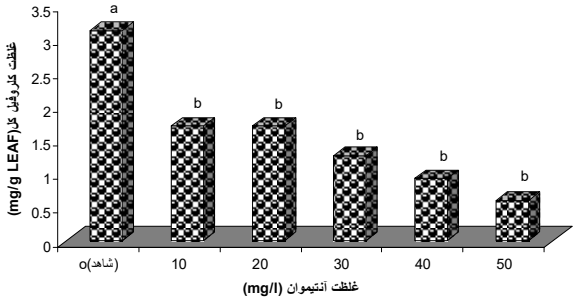
مقدار کلروفیل خام بر حسب میلی گرم کلروفیل در گرم برگ طبق فرمول آرنون[1] مطابق رابطه زیر بدست آمد:

میلی گرم کلروفیل خام در گرم برگ، که V= حجم محلول کلروفیلی، W= وزن برگ (گرم) A= جذب نوری رنگیزه، می باشند. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد.

$$A(652) / 34/5 \times V/W =$$

نتایج و بحث

با افزایش غلظت آنتیموان در محیط، غلظت کلروفیل خام کاهش می یابد به طوری که در نمودار۱ مشاهده می شود. نمونه های شاهد بیشترین مقدار کلروفیل را دارا بودند، اما با وجود آنتیموان مقدار کلروفیل خام به طور قابل ملاحظه ای بدون توجه به غلظت آنتیموان کاهش یافت، بطوریکه بین نمونه های تیمار شده با آنتیموان تفاوت معنی داری مشاهده نشد. کاهش میزان کلروفیل و ترکیبات فتوستنزی در برابر تنش فلزات سنگین به اثبات رسیده است (۲). تمام فلزات سنگین بازدارنده های فتوسیستم ۲ هستند، در حالیکه فتوسیستم ۱ کمتر به فلزات سنگین حساس است (۳).



نمودار۱. اثر غلظت های مختلف آنتیموان بر کلروفیل خام

اثر غلظت های مختلف آنتیموان بر وزن تر ریشه در سطح احتمال ٥٪ معنی دار بود. مقایسه میانگین وزن تر ریشه در غلظت های مختلف آنتیموان نشان داد که با افزایش غلظت آن به ٥۰mg/l (۰/۲٦ گرم) در محیط کشت کاهش معنی داری در وزن تر ریشه نسبت به گیاهان شاهد (۰/۸٥ گرم) دیده شد (جدول۱). وزن خشک ریشه گیاهان تیمار شده با غلظت های مختلف آنتیموان نیز با افزایش غلظت Sb(III) (از ۰/۰۷ گرم در نمونه های شاهد به ۰/۰٤ گرم در نمونه های تحت تیمار ٥۰mg/l) کاهش یافت. وزن تر ساقه نیز تحت تأثیر غلظت آنتیموان قرار گرفت و به شدت (۲/٤٥گرم در نمونه های تحت تیمار ٥۰mg/l) نسبت به نمونه های شاهد (٤/۱٦ گرم) کاهش یافت. همچنین با افزایش غلظت آنتیموان وزن خشک ساقه نسبت به نمونه های شاهد کاهش یافت (جدول۱). در صورتی که طبق جدول مقایسه میانگین با افزایش غلظت آنتیموان تفاوت معنی داری در نسبت ساقه به ریشه گیاهان تیمار شده در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده نشد.

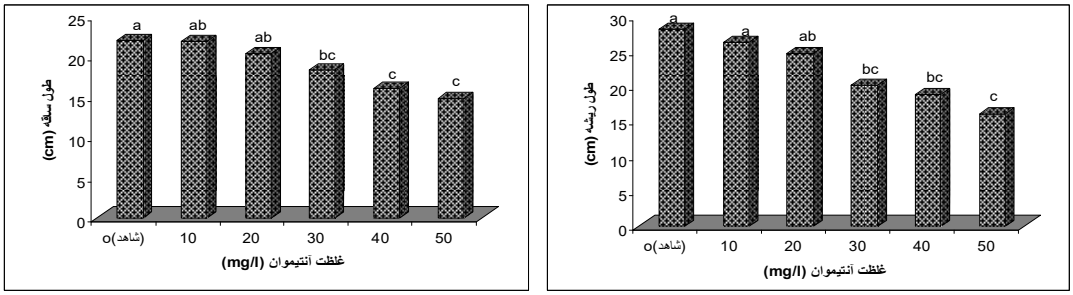
[1] 0Arnon

جدول۱. بررسی اثر غلظت های مختلف آنتیموان بر برخی پارامترهای رشد

تیمار	نسبت ساقه/ریشه	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ساقه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)
شاهد	۰/۸۷a	۰/۸۵a	۰/۰۷a	٤/۱٦a	۰/۳۱a
10mg/l	۰/۸٤a	۰/۸۰a	۰/۰٦ab	۳/۳٤۳ab	۰/۲٤b
20mg/l	۰/۸۳a	۰/۷۰ab	۰/۰٦ab	۳/۱٤ab	۰/۲۲bc
30 mg/l	۰/۹۲a	۰/۵۹ab	۰/۰۵ab	۲/۹۲b	۰/۲۰cd
40 mg/l	۰/۸۷a	۰/٤۷bc	۰/۰٤b	۲/۵۷b	۰/۱۹d
50 mg/l	۰/۹٤a	۰/۲٦c	۰/۰٤ab	۲/٤۵b	۰/۱٦e

***در هر ستون میانگین هایی که دارای حرف مشترک هستند از نظر آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نمی باشند.**

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می شود، تغییرات طول ساقه و ریشه تحت تاثیر آنتیموان سه ظرفیتی بود، و با افزایش غلظت آنتیموان تفاوت معنی داری در کاهش طول ساقه و طول ریشه گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده گردید. بطوریکه طول ساقه در نمونه های شاهد ۲۲/۰۰cm و در نمونه های تیمار شده با ۵۰mg/l آنتیموان به ۱٤/۸۳cm و طول ریشه در نمونه های شاهد ۲۸/۳۳cm و در نمونه های تیمار شده با ۵۰mg/l آنتیموان به ۱٦/۰۰cm کاهش یافت. هی و یانگ (۱۹۹۹)، با تیمار گیاه برنج با آنتیموان (III) در یافتند که این یون پارامتر های رشد را از جمله طول ساقه، ریشه و نسبت آنها تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش آنها شده است.



نمودار۱. اثر غلظت های مختلف آنتیموان بر طول ساقه و طول ریشه

منابع

He M. and Yang J. (1999), Effect of different forms of antimony on rice during the period of germination and growth and antimony concentration in rice tissue, The Science of the Total Environment 243/244,149-155.

Manios, T., Stentiford, E.A. and Millner, P.A. (2003). The effects of heavy metals accumulation on chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in a substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferus water. Echological Engineering, 20: 65-74.

Maschner, R., Lippmann, B., Holzinger, S. and Bergmann, H. (2002), Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molcules and enzymes in red clover. Plant. Sci, 163: 961-969.

Tschan M., Robison B. and Schulin R. (2008), Antimony uptake by *Zea mays*(L) and *Helianthus annuus* (L) from nutrient solution, Environ Geochem Health, 30: 187-191.

Study on the effect of Sb-EDTA on growth and chlorophyll content in Citrullus lanatus

M.S. Araghi shahri[1*], M. Lahouti[2], F. Ghasemzadeh[3], H, Ejtehadi[4]

[1]M.Sc. Student, Dept. of Plant physiology, Faculty of sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, [2]Prof.Dept. of Plant physiology, Faculty of sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran,Prof.Dept. of Plant physiology, [3]Associate prof. Dept. of Plant physiology, Faculty of sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, [4]Prof.Dept. of Plant physiology, Faculty of sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Abstract

Antimony (Sb) toxicity and contamination in the environment has become a growing concern in recent years because of its industrial uses. This heavy metal is toxic for plants, animals and human at high concentrations. With increasing Sb in industrial areas, was investigated, effect of antimony differents concentrations on *Citrullus lanatus*. Antimony was applied as Sb-EDTA in Hoagland's nutrient solution at 0 (control), 10, 20, 30, 40 and 50 mg/l concentrations. Two weeks later, plant samples were assessed for measurement of total chlorophyll and some growth parameters. Results showed antimony was affect on fresh and dry weight of sprout and root, sprout and root length and they declined, but it had no significant difference on sprout/root ratio. Antimony significantly caused to decrease total chlorophyll rate in leaf tissues of treated plants (in 50mg/l, 0.60mg/gleaf) than control plants (3.13mg/gleaf), but even low concentration decreased total chlorophyll extremely.

Key words: Antimony, toxicity, total chlorophyll, growth parameters, watermelon