بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته
زیست شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی

بررسی اثرپیش تیمار آرژینین در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از فلز سنگین نیکل در گیاه بنگدانه *(hyoscyamus niger)*

مولف:
طیبه حیدری

اساتید راهنما:
دکتر زهرا اسرار
دکتر فاطمه نصیبی

استاد مشاور:
دکتر حکیمه منصوری

بهمن ماه ۱۳۹۰

این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط درجه کارشناسی ارشد به

بخش زیست شناسی
دانشکده علوم
دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچ‌گونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دورهٔ مزبور شناخته نمی‌شود.

دانشجو: طیبه حیدری

اساتید راهنما: خانم دکتر زهرا اسرار و خانم دکتر فاطمه نصیبی

استاد مشاور: خانم دکتر حکیمه منصوری

داور۱: دکتر میترا مهربانی

داور۲: دکتر بتول کرامت

معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده: دکتر عباس نژاد

حق چاپ، محفوظ ومخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.

تقدیم به:

تقدیم به روح پدر و خواهرم:

که عالمانه به من آموختند تا چگونه در عرصه زندگی ایستادگی را تجربه کنم.

تقدیم با بوسه بر دستان مادرم:

او که سجده ایثارش گل محبت را در وجودم پروراند و دامان گهربارش لحظه های مهربانی را به من آموخت.

تقدیم به برادر عزیزم:

که وجودش شادی بخش و مایه دلگرمی من است.

تقدیم به همسر مهربانم:

او که اسطوره زندگی ام، پناه خستگی ام و امید بودنم است.

تشکّر و قدردانی:

سپاس بیکران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و بـه طریـق علـم و دانـش رهنمونمـان شـد و بـه همنشـینی رهـروان علـم و دانـش مفتخرمـان نمـود و خوشـه چینـی از علـم و معرفـت را روزیمـان ساخت.اعتراف می کنم که نه زبان شکرش را دارم و نه تـوان تشـکر از بنـدگانش را، و امـا بـر حسـب وظیفه از کلیه اساتید ارجمندم در طول سالهای به یاد ماندنی شاگردیشان تشکر می نمایم.

از استاد عزیزم سر کار خانم دکتر نصیبی که دلسوزانه و در کمال سعه صدر همواره راهنما و راهگشای من در اتمام و اکمال پایان نامه بوده است و از هیچ کمک و محبتی در این عرصه بر من دریـغ ننمـوده است صمیمانه سپاسگذارم.

با تشکر خالصانه از اساتید گرانقدر و بزرگوارم سرکار خانم دکتر اسرار و سرکار خانم دکتر منصوری که مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نمودند.

از داورین ارجمند سرکار خانم دکتر مهربانی و سرکار خانم دکتر کرامت که بـا قبـول نظـارت علمـی خود بر اعتبار این پایان نامه افزوده اند سپاسگذارم.

با امتنان بی کران از مساعدت های بی شائبه تمامی اساتید گروه زیست شناسی به خصوص خانم دکتـر پورابولی و تمامی کارکنان بخش زیست‌شناسی.

با سپاس بی دریغ از دانشجویان دکتری، آقایان مظفری، علوی، جعفری، زارع و خانم نادرنژاد که مـرا صمیمانه و مشفقانه یاری داده اند.

از کلیه دوستان هم دوره خود خانم‌ها سالاری، رحمتی، اسدی، شیخ بهایی، قطبی، خواجویی، اقدامی، محمدی‌پور و آقایان کاووسی، محبوب القلوب وخسروی صمیمانه تشکر می کنم.

در پایان از خانواده عزیزم و همه فرشتگانی که بالهای محبت خود را گسترانیدند و با تحمـل دشـواری ها، سبب شدند تا در کمال آسودگی خیال و فراغت بال، شوق آموختند در من زنده بماند سپاسگذارم و این نیست جز جلوه ای از لطف و رحمت پروردگاری که از ادای شکر حتی یک نعمت او ناتوانم.

چکیده:

آلودگی فلزات سنگین یک مشکل جهانی است و دارای اهمیت فراوانی است. فلزات سنگین در فرآیندهای زندگی گیاهان از دو لحاظ اکولوژی و فیزیولوژی نقش بزرگی دارند. نیکل به عنوان سازنده اوره آز و به مقدار کم برای گیاهان ضروری است اما افزایش نیکل در خاک ممکن است باعث ایجاد سمیت در گیاه شود. در این پژوهش اثر پیش تیمار آرژینین در تخفیف تنش اکسیداتیو ناشی از نیکل در گیاه بنگ دانه مورد مطالعه قرار گرفت. در این بررسی گیاهان ابتدا با غلظت های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار آرژینین پیش تیمار شدند و سپس تحت تاثیر غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار نیکل در شرایط هیدروپونیک قرار گرفتند، و اثرات آنها بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی و مورفولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که وقتی گیاه بنگ دانه تحت تنش نیکل قرار می گیرد، مقدار کلروفیل، کاروتنوئید و ثبات پایداری غشا کاهش می یابد اما مقدار پراکسید هیدروژن، ترکیبات فنلی، قندهای محلول و فعالیت آنزیم های LOX، PAL، CAT، APX، GPX افزایش می یابد. پیش تیمار گیاهان با آرژینین، ثبات و پایداری غشا را افزایش و فعالیت LOX رادر گیاهان تحت تنش کاهش داد. در این بررسی رنگیزه های فتوسنتزی تحت تاثیر نیکل کاهش معنی داری را نشان دادند اما پیش تیمار گیاهان با آرژینین محتوی رنگیزه های فتوسنتزی را افزایش داد. مقدار پرولین و قندهای محلول در برگ و ریشه گیاهان تحت تنش نیکل افزایش یافت و پیش تیمار با آرژینین باعث کاهش مقدار پرولین در ریشه و برگ گیاهان شاهد و تحت تیمار شد. پیش تیمار با آرژینین در برگ تاثیر معنی داری بر مقدار قندهای محلول نداشت اما در ریشه باعث کاهش مقدار قند در گیاهان شاهد و تحت تیمار شد. در این پژوهش همچنین پیش تیمار با آرژینین باعث کاهش میزان پراکسید هیدروژن در گیاهان شاهد و تحت تیمار گردید. فعالیت آنزیمهای CAT و GPX در گیاهان تحت تنش در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش نشان داد. فعالیت آنزیم APX در برگها افزایش، اما در ریشه تغییر معنی داری تحت تیمار نیکل نداشت. پیش تیمار با آرژینین باعث کاهش فعالیت آنزیم های APX، CAT و GPX گردید. کاربرد نیکل باعث افزایش تجمع نیکل در اندام هوایی و ریشه گیاه بنگ دانه شده است و تجمع نیکل در ریشه ها نسبت به اندام هوایی بیشتر بوده است. پیش تیمار با آرژینین باعث افزایش مقدار نیکل در برگ ها گردید اما در ریشه تاثیر معنی داری بر مقدار نیکل نداشت. از بررسی های انجام شده در این مطالعه به نظر می رسد که آرژینین و محصولات متابولیسم آن شامل نیتریک اکسید و پلی آمین ها در تخفیف تنش نیکل نقش موثری داشته اند. البته برای تعیین

اینکه دقیقا این اثرات مربوط به کدام ترکیب بوده مطالعات بیشتر در آینده لازم است. به علاوه در این بررسی مشاهده شد که آرژینین مشابه هیستیدین که در مقالات قبلی به عنوان شلاتور نیکل گزارش شده بود، می تواند انتقال نیکل از ریشه به اندام هوایی را تسهیل کند.

کلمات کلیدی: نیکل، آرژینین، بنگ دانه، آنزیم های آنتی اکسیداتیو، پراکسیدهیدروژن

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه

۱-۱- فلزات سنگین..... ۲

۱-۱-۱- نیکل..... ۳

۱-۱-۲- منابع آلودگی..... ۳

۱-۱-۳- جذب نیکل به وسیله گیاهان..... ۴

۱-۱-۴- انتقال نیکل در گیاهان..... ۵

۱-۱-۵- پراکندگی نیکل در بافت های گیاهان..... ۶

۱-۱-۶- اثر نیکل بر رشد و مورفوژنی گیاهان..... ۷

۱-۱-۷- تاثیر نیکل بر تغذیه معدنی..... ۸

۱-۱-۸- تاثیر نیکل بر فتوسنتز..... ۹

۱-۱-۹- گونه های تجمع دهنده نیکل..... ۱۰

۱-۱-۱۰-نقش نیکل در ایجادتنش اکسیداتیو در گیاهان..... ۱۱

۱-۱-۱۱-فعالیت سیستم های دفاع آنزیمی..... ۱۲

۱-۱-۱۲-فعالیت سیستم های دفاع غیرآنزیمی..... ۱۳

۱-۲-آرژینین..... ۱۵

۱-۲-۱- بیوسنتز آرژینین در گیاهان..... ۱۵

۱-۲-۲- متابولیسم آرژینین..... ۱۷

۱-۲-۳- نیتریک اکسید (NO)..... ۱۸

۱-۲-۴- پلی آمین ها..... ۱۹

۱-۲-۵- پرولین..... ۲۰

۳-۱- اهمیت گیاهان دارویی..... ۲۲

۱-۳-۱- مطالعات گیاه شناسی..... ۲۳

۱-۳-۲- جایگاه گیاه در طبقه بندی گیاهی..... ۲۳

۱-۳-۳- ویژگی های گیاه بنگ دانه..... ۲۴

۱-۳-۴- خواص درمانی بنگ دانه..... ۲۴

۵-۱- هدف از انجام پژوهش..... ۲۵

فصل دوم: مواد و روشهای آزمایشگاهی

۲-۱- تهیه و انتخاب بذرهای مورد پژوهش..... ۲۷

۲-۲- بررسی جوانه زنی دانه گیاه در تیمارهای مختلف..... ۲۷

۲-۳- کشت گیاه..... ۲۷

۲-۴- نحوه اعمال تیمارها..... ۲۸

۲-۵- مطالعات مرفولوژیکی..... ۲۸

۲-۵-۱- اندازه گیری شاخص پایداری غشا (MSI)..... ۲۸

۲-۶- مطالعات بیوشیمیایی..... ۲۹

۲-۶-۱- اندازه گیری مقدار رنگیزه های گیاهی..... ۲۹

۲-۶-۱-۱- سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید..... ۲۹

۲-۶-۱-۲- سنجش محتوای پلی فنل کل..... ۳۰

۲-۶-۱-۲-۱- تهیه عصاره گیاهی..... ۳۰

۲-۶-۱-۲-۲- رسم منحنی استاندارد..... ۳۰

۲-۶-۲- اندازه گیری مقدار پرولین..... ۳۰

۲-۶-۲-۱- تهیه عصاره..... ۳۱
۲-۶-۲-۲- تهیه معرف..... ۳۱
۲-۶-۲-۳- روش اندازه گیری پرولین..... ۳۱
۲-۶-۲-۴- رسم منحنی استاندارد..... ۳۱
۲-۶-۳- اندازه گیری مقدار پراکسید هیدروژن..... ۳۲
۲-۶-۳-۱- منحنی استاندارد..... ۳۲
۲-۶-۴- اندازه گیری قندهای محلول بااستفاده از معرف آنترون..... ۳۲
۲-۶-۴-۱- تهیه عصاره..... ۳۲
۲-۶-۴-۲- تهیه معرف..... ۳۲
۲-۶-۴-۳- روش اندازه گیری..... ۳۳
۲-۶-۴-۴- رسم منحنی استاندارد گلوکز..... ۳۳
۲-۷- سنجش فعالیت آنزیمها..... ۳۳
۲-۷-۱- تهیه عصاره پروتئینی..... ۳۳
۲-۷-۲- سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیداتیو..... ۳۳
۲-۷-۲-۱- سنجش فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز (LOX)..... ۳۳
۲-۷-۲-۲- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)..... ۳۴
۲-۷-۲-۳-۱- رسم منحنی استاندارد آب اکسیژنه..... ۳۴
۲-۷-۲-۴- سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX)..... ۳۴
۲-۷-۲-۵- سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX)..... ۳۴

۲-۷-۳- سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز..... ۳۵
۲-۷-۳-۱- سنجش فعالیت آنزیم..... ۳۵
۲-۷-۳-۲- رسم منحنی استاندارد..... ۳۵
۲-۷-۴- سنجش مقدار پروتئین کل به روش برادفورد..... ۳۶
۲-۷-۴-۱- تهیه معرف بیوره..... ۳۶
۲-۷-۴-۲- رسم منحنی استاندارد..... ۳۶
۲-۸- تعیین میزان یون نیکل در اندام هوایی و ریشه به روش جذب اتمی..... ۳۶
۲-۹- آنالیز آماری..... ۳۷

فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج حاصل از اثر تنش نیکل و آرژینین بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاه بنگ دانه..... ۳۹
۳-۱-۱- شاخص پایداری غشاء..... ۳۹
۳-۱-۲- میزان کلروفیل a..... ۴۰
۳-۱-۳- میزان کلروفیل b ۴۱
۳-۱-۴- میزان کلروفیل کل..... ۴۲
۳-۱-۵- میزان کاروتنوئیدها..... ۴۳
۳-۱-۶- میزان پلی فنل کل..... ۴۴
۳-۱-۷- میزان پرولین برگ و ریشه..... ۴۵
۳-۱-۸- میزان قندهای محلول برگ و ریشه..... ۴۷
۳-۱-۹- میزان پراکسید هیدروژن برگ و ریشه..... ۴۹

۳-۲- نتایج حاصل از اندازه گیری فعالیت آنزیم ها در برگ و ریشه گیاه بنگ دانه..... ۵۱
۳-۲-۱- میزان فعالیت آنزیم لیپواکسیژنازبرگ و ریشه..... ۵۱
۳-۲-۲- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ و ریشه..... ۵۳
۳-۲-۳- میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه..... ۵۵
۳-۲-۴- فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ و ریشه..... ۵۷
۳-۲-۵- میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز..... ۵۹
۳-۲-۶- میزان پروتئین برگ و ریشه..... ۶۰
۳-۲-۷- تجمع فلز سنگین نیکل در برگ و ریشه گیاه بنگ دانه..... ۶۲

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱- رنگیزه های فتوسنتزی..... ۶۵
۴-۲- فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز و شاخص پایداری غشاء..... ۶۶
۴-۳- ترکیبات پلی‌فنلی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز..... ۶۸
۴-۴-پرولین..... ۶۹
۴-۵- کربوهیدرات‌های محلول..... ۷۰
۴-۶-پروتئین..... ۷۱
۴-۷- پراکسیداسیون هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو CAT و GPX و APX..... ۷۳
۴-۸- تجمع فلز سنگین نیکل در برگ و ریشه گیاه بنگ دانه..... ۷۶
نتیجه گیری کلی..... ۷۸

پیشنهادات.....۷۹

منابع.....۸۱

فصل اول

مقدمه

۱-۱- فلزات سنگین:

آلودگی فلزات سنگین یک مشکل جهانی است و دارای اهمیت فراوانی است. فلزات سنگین در فرآیندهای زندگی گیاهان از دو لحاظ اکولوژی و فیزیولوژی نقش بزرگی دارند (Alloway, 1990). سمیت فلزات سنگین زمانی اتفاق می افتد که فلز مربوطه بتواند از خاک وارد سیستم ریشه ای گیاه شود. گیاهان نسبت به فلزات سنگین دارای حساسیت متفاوت و استراتژی های متفاوتی می باشند. میزان سمیت فلزات سنگین در گیاهان مختلف متناسب با عواملی مانند مقدار فلز موجود در خاک، میزان جذب فلز توسط گیاه و مقدار جابه جایی آن در اندامهای گیاهی، تغییر می کند (Prasad, 1997).

سمیت فلزات سنگین به سه دلیل اصلی است:

۱. بر همکنش مستقیم فلزات با پروتئین ها که به علت میل ترکیبی آنها به سوی گروههای تیول، هیستیدین و کربوکسیل پروتئینها است و باعث اتصال فلزات به ساختار هدف[1] پروتئینها می گردد و در نهایت جایگاههای کاتالتیکی و انتقال سلول را اشغال می نماید.

۲. تحریک تولید گونه های فعال اکسیژن[2] که باعث تغییر در دفاع آنتی اکسیدانی سلول و ایجاد تنش اکسیداتیو می گردد.

۳. فلزات، جایگزین کاتیونهای اختصاصی بخش های ضروری و جایگاه های باند شونده سلول می شوند و باعث از بین رفتن عملکرد سلولی می گردند (Sharma and Dietz, 2008).

راه کارهای گیاه برای مقابله با سمیت فلزات سنگین شامل دو مکانیسم زیر است.

۱- اجتناب: جلوگیری از رسیدن فلز به جایگاه هدف، مثل جلوگیری از ورود فلز به ریشه ۲- مقاومت: فرآیندهایی نظیر سنتز پروتئین ها، فیتوکلاتین ها انباشته کردن و بی حرکت کردن فلزات، کلاته کردن و کده بندی (Prasad 1997).

[1] -Target
[2] - Reactive oxygen species (ROS)

دفع کردن و انباشته کردن فلز از راه کارهای مهم گیاه در پاسخ به فلزات سنگین می باشد (Prasad, 1997). گیاهان می توانند فلزات را با افزایش pH ریزوسفر یا توسط خروج آنیونهایی مثل فسفات رسوب دهند (Reichman, 2002). یک جزء گسترده فلزات در ریشه گیاهان در فضای آزاد آپوپلاستی یافت می شود. سطح بالای تجمع فلز در سطح مشترک دیواره و غشاء پلاسمایی به عنوان یک جایگاه مقاومت فلزی پیشنهاد می شود (Reichman, 2002). واکوئل یکی از مکانهای اصلی کده بندی درون سلولی است، که فلزات اضافی در آنجا مصادره شده و نمی توانند با ترکیبات سلولی از نظر متابولیکی واکنش دهند در نتیجه نوعی مقاومت سلولی حاصل می شود (Reichman, 2002).

کلاته کننده ها ترکیباتی هستند که با فلزات سنگین در مجاورت ریشه کمپلکس داده و آنها را از دسترس گیاه خارج ساخته و سمیت را کاهش می دهند. اسیدهای آلی به عنوان کلاته کننده های احتمالی مطرح اند (Reichman, 2002).

۱-۱-۱- نیکل:

یکی از مهمترین فلزات سنگین از لحاظ سمیت در گیاهان و حیوانات نیکل است (Zdenek, 1999). برای نخستین بار کانی شناس سوئدی Axel cronstedt نیکل را در سال ۱۷۵۱ شناسایی کرد. نیکل، عدد اتمی ۲۸ و جرم اتمی ۵۸/۷۱ را در جدول تناوبی به خوداختصاص داده است (sunderman, 1991). در میان فلزات سنگین نیکل از جایگاه خاصی برخوردار است. بر خلاف cd^{2+}، pb^{2+}، Hg^{2+}، Ag^{2+} و دیگر فلزاتی که جزء ترکیبات آنزیمهای گیاهی نمی باشند، نیکل جزء ساختار اوره آز است و کاهش آن باعث غیرفعال شدن اوره آز می شود، اما مقدار مصرف آن برای گیاه بسیار کم است. در بعضی از لگومها مقدار کم نیکل برای رشد گره های ریشه و فعالیت آنزیم هیدروژناز ضروری است (seregin and kozhevnikovaz, 2005). اما افزایش نیکل در خاک ممکن است باعث ایجاد سمیت در گیاه شود.

۱-۱-۲- منابع آلودگی:

به علت افزایش آلودگی و صنعتی شدن شهرها، گیاهان تحت بازه وسیعی از موادی هستند که باعث آلودگی آب، خاک و هوا می شوند. جوامع صنعتی، ذرات معلق در هوا و آلاینده های متشکل از فلزات سنگین را تولید می کنند، رسوب فلزات سنگین در خاک و اثر آنها بر روی پوششهای گیاهی

می تواند بسیاری از پارامترهای مربوط به رشد و نمو گیاهان را تحت تاثیر قرار دهد و مانع فعالیت بسیاری از واکنشهای آنزیمی و متابولیکی در گیاهان شوند (Boycu *et al* .,2006).

عمده ترین منابع رها سازی نیکل به خاک مربوط به فعالیت های صنعتی است که شامل معدن کاوی، استخراج فلزات، عملیات ذوب و پالایش، تخلیه فاضلاب، انهدام زباله، استفاده زیاد از کودهای آلی و معدنی، آفت کش ها و حشره کش ها است (Seregin and Kozhevnikova, 2005). به طور میانگین میزان نیکل در خاک ۲ تا ۷۵۰ mg/kg متغیر است و حداکثر میزان آن در خاکهای سرپنتین گزارش شده است (Sigle and singh, 1986).

۱-۱-۳- جذب نیکل به وسیله گیاهان:

مسیر اصلی جذب نیکل از خاک به وسیله ریشه گیاهان است. بعضی از فلزات که در خاک تجمع می یابند با ترکیبات آلی باند شده و در دسترس گیاه قرار نمی گیرند و تنها یونهای فلز می توانند وارد ریشه شوند(Cuiyun *et al*., 2009). جذب نیکل توسط گیاه به غلظت نیکل (cataldo *et* ., 1987 *al*)، متابولیسم گیاه (Aschmann and Zasoski, 1978)، اسیدیته خاک و حلالیت (kukier, 2004)، حضور دیگر فلزات (podar *et al* ., 2004)، مقدار مواد آلی موجود در خاک و دما (Jeaṇ 2008) بستگی دارد. قابلیت دسترسی به نیکل معمولاً در pH بالای محلول خاک کاهش می یابد، برای مثال جذب نیکل توسط *Lathyrue sativus* در pH= ۵ افزایش و در pH= ۸ کاهش می یابد (2007 panda *et al*.,). جذب نیکل توسط *Datura innoxi* با به کار بردن EDTA در سطح خاک افزایش می یابد (Jean, 2008) به علاوه گزارش شده که فاکتورهای دیگری روی جذب نیکل می تواند اثر کنند مانند طول فصل، روش کاشت دانه و خاصیت ژئوشیمی خاک (Antoniadis *et al*., 2008). ترکیبات حل شده نیکل می توانند توسط سیستم انتقال کاتیون جذب شوند. در واقع نیکل برای جذب با دیگر یونهای فلزی رقابت می کند. به طور مثال ترکیبات نیکل می توانند توسط سیستم انتقال یون Mg^{2+} جذب شوند زیرا نسبت بار/اندازه این دو یون شبیه هم است (Oller *et al* ., 1997).

یونهای Cd^{2+} , Co^{2+},Pb^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} می توانند از جذب نیکل جلوگیری کنند در میان این یونها Cu^{2+} و Zn^{2+} به عنوان رقابت کننده های قوی و Co^{2+} به عنوان رقابت کننده ضعیفی است (1987 korner *et al*.,). رابطه آنتاگونیست بین Zn^{2+} و Ni^{2+} در *Thlaspi montanum* و بین Ni^{2+} و Mg^{2+} در *Berkheya coddii* گزارش شده است (Boyd and Martens, 1998).یونهای کلسیم در جذب

فلزات سنگین از محلول خاک نقش موثری دارند. Pandolfini و Gobbrielli ثابت نمودند که کلسیم باعث کاهش جذب نیکل در *Alyssum bertotonii* می شود(Gabbrielli and pandolfini, 1984) اما جذب نیکل را در خاکهای سرپنتین افزایش می دهد (Boyd and Martens, 1998). علاوه بر جذب نیکل توسط ریشه ها، نیکل می تواند از طریق برگ وارد گیاه شود. گزارش شده است که وقتی نیکل بر روی برگهای *Helianthus annuus* اسپری شده است، ۳۷% مقدار آن از طریق برگها جذب شده و به دیگر اندامها منتقل می گردد (Temp, 1991).

۱-۱-۴- انتقال نیکل در گیاهان:

نیکل از ریشه ها توسط آوند چوبی به شاخه ها (Peralta-videa, 2002) و برگها (krupa *et* ., 1993 *al*) منتقل می شود این انتقال توسط ترکیبات لیگاند- فلز انجام می شود. شلاته کننده ها پروتئینهایی هستند که به نیکل متصل شده و آنرا به صورت انتقال فعال ثانویه منتقل می کنند. از جمله این شلاته کننده ها می توان به هیستیدین[1](His) و نیکوتین آمین[2](NA) و اسیدهای آلی مثل سیترات و مالات اشاره کرد (Kerkeb and Kramer , 2003 , Douchkov, 2005).

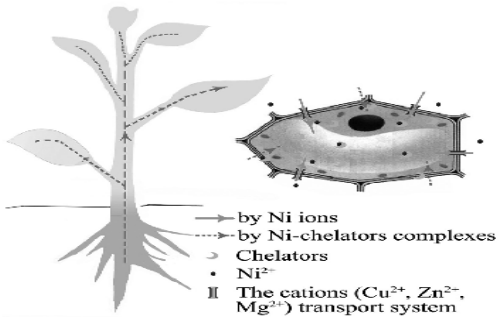

Figure 1. The main pathways of Ni uptake and transport in plants. The chelators include nicotianamine (NA), histidine (His), citrate, organic acids and proteins with various important functions, including permeases, metallothionein (MT), metallochaperones and YS1-like proteins (YSLs).

بررسی نقش هیستیدین در باند شدن به نیکل در گیاهان تجمع دهنده نیکل قابل توجه است در آزمایشی گیاه *Alyssum Lebacum* در محلولی با غلظت ۰/۳میلی مولار، $Ni(No_3)_2$ کشت داده شد و مقدار هیستیدین در گزیلم آن ۳۶ برابر افزایش یافت (Kramer *et al*., 1996). هنگامی که بذر گیاه *Alyssum serpllitolium* به مدت ۶ هفته در محلول $Ni(No_3)_2$ با غلظت ۵۰۰ میکرومولار کشت

[1] Histidine
[2] Nicotianamine

شد بیشترین مقدار نیکل در واکوئلها به شکل مجموعه ای متصل به مالات و سیترات کشف شد در نتیجه نیکل بیشتر به بخش غیرفعال جابه جا شده و مکانیسمی از سمیت زدایی فلز را ایجاد می کند. کمترین مقدار این مجموعه به مقدار ۳/۶% در دیواره سلولی، ۱% در کلروپلاست، ۲۱% در میتوکندری و ۳% در میکروزوم مشاهده گردید (Brooks *et al*., 1981). در گیاه *Thlaspi goesingense* در هفت روز اول که در معرض محلول ۱۰ میکرومولار نیکل قرار گرفته بود مقدار کمپلکس Ni-His افزایش یافت، هیستیدین در این گیاه در مکانیسم سمیت زدایی و تجمع نیکل نقش نداشت اما در جابه جایی و انتقال نیکل موثر بود (Persans *et al*., 1999). اسیدهای آلی مانند اسیدسیتریک و اسید مالیک منبعی از آنیون را برای شلاته کردن نیکل فراهم می کنند و باعث انتقال و جا به جایی نیکل می شوند. در حال حاضر ۳ نوع از متالوچاپرونهای[1] نیکل شامل پروتئینهای Cooj، Ure E وHyeb در باکتریها شناخته شده اند که در انتقال نیکل نقش دارند (Hausinger، 1997). این قابل ملاحظه است که شکلهای انتقال نیکل در گزیلم تحت اثر pH قرار می گیرد. نیکل بیشتر در pH=۵ با سیترات و درpH=۵/۶ با هیستیدین شلاته می شود (Rie son and Feller، 2005). به طور کلی یون فلز با باند شدن در گزیلم منتقل می شود که این انتقال بستگی به سیستم شلاته کننده در گونه گیاهی دارد.

۱-۱-۵- پراکندگی نیکل در بافتهای گیاهان:

در *Thlaspi pindicum* که از خاکهای سرپنتین جمع آوری شده بود و گونه تجمع دهنده نیکل است، نیکل به میزان زیادی در پوشش دانه اطراف میکروپیل، اپیدرم و مقدار کمی نیز در سلول مزوفیل مشاهده شد

(Psaras and Maneta، 2001). تجمع نیکل در اپیدرم برگ *Hybanthus floribundus* نیز گزارش شده است. تجمع نیکل در اپیدرم، نفوذپذیری کوتیکول را کاهش داده و باعث سازگاری گزرومورفیک می شود (Seregin and Kozhevnikova, 2005). گیاه *Sebertia acuminate* نیکل را در بافت ساقه و میوه خود جمع آوری می کند و مقدار آن ۱/۱۵٪ در وزن خشک در آوند آبکش و ۰/۱۳% در آوند چوب گزارش شده است. پراکندگی نیکل در این گیاه بیان می دارد که بافت فلوئم نیکل بیشتری را نسبت به گزیلم جمع آوری می کند (Nabais *et al* ., 1996). Timperley کشف

[1] Metallochaperones

کرد که ۸۷% نیکل جذب شده در سلولهای برگ در سیتوپلاسم و واکوئل، ۹/۹-۸% در کلروپلاست و ۰/۳۲-۲/۸۵% در میتوکندری و ریبوزوم قرار دارند (Timperley *et al.*, 1973). نیکل در ساقه و برگهای *Alyssum bertonii* تجمع بالایی دارد و در سلولهای اپیدرم پراکنده است و در واکوئلها نسبت به سلولهای دیواره بیشتر است (Kupper , 2001). Kramer گزارش کرد که ۶۷ تا ۷۳% نیکل در برگهای *Thlaspi goesingense* با سلولهای دیواره در ارتباط است (Kramer , 2000). ۸۰% از نیکل در ریشه ها در استوانه مرکزی و کمتر از ۲۰% در کورتکس است این پراکندگی بیان می دارد که حرکت بالایی از نیکل در گزیلم و فلوئم وجود دارد (Riesen and feller, 2005).

۱-۱-۶- اثر نیکل بر رشد و مورفوژنی گیاهان:

نیکل از جمله عناصری است که به مقدار کم برای گیاهان ضروری است اگر چه در غلظت زیاد برای گیاهان سمی است اما نشان داده شده است که افزودن Ni-EDTA یک مولار به محلول غذایی گیاه لوبیای چشم بلبلی باعث حذف نقاط نکروزه در برگهای این گیاه شده است (shimada *et al*., 1980). بررسی ها نشان داده که نیکل بر متابولیسم نیتروژن در گیاه نقش موثری دارد و مطالعه بر روی عکس العمل سویا و گوجه فرنگی نیز نتایج فوق را تایید می کند (Shimada *et al*., 1980). با اسپری کردن گیاه پنبه با محلول سولفات نیکل (۲۳۴/۸ mg/kg) تعداد جوانه و گل و سرعت تشکیل دانه روغنی آن ۴/۶٪ افزایش یافت (Andreeva *et al*., 2001). در مقابل در گیاه *phaseolus vulgaris* نیکل از رشد و مورفوژنی ساقه گیاه جلوگیری می کند. این بازدارندگی باعث تغییر ساختار دانه گیاه می شود (Piccini and Malavolta, 1992) همچنین شاخه های رشد کرده گیاه گندم که در غلظت ۰/۲ میلی مولار نیکل قرار داشتند (Gajewska *et al*., 2006) و ریشه های *Nicotiane tabacum* که ۷ تا ۱۰ روز در معرض نیکل با غلظت ۰/۴۳ میلی مولار قرار داشتند، کاهش رشد نشان دادند(2002 Boominathan and Doran,). نیکل علاوه بر اینکه اثر سمی بر روی رشد گیاه دارد ممکن است مورفولوژی و آناتومی گیاه را نیز تغییر دهد.

در گیاه *Triticum Aestivum* مشاهده شده است که غلظت یک میلی مولار $NiSO_4$ باعث کاهش ضخامت مزوفیل و اندازه مجاری آوندی، قطر و عرض مجرا در سلولهای اپیدرمی می شود. نیکل حالت ارتجاعی دیواره سلولی را کم می کند که علت آن پیوند مستقیم فلز با پکتین و افزایش فعالیت پراکسیداز در دیواره سلولی و فضای درون سلولی می باشد. پراکسیداز برای لیگنینی شدن ضروری