Research Article

Nova Biologica Reperta 8(2): 118-129 (2021)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.8.2.118

مقاله پژوهشی

یافته‌های نوین در علوم زیستی

جلد ۸، شماره ۲، صفحات ۱۱۸ الی ۱۲۹ (۱۴۰۰)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

اثرات فلز سنگین جیوه بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی توتون

ملیحه فرجادی و اکبر نورسته نیا

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

مسئول مکاتبات: ملیحه فرجادی، malihefarjadi@webmail.guilan.ac.ir

چکیده. یکی از تنش‌های غیرزیستی مهمی که روی گیاهان تأثیر منفی می‌گذارد، تنش فلزات سنگین است. آلودگی خاک با فلزات سنگین با پیشرفت و توسعه صنایع و مصرف کودهای شیمیایی حاوی عناصر سنگین به عنوان یکی از دغدغه‌های زیست محیطی عمده در جوامع بشری تبدیل شده است. جیوه یکی از فلزات سنگین و سمی است که سبب آلودگی زمین‌های زراعی می‌شود. تجمع جیوه در گیاهان، بسیاری از اعمال سلولی را مختل و رشد و نمو را متوقف می‌سازد. در چنین شرایطی سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی گیاهان فعال می‌شوند. سیستم‌های دفاعی متعددی در فائق آمدن گیاهان در شرایط تنش زا با یکدیگر همکاری می‌نمایند. هدف این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف جیوه بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت سیستم‌های دفاعی غیرآنزیمی در توتون (*Nicotiana tabacum*) است. پس از کاشت گیاهان با شرایط یکسان در بستر هیدروپونیک و تغذیه گیاهان با محلول هوگلند تیمارهایی با غلظت‌های متفاوت نیترات جیوه (۰/۵، ۱و۳ میلی مولار) همراه با گروه شاهد و همگی در سه تکرار بر روی گیاهچه‌ها اعمال گردید. پس از ده روز اعمال تیمار، گیاهان برای انجام آزمایش‌ها برداشت شدند. نتایج نشان داد که توتون در مواجهه با تنش فلز سنگین جیوه به منظور حفظ فشار اسمزی داخلی از تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین و قندهای محلول کمک می‌گیرد. در صورتی‌که کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ‌ها نشان‌دهنده افزایش آسیب‌های اکسیداتیو است. افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی‌های غیرآنزیمی توتون شامل آنتوسیانین، فنل، فلاونول و فلاونوئید در برگ‌ها می‌تواند از سازوکارهای تحمل در برابر تنش فلز سنگین جیوه باشد.

واژه‌های کلیدی. آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی، پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدهید

The effects of heavy metal mercury on some physiological responsses in *Nicotiana tabacum*

Maliheh Farjadi & Akbar Norastehnia

Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

Correspondent author: Maliheh Farjadi, malihefarjadi@webmail.guilan.ac.ir

Abstract. One of the major abiotic stresses that negatively affects plants is the presence of heavy metals. Soil pollution with heavy metals, resulting from the industrial development and use of fertilizers containing heavy metals, has become a major environmental concern in human societies. Mercury is a toxic heavy metal that causes pollution in agricultural lands. Accumulation of Hg by plants may disrupt many cellular functions and block growth and development. Under such conditions, the enzymatic and non-enzymatic defense systems of plants are activated. Several defense systems are cooperating together in plants to cope with stressful situations. In this study, the effect of different concentrations of mercury on the photosynthetic pigments content and non-enzymatic defence systems in *Nicotiana tabacum* was studied. After planting the plants under the same conditions in the hydroponic medium and feeding the plants with Hoagland solution, treatments with different concentrations of mercury nitrate (0.5, 1 and 3 mM and a control group) were applied to the seedlings in three replications. Ten days after the application of the treatments, the plants were harvested and examined. The results showed that tobacco plants which had been exposed to heavy metal used the accumulation of osmolytes such as proline and soluble sugars in order to balance their osmotic pressure. The decrease in the amounts of photosynthetic pigments and increase in the levels of malondialdehyde in the leaves indicated the elevation of oxidative damage. Increased activity of non-enzymatic antioxidants in tobacco leaves, including anthocyanins, phenol, flavonols and flavonoids, can be interpreted as the mechanisms of resistance to heavy metal stress induced by mercury.

Key words. malondialdehyde, nonenzymatic antioxidants, photosynthetic pigments, proline, soluble sugars

Received 11.08.2020/ Revised 31.10.2020/ Accepted 16.11.2020/ Published 01.07.2021

دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۲۱/ اصلاح: ۱۳۹۹/۰۸/۱۰/ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۲۶/ انتشار: ۱۳۹۹/۰۹/۰۱

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]

[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

مقدمه

توتون با نام علمی *Nicotiana tabacum* L. از تیرهٔ بادنجانیان (Solanaceae)، روزکوتاه، خودگشن و 2n=48 کروموزومی است. این گونه به همراه توتون شرقی (*Nicotiana rustica* L.) و ایرانی (*Nicotiana persica* L.) در ایران کشت می‌شود. مهمترین قسمت توتون از نظر اقتصادی برگ توتون است. در اثر فعالیت‌های انسانی نظیر استخراج معدن و ذوب فلزات، استفاده از کودها، لجن فاضلاب و قارچ‌کش‌های حاوی جیوه به خاک، ورود سالانه جیوه به زمین‌های زراعی و دیگر اکوسیستم‌ها به شدت در حال افزایش است. فلزات سنگین از آلاینده‌های مهم زیست محیطی به‌شمار می‌روند که سلامت انسان، حیوانات و محیط زیست را به‌طور جدی تهدید می‌کنند (Abioye et al, 2013). گزارش شده است که در سال ۲۰۰۰ میلادی متوسط میزان جیوه در سراسر جهان در زمین‌های زراعی حدود ۳۹ کیلوگرم در هر کیلومترمربع بوده است (Han et al., 2002). جیوه به شکل‌های مختلف نظیر HgS Hg^{2+} Hg- متیل دیده می‌شود. اما در خاک‌های کشاورزی به میزان زیادی به شکل یونی آن یعنی Hg^{+2} وجود دارد. این فلز پس از آزاد شدن در خاک در فاز جامد باقی مانده و جذب سولفیدها، ذرات رس و مواد آلی می‌شود (Han et al., 2006). جیوه فلزی است که در مقادیر ناچیز اثر چندانی بر رشد گیاه ندارد، اما در مقادیر زیاد برای گیاه به شدت سمی بوده و سبب اختلال در فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه می‌گردد. عنصر سمی جیوه می‌تواند به پروتئین‌های کانالی آب متصل شده و سبب بسته شدن کانال های آب روزنه‌های موجود در برگ شده که جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازد. همچنین گزارش شده است که Hg^{+2} فعالیت میتوکندری‌ها را متوقف می‌سازد (Zhou et al., 2007). یون‌های جیوه سبب تنش اکسیداتیو شده که به دنبال آن گونه‌های اکسیژن واکنشگر مانند رادیکال سوپراکسید H_2O_2 و (O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH) را در گیاهان تولید می‌کنند. این فرایند سبب آسیب در ساختار لیپیدهای غشایی زیستی شده و متابولیسم سلولی را دچار اختلال می‌کند (Cargnelutti et al., 2006). سلول‌های گیاهی جهت کاهش اثرات منفی انواع اکسیژن فعال تولید شده در سلول از سازوکارهای ویژه‌ای از جمله سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی برخوردار هستند. سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل عوامل آنزیمی و غیر-آنزیمی است. غلظت بالای فلزهای سنگین باعث ایجاد تنش اکسایشی در گیاه شده که از تاثیر زیان‌بار این تنش در گیاهان تولید رادیکال‌های مختلف اکسیژن واکنشگر است که به‌طور معمول با ایجاد آسیب‌های غشایی، فرایندهای یاخته‌ای مختلفی مانند رشد، فتوسنتز و غیره را دچار اختلال می‌کند (Sytar et al., 2013). افزایش کربوهیدرات به‌عنوان یک پیام متابولیکی عمل می‌کند و موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به دفاع و کاهش فتوسنتز می‌شود به‌عنوان مثال قند هگزوز در خاموش کردن ژن‌های فتوسنتز نقش دارد (Kocal et al., 2008). در تنش‌های گوناگون، تجمع پرولین در گیاه پاسخی در برابر القا تنش است و تولید بالای این اسیدآمینه می‌تواند سبب تحمل گیاه در مقابل تنش شود (Theriappan et al., 2011). در گیاهان عالی، تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند تنش فلزات سنگین سبب سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه مشابهی می‌شوند که در گیاه نقش دفاعی دارند. گیاهان در طول تکامل برای سازگاری با محیط زیست خود متابولیت‌های ثانویه را تولید کرده‌اند، زیرا باید خود را با تغییرات محیط وفق داده و در محیط زیستی که دستخوش تغییر شده است، مخصوصاً در تنش‌های محیطی، توانایی بقا را که یک وظیفه اکولوژیکی ضروری برای آن‌ها به‌شمار می‌آید، افزایش دهند (Xiong et al., 2013). تنش فلزات سنگین نیز با توجه به نوع فلز، غلظت فلز در محیط رشد گیاه و زمان اعمال تنش، سبب افزایش (Izbianska et a., 2014; Najafi & Jamei 2014) و یا کاهش (Hawrylak et al., 2007) سنتز متابولیت‌های ثانویه مختلف در گیاهان می‌شود. این تحقیق به بررسی اثر یون فلز سنگین جیوه Hg^{+2} بر رنگیزه‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، ترکیب‌های فنلی، سطوح مالون‌دی‌آلدئید و قندهای محلول پرداخته است. امید است که نتایج به‌دست آمده در این مقاله بتواند به توصیف نقش آنتی-اکسیدان‌های غیرآنزیمی فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و ترکیب‌های فنلی و ارتباط بین آنها در جلوگیری و محدودسازی صدمات ناشی از فلزات سنگین کمک نماید.

مواد و روش‌ها

در این طرح از بذرهای توتون (*Nicotiana tobacum*)، رقم کوکر ۳۴۷ تهیه شده از مرکز تحقیقات دخانیات گیلان استفاده شد. این رقم متعلق به توتون‌های برگ درشت تیپ غربی (ویرجینیا) است که از تلاقی بین کوکر ۳۱۹ و کوکر ۲۵۸ حاصل شده و یک رقم تجاری مناسب با شرایط آب و هوایی استان‌های شمال کشور است. دو هفته پس از کاشت بذر توتون در پتری-دیش‌ها، دانه‌رست‌های به‌دست آمده به محیط کشت هیدروپونیک منتقل و با محلول هوگلند تغذیه شدند (در وضعیت ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، ۶۰-۸۰ درصد رطوبت و ۳۰۰۰ لوکس روشنایی) پس از گذشت ۴۰ روز وقتی اندازه گیاهان به حدود ۲۰ سانتی‌متر رسید درمرحله بعد تیمارهایی با غلظت‌های متفاوت صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۳ میلی‌مولار از نمک فلز سنگین نیترات جیوه تهیه شد و تیماردهی گیاهچه های توتون به مدت ۱۰ روز اعمال شد.

ترکیب محلول هوگلند مورد استفاده عبارت بود از:

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

3mM KNO_3, 2 mM $Ca(NO_3)_2$, 1 mM $NH4H2PO_4$,0.5 mM MgSO4, 20 µM Fe(Na)-EDTA, 1 µM KCl 25µM $H3BO_3$, 2 µM MnSO4, 2 µM $ZnSO_4$, 0.1 µM $CuSO_4$ and 0.1 µM $(NH4)6Mo7O_{24}$

و سپس نمونه برداری انجام گرفت به طوری که از چند گلدان مختلف به طور تصادفی ۶ برگ در فاصله میان‌گره‌های دوم و سوم به عنوان نمونه‌های تنش دیده جدا و داخل فویل قرار داده شد، نمونه‌ها پس از منجمد شدن داخل ازت مایع به فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد منتقل و تا زمان آنالیز نگهداری شدند.

اندازه‌گیری پرولین

مقدار پرولین با استفاده ازمعرف نین‌هیدرین مورد اندازه گیری قرار گرفت (Bates, 1973). در این روش از معرف نین‌هیدرین و اسیداستیک گلاسیال برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم برگرم وزن تر گزارش گردید.

سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها

برای سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید ۰/۵ گرم برگ تر از هر تکرار توزین شده و توسط نیتروژن مایع در داخل هاون چینی آسیاب شد و رنگدانه‌های فتوسنتزی استخراج شدند (Lichtentaler, 1987). شدت جذب محلول به‌دست آمده در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل CamSpec M501 Single Beam UV/Visible در مقابل شاهد قرائت شد. در نهایت برای تعیین مقدار کلروفیل و همچنین کاروتنوئید کل از فرمول‌های زیر استفاده شد.

$$Chl.a= (12.25\ A663–2.79\ A646) \times V/W$$
$$Ch1.b= (21.50\ A646–5.1\ A663) \times V/W$$
$$Chl.T= Chl.a + Chl.b$$
$$Car= (1000\ A470 – 1.82\ Chl.a – 85.02\ Chl.b)/198 \times V/W$$

در این روابط V حجم استون به میلی‌لیتر و W وزن تر برگ بر حسب گرم است. غلظت کلروفیل و کاروتنوئید کل برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ است.

اندازه گیری مالون‌دی‌آلدهید

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از روش (Heat, 1969 Packer &) انجام شد. سپس جذب کمپلکس MDA+TBA در 532 nm قرائت شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در 600 nm تعیین شد و از میزان جذب در 532nm کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی ۱۵۵میلی مولار بر سانتی‌متر استفاده شد و در نهایت مقدار مالون‌دی‌آلدهید که محصول واکنش پراکسیداسیون لیپیدها است، بر اساس نانو گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

اندازه‌گیری فنل کل

سنجش مقدار فنل کل با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu و استاندارد گالیک اسید انجام گرفت (Gao et al., 2013). و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد و غلظت فنل با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد.

اندازه‌گیری آنتوسیانین کل

برای سنجش آنتوسیانین، ۰/۲ گرم از برگ منجمد شده توتون در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل متانول و اسیدکلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱)، خوب ساییده و سپس عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ (rpm) سانتریفیوژ شد. محلول رویی پس از صاف شدن به مدت یک شب در تاریکی قرار داده شد و جذب آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل CamSpec M501 Single Beam UV/Visible خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی $Cm\text{-}1M^{-1}$ 33000 استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر بیان شد (Masukasu et al., 2003).

سنجش فلاونول تام

برای سنجش میزان فلاونول تام در نمونه‌های آماده شده از روش رنگ سنجی با اندکی تغییرات استفاده شد (Venskutonis & Miliauskas, 2004). برای این منظور ۲۵۰ میکرولیتر از هر عصاره استخراج درداخل لوله فالکون ریخته شد. سپس ۱۲۵۰ میکرولیتر آب دیونیزه و ۷۵ میکرولیتر نیتریت‌سدیم ٪۵ به آن اضافه شد. پس از ۶ دقیقه ورتکس و اضافه کردن ۱۵۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ٪۱۰، لوله‌ها مجدداً به مدت ۵ دقیقه ورتکس شدند. در نهایت لوله‌ها با اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر سود ۱ مولار و رساندن آن به حجم ۲۵۰۰ میکرولیتر با آب دیونیزه آماده شدند. بلانک نیز به همین ترتیب با ۲۵۰ میکرولیتر متانول ٪۸۰ به جای عصاره استخراج آماده شد. پس از صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر با بلانک، جذب نمونه در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. جذب نمونه‌های دیگر با جایگزین کردن بدون نیاز به صفر کردن دوباره قرائت شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل

برای سنجش فلاونوئید، ۰/۱ گرم توده سلولی منجمد شده در سه میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسیداستیک به نسبت ۹۹ به ۱)، خوب ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ (rpm) سانتریفیوژ شد. پس از صاف کردن، محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن، توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۷۰،۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت

فلاونوئید، از ضریب خاموشی 33000 $cm^{-1}m^{-1}$ استفاده شد (Krizek et al., 1998).

سنجش قندهای محلول کل برگ

برای اندازه‌گیری قندهای محلول ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه برگ که در فریزر (۷۰- درجه سلسیوس) نگهداری می‌شد را وزن کرده و در هاون کاملا له شد سپس ۵ میلی‌لیتر اتانول ٪۹۵ به آن اضافه و به لوله آزمایش درب‌دار منتقل گردید و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد، سپس به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد، مایع رویی جدا و به لوله درب‌دار به حجم ۱۵ میلی‌لیتر منتقل گردید، سپس دو مرتبه و هر بار ۵ میلی‌لیتر اتانول ٪۷۰ به بخش جامد باقیمانده اضافه و کاملا شست‌وشو شد و مایع رویی جدا و به لوله آزمایش منتقل شده، محلول حاصل در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی و پس از آن ۳ میلی‌لیتر محلول آنترون به لوله‌های آزمایش اضافه شد (۱۵۰ میلی‌گرم انترون حل شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) آنترون باید به تعداد نمونه‌ها به صورت تازه تهیه شود. پس از خنک شدن در محیط آزمایشگاه میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر در مقابل شاهد قرائت گردید (Irigoyen et al., 1992).

تحلیل آماری

برای بررسی آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (۱۶.۰) و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. انحراف از میانگین داده‌ها به‌وسیله خطای استاندارد نشان داده شد. جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 استفاده شده است.

نتایج

براساس نتایج حاصل از اثر تیمار غلظت های مختلف نیترات جیوه بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی، ترکیبات فنلی، مالون دی‌آلدهید، قندهای محلول و پرولین در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار می باشد. بر این اساس درادامه بررسی و مقایسه تفکیکی به عمل آمده است.

مقایسه آماری نتایج نشان داد که میزان Chl a و Chl b و کلروفیل کل برگ ها و میزان کاروتنوئیدها نسبت به نمونه شاهد با افزایش میزان غلظت نیترات جیوه به طور معنی‌داری کاهش یافت. در مورد روند کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی به دنبال افزایش غلظت نیترات جیوه از ۰/۵ میلی مولار تا غلظت ۳ میلی مولار بالاترین میزان رنگیزه‌ها بعد از نمونه شاهد در غلظت ۰/۵ میلی مولار نیترات جیوه مشاهده شد و کمترین مقدار رنگیزه‌ها در نمونه تیمار شده با غلظت ۳ میلی‌مولار نیترات جیوه مشاهده شد. مطابق (شکل۱ A، B، C و D). اثر سطوح مختلف نیترات جیوه بر میزان مالون‌دی‌آلدهید، آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئیدها به طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی داشت به طوری که میزان مالون دی‌آلدهید در غلظت ۳ میلی مولار جیوه بالاترین مقدار را نشان داد و طبق نتایج به دست آمده بالاترین میزان آنتوسیانین و فنل کل و فلاونوئید نیز در غلظت ۳ میلی مولار مشاهده شد مطابق (شکل۲ A، B، C و D). در ادامه بررسی روند تغییرات در میزان فلاونول، پرولین و میزان قندهای محلول نشان داد که تیمار نمونه های تحت تنش جیوه نسبت به نمونه شاهد به طور معنی دار روند افزایشی داشت. مطابق (شکل۳ A، B، C و D).

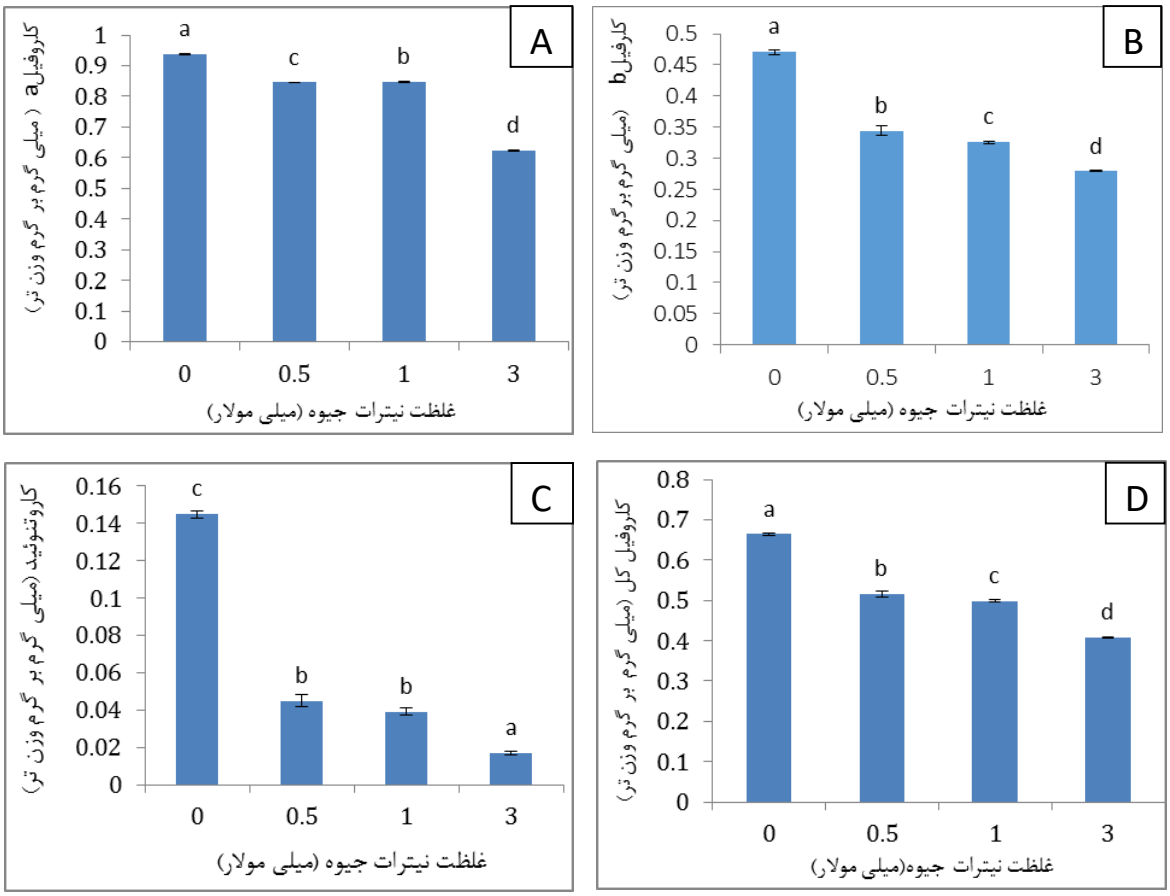
مقایسه آماری نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی، آنتوسیانین، فلاونول، فلاونوئید در نمونه های تیمار شده با غلظت های متفاوت نیترات جیوه افزایش معنی‌داری را نسبت به نمونه‌های شاهد نشان دادند به طوری که با افزایش غلظت نیترات جیوه از ۰/۵ تا ۳ میلی مولار، بالاترین میزان این ترکیبات در نمونه‌های تیمار شده در غلظت ۳ میلی مولار نیترات جیوه مشاهده شد.

بحث

حضور فلزات سنگین در منطقه ریزوسفر و ورود آن‌ها به گیاه باعث کاهش رشد شده و متابولیسم سلولی را بر هم می‌زند. بنابراین بر فرایندهای مهمی مانند انتقال آب، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، فتوسنتز و مقدار کلروفیل اثر منفی می‌گذارد (Vitoria et al., 2005). اثرات مستقیم فلزات سنگین بر واکنش‌های نوری فتوسنتز شامل تأثیر بر احیا NADP و فسفریلاسیون نوری و اثرات غیرمستقیم آن بر فرایند سنتز و تجزیه کلروفیل، تغییر در نسبت (Chl a, Chl b) و رقابت با سایر فلزات ضروری است (Aggarwal et al., 2011).

یافته‌های برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فلزات سنگین می‌توانند درغلظت‌های پائین سبب افزایش میزان Chl a و Chl b (John et al., 2008; Ghorbanli & Kiapour, 2012) و در غلظت‌های بالا موجب کاهش این رنگدانه‌ها شوند (John et al., 2009). کاهش میزان کلروفیل کل برگ‌ها در گیاه شوید تحت تیمار کلرید جیوه نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو (Nooraniazad et al., 2010). بر اساس نتایج حاصله، افزایش نیترات جیوه در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۳ میلی‌مولار در محلول غذایی سبب کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها کاهش معنی‌دار میزان Chl a و Chl b و کلروفیل کل و میزان کاروتنوئیدهای برگ‌ها در توتون تحت تیمار نیترات جیوه نسبت به نمونه شاهد را نشان داد به‌طوری‌که با افزایش غلظت از ۰/۵ میلی‌مولار

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

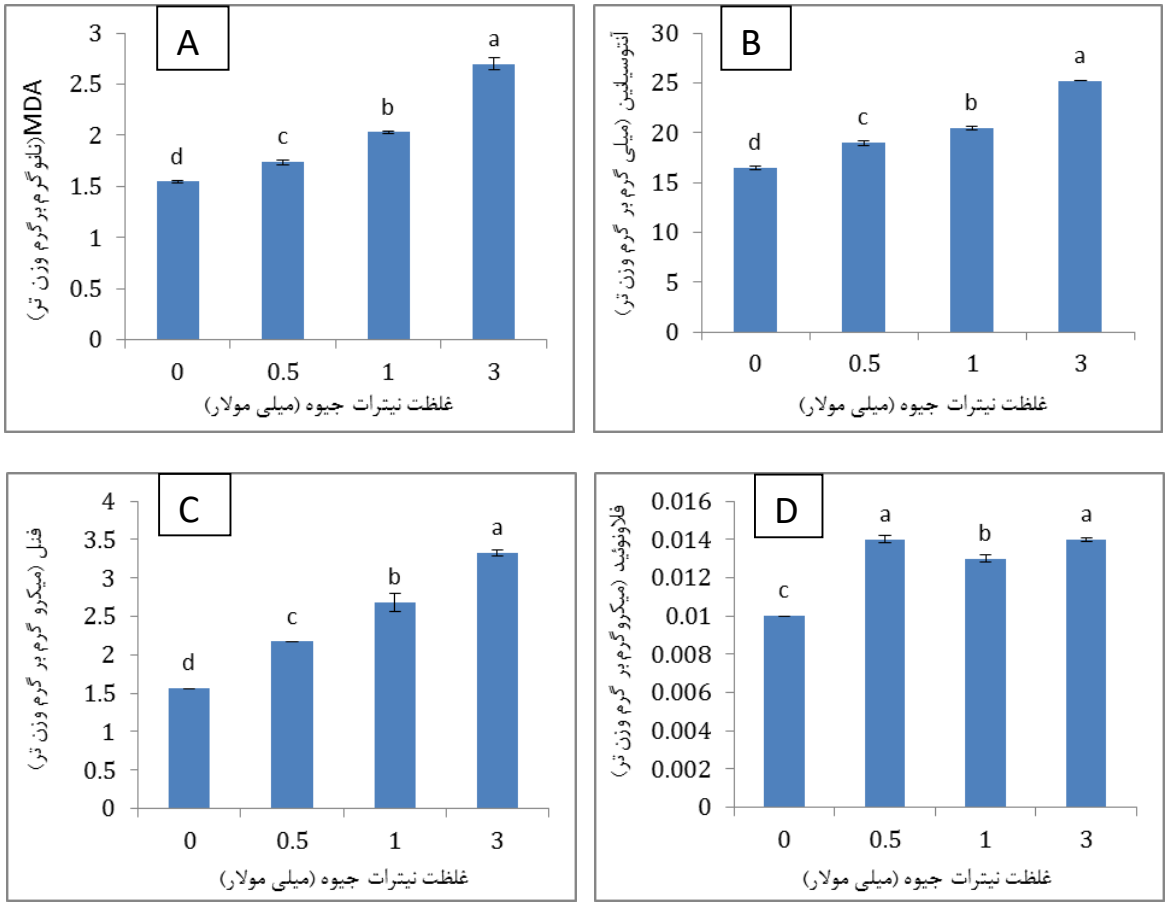


شکل ۱- A. میانگین تغییرات مقادیر کلروفیل a. **B.** کلروفیل b. **C.** مقادیر کاروتنوئید و **D.** مقادیر کلروفیل کل داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) هستند. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار میان تیمارها بر اساس مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیانگر فقدان اختلاف معنی دار در سطح احتمال $P<0.05$ است.

Figure 1. A. Average changes in the levels of Chlorophyll a. **B.** Chlorophyll b. **C.** Carotenoid and **D.** Total chlorophyll (D). The data represents the average of three replicates ± standard error (SE), respectively. Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p<0.05$.

تا ۳ میلی‌مولار روند کاهشی معنی‌دار در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی مشاهده شد. این کاهش می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل باشد. اثر ممانعت‌کنندگی جیوه می‌تواند ناشی از تداخل جیوه با فعالیت تعدادی از آنزیم‌های ضروری برای متابولیسم طبیعی و فرایندهای نموی و همچنین عملکردهای متنوع فتوسنتزی باشد. مهار فتوسنتز علامت شناخته شده سمیت جیوه است. در شرایط تنش تخریب مولکول کلروفیل امری بدیهی است (Wo´jcik et al., 2006). به دنبال تخریب کلروفیل گیاه رنگی به نظر می‌رسد که دلیل آن افزایش و قابل مشاهده شدن رنگیزه‌های محافظ مانند کاروتنوئیدها (کاروتن، گزانتوفیل و لیکوپن) و آنتوسیانین‌ها است این کاهش می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل باشد. در این تحقیق کاهش تولید رنگیزه های سبز، Chl a و Chl b مشاهده شد که بیانگر افزایش میزان تنش اکسیداتیو است. کاهش میزان کلروفیل را می‌توان به پراکسیداسیون غشاء کلروپلاست‌ها توسط فلزات سنگین مربوط دانست (Parasad et al., 2001). فلزات سنگین به وسیله مهار آنزیم‌های گاما – آمینولوالونیک‌اسید دهیدوژناز و پروتوکلروفیلدردوکتاز سبب مهار مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل می‌شوند (Khatib et al., 2008). در این پژوهش محتوای Chl a و Chl b تحت غلظت‌های نیترات جیوه کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد نشان داد. کاهش میزان Chl a و به ویژه Chl b در گیاه ذرت تحت تنش غرقابی نیز گزارش شده بود (Yordanova et al., 2003). به نظر می‌رسد کاهش میزان Chl a و Chl b در این تحقیق احتمالاً به دلیل افزایش کلروفیلاز، مهار بیوسنتز پروتوکلروفیلد و یا اختلال در جذب یون‌های اساسی مانند منیزیم و آهن به دلیل تنش ناشی از تیمار جیوه باشد. جیوه رشد برگ، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت‌های آنزیمی برای جذب CO_2 را کاهش داده و از طریق مهار بیوسنتز کلروفیل، محتوای کلروفیل کل و نسبت Chl b و Chl a را کاهش می‌دهد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

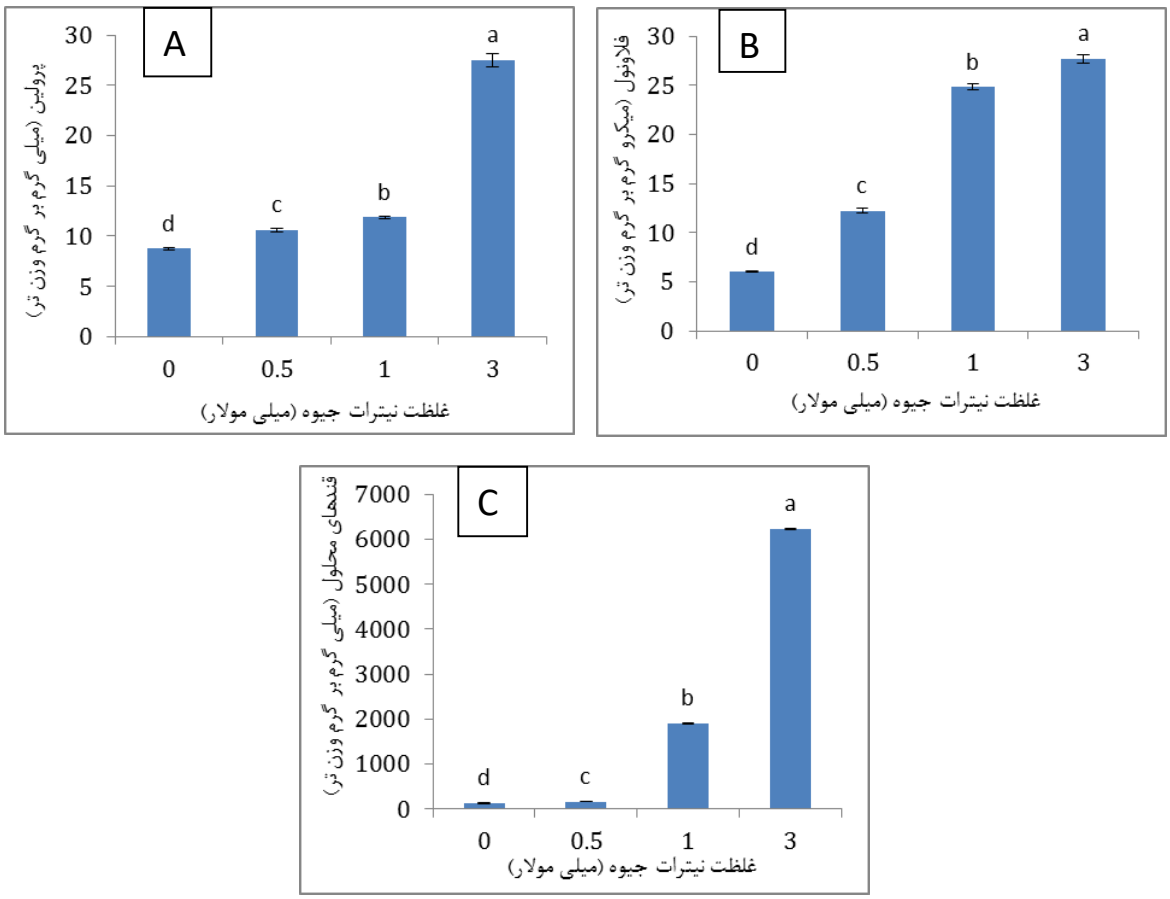


شکل۲- A. میانگین تغییرات مقادیر مالون‌دی‌آلدهید. **B**. آنتوسیانین. **C**. مقادیر فنل کل و **D**. مقادیر فلاونوئید. داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) هستند. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها بر اساس مقایسه ی میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیانگر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $P<0.05$ است.

Figure 2. A. Average changes in the amount of malondialdehyde **B.** Anthocyanin. **C.** Total phenol and **D.** Flavonoid. The data represents the average of three replicates ± standard error (SE), respectively. Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p<0.05$.

کاروتنوئیدها شامل β-کاروتن و گزانتوفیل‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های آب‌گریز با وزن مولکولی کم در کلروپلاست هستند که غشاهای کلروپلاستی را در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند و نقش‌های مهم دیگری چون محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون نوری کلروفیل‌ها را نیز عهده‌دار هستند (Lawlor & Cornic, 2002). در این پژوهش نیز اثر جیوه بر توتون باعث کاهش معنی‌دار در مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها نسبت به گیاهان شاهد شد به طوری که کمترین میزان کاروتنوئید در غلظت ۳ میلی مولار جیوه مشاهده شد. یافته‌های این پژوهش با یافته‌های دیگر همسو است. یکی از علایم پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی تشکیل مالون‌دی‌آلدهید (MDA). است که از فراورده‌های حاصل از تجزیه اسیدهای چرب اشباع نشده محسوب می‌شود (Molassiotis et al., 2005). مالون دی آلدهید فراورده نهایی اکسیداسیون چربی غشای سلول است که به‌عنوان شاخصی از میزان آسیب وارده به گیاه تحت شرایط تنش است. بنابراین مالون‌دی‌آلدهید به عنوان یک معرف برای بررسی صدمات غشا در شرایط تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد و شاخص مناسبی برای پراکسیداسیون لیپیدهای غشا محسوب می‌شود (Jaleel et al., 2007; Katsuhara et al., 2005; Sofo et al., 2004). نتایج نشان داد که میزان مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های تحت تنش نیترات جیوه به طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است، به‌طوری‌که میزان مالون‌دی‌آلدهید در غلظت ۳ میلی‌مولار نیترات جیوه نسبت به بقیه غلظت‌ها بیشترین میزان را نشان داد. در برگ‌های یونجه تحت تیمار جیوه نیز نشان داده شده است که سمیت جیوه سبب آسیب‌های اکسیداتیو به لیپیدهای غشای پلاسمایی شده و

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]



شکل۳- A. میانگین تغییرات مقادیر فلاونول. **B.** پرولین و **C.** قندهای محلول. داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (SE) هستند. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها بر اساس مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیانگر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $P<0.05$ است.

Figure 3. A. Average changes in the amounts of soluble sugars. **B.** Prolin and **C.** Soluble sugars. The data represents the average of three replicates ± standard error (SE), respectively. Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p<0.05$.

افزایش میزان تیوباربیتوریک اسید (TBARS) در برگ‌ها این موضوع را تایید می‌کند (Zhao et al., 2008). میزان مالون دی‌آلدهید تحت اثر فلز سنگین جیوه در گیاه توتون افزایش یافت. قبلا نیز در مطالعات انجام شده در گیاه شوید تحت تاثیر تیمار کلرید جیوه افزایش محتوای مالون دی‌آلدهید گزارش شده بود (Nooraniazad et al., 2010). افزایش محتوای مالون‌دی-آلدهید به دلیل افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن در محیط ناشی از تنش ایجاد شده است که نهایتا موجب آسیب به غشای سلول می‌شود (Ali et al., 2015). تولید این ماده نشان‌دهنده پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است و تنش اکسیداتیو ناشی از فلز سمی جیوه را در گیاه مورد مطالعه تایید می‌کند. با قرارگیری توتون در مقابل غلظت‌های رو به افزایش جیوه، افزایشی در میزان ترکیبات فنلی، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و فلاونول‌ها، اجزاء تشکیل‌دهنده سیستم دفاعی غیرآنزیمی، دیده شد که روند افزایشی در غلظت ۳ میلی‌مولار جیوه بالاترین مقدار را نشان داد. این ترکیب‌ها با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و با دادن الکترون به این رادیکال‌های واکنش‌پذیر آنها را به فرم پایدار خود تبدیل می‌کنند (Asada,1984). فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها از مهمترین ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی هستند. از میان سیستم‌های دفاعی غیرآنزیمی، ترکیب‌های فنلی و به‌خصوص آنتوسیانین‌ها در گیاهانی که در معرض غلظت‌های زیاد فلزات سنگین هستند، بسیار فعال بوده و باعث حفظ گیاه در مقابل سمیت می‌شوند (Posmyk et al., 2005; Dai et al., 2006). در پژوهش حاضر میزان آنتوسیانین‌ها در غلظت‌های مختلف جیوه نسبت به

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

نمونه شاهد به طورمعنی‌داری افزایش نشان داد به‌طوری‌که بالاترین میزان آنتوسیانین در نمونه تیمار شده در غلظت ۳ میلی‌مولار جیوه مشاهده شد. که این نتایج با نتایج به‌دست آمده از اثر مس بر خرفه (Ghorbanli et al., 2012) و اثر منگنز بر زیره مطابقت داشت (Fahmideh et al., 2017). افزایش آنتوسیانین به‌علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به‌وسیله حذف مستقیم ROSها در طول تنش اکسیداتیو می‌باشد (Zhang et al., 2010). نقش آنتوسیانین در سمیت‌زدایی فلزات سنگین از طریق تشکیل کمپلکس‌های فلز-آنتوسیانین است. مطالعات نشان می‌دهد که رابطه مثبتی بین محتوای فنول کل و فعالیت آنتی-اکسیدانی آن‌ها وجود دارد (Ghasemzadeh et al., 2010). در سلول‌های گیاهی ترکیبات فنولی به‌ویژه پلی‌فنول‌ها در کاهش سم‌زدایی پراکسید هیدروژن بسیار کارا عمل کرده و به‌عنوان سیستم پشتیبان چرخه آسکوربات- گلوتاتیون در دفع رادیکال‌های پراکسیدهیدروژن شرکت می‌کنند. وقتی فنول‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان در این واکنش‌ها شرکت می‌کنند، به رادیکال فنوکسیل اکسید می‌شوند. رادیکال‌های فنوکسیل از طریق واکنش با آسکوربات به حالت اولیه برمی‌گردند (Sakihama et al., 2002). در این مطالعه، افزایش ترکیبات فنولی با گذشت زمان بیانگر راهبرد سلول‌ها برای مقابله با تنش اکسیداتیو است. همچنین ذکر شده که ترکیب‌های فنلی و آنتوسیانین‌ها عمدتاً گزینه‌ای اصلی جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد در تنش‌های مرتبط با فلزات سنگین هستند (Posmyk et al., 2009) که در تأیید پژوهش حاضر است. فلاونوئیدها و ترکیب‌های فنلی متابولیت‌های ثانویه بوده و دارای نقش محافظتی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Skorzynska-Polit et al., 2004; Posmyk et al., 2007). همچنین گزارش شده که در گیاهان کاشته شده تحت غلظت‌های بالای فلزات سنگین فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، ترکیب‌های فنلی و حتی کاروتنوئیدها فعال شده و از گیاه محافظت می‌کنند (Posmyk et al., 2007; Posmyk et al., 2009). فلاونوئیدهابه دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی خود به‌طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و به‌طور غیرمستقیم به وسیله کلاته کردن آهن در زنجیره انتقال الکترون مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند و مانند بسیاری دیگر از پلی‌فنل‌ها جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد هستند، زیرا به‌عنوان گروه‌های قوی الکترون‌دهنده و پروتون‌دهنده عمل می‌کنند (Blokhina et al., 2003; Seyoum et al., 2006). این ترکیبات با مکانیسم‌های متعددی مانند پاکروبی رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی، کلات کردن یون‌های فلزی و یا در همکاری با پراکسیدازها در جمع-آوری یا حذف پراکسیدهیدروژن، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند (Chu et al., 2000; Kovacik et al., 2009). در این پژوهش میزان فلاونوئید در نمونه‌های تحت تنش فلز جیوه نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. افزایش میزان فلاونوئید تحت تنش فلزات سنگین قبلا نیز در مطالعه بر روی گیاه خرفه تحت تنش فلز سنگین مس گزارش شده است (Ghorbanli et al., 2012). و همچنین افزایش میزان فلاونوئید در نعناع تحت تنش فلز سنگین روی گزارش شده است (Zare Dehabadi et al., 2009). در تنش‌های اکسیداتیو، ترکیبات فنولی به ویژه فلاونوئیدها می‌توانند با فسفولیپیدهای غشا از طریق پیوند هیدروژنی با سرهای قطبی فسفولیپیدها ارتباط برقرار کنند، در نتیجه این ترکیبات در سطح داخل و خارج غشا جمع شده و به دلیل جلوگیری از دستیابی مولکول‌های آسیب‌رسان به ناحیه هیدروفوبی دوقطبی به حفظ سیالیت و تمامیت غشا کمک می‌کنند (Michalak et al., 2006). این ترکیبات می‌توانند با القای مسیرهای علامت‌رسانی باعث فعال شدن واکنش‌های دفاعی در گیاه شده و در نتیجه باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه گردند (Zhao et al., 2005). تولید فلاونوئید محدود به بافت‌های خاص است و در مراحل خاصی از تکامل گیاه انجام می‌شود (Jakola et al., 2002; Sudhakar et al., 2001).

فلاونول‌ها مهمترین نوع از انواع فلاونوئیدها هستند (Winkel-Shirley, 2002). فلاونول‌ها به‌عنوان رنگیزه همراه با آنتوسیانین‌ها در گل‌ها و میوه‌ها دارای نقش حفاظتی در مقابل اشعه فرابنفش هستند (Jaakola et al., 2002). فلاونول‌ها در هر دو فاز آبی و چربی سلول‌های گیاهی وجود دارند. ثابت شده است که فلاونول‌های موجود در واکوئل‌ها می‌توانند در سیستم پاک‌سازی فلاونول-پراکسیداز شرکت کرده و گونه‌های فعال اکسیژن به‌خصوص پراکسیدهیدروژن را جارو نمایند (Yamasaki, 1997). نتایج حاصل از تاثیر نیترات جیوه بر میزان فلاونول توتون نشان داد که میزان فلاونول نیز در نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری‌که با افزایش غلظت جیوه افزایش مقادیر فلاونول مشاهده شد.

همچنین در هنگام تنش با محدود شدن انتقال الکترون در زنجیره فتوسنتزی، افزایش مقادیر فلاونول باعث فعال شدن یک مسیر متابولیکی حد واسط توسط آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز و آنزیم‌های دیگر می‌شود که سبب تجمع فلاونول‌ها و مشتقات آن در واکوئل می‌شود. تجمع فلاونول‌ها در هنگام تنش ممکن است تا حدی به تغییرات مورفوژنیکی و تغییرات متابولیکی برگ نسبت داده شود که سبب جلوگیری از آسیب اکسیداتیو در برگ‌ها می‌شود (Hernandez et al., 2004). افزایش میزان

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

فلاونول در توتون تحت تنش خشکی قبلا نیز گزارش شده است (Norastehnia et al., 2016; Norastehnia et al., 2016; Norastehnia et al., 2017). با استناد به پژوهش‌های یاد شده و مطالعه حاضر احتمالاً می‌توان ساخته شدن فلاونول را واکنش مناسب توتون به تنش فلز سنگین جیوه، جهت حصول مقاومت بیشتر نسبت داد. فعالیت چنین سیستم‌هایی در گیاه ضروری به نظر می‌رسد، زیرا شرایط بهینه را جهت رشد گیاه فراهم می‌آورد. علاوه‌بر این نشان داده شده است که فلاونول‌ها در کنار توکوفرول‌ها، آسکوربیک‌اسید، گلوتاتیون و کاروتنوئیدها می‌توانند به خوبی نقش دفاع آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی را بازی کنند. حضور حلقه‌های آروماتیک و اجزا متنوع دیگر در ساختارشان از آنها جاروکنندگان رادیکالی مناسبی ساخته است.

پرولین اسیدآمینه‌ای است که افزایش غلظت آن فراوان‌ترین و عمومی‌ترین پاسخی است که به‌محض ایجاد تنش مشاهده می‌شود (Suriyan & Chalermpol, 2009). پرولین به‌عنوان یک محافظ مولکولی قادر به محافظت از پروتئین‌ها و افزایش فعالیت‌های مختلف آنزیمی است. نتایج تحقیق افزایش معنی‌داری پرولین را نشان داد. نتایج حاضر با نتایج حاصل از اثر کلرید جیوه بر میزان پرولین در گندم مطابقت دارد (Raeesi Sadati1 et al., 2015). شکستن سریع پرولین بعد از پایان یافتن شرایط تنش، ممکن است خود تأمین کننده عوامل مورد نیاز برای فسفوریلاسیون اکسیداتیو ATP و ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد. این یافته‌ها باعث روشن‌تر شدن هر چه بیشتر تنظیم بیوسنتز پرولین در گیاهان و نقش آن در کاهش تنش اکسایشی القاء شده است و علاوه‌بر آن تأییدی بر نقش پذیرفته شده آن به عنوان اسمولیت می‌باشد (Hong et al., 2003).

گیاهان برای مقابله با تنش اسمزی ناشی از فلزات سنگین، مکانیسم‌های سازشی مختلفی را به‌کار می‌گیرند. گیاهان دارای مقاومت بالا از قبیل ذرت، تعادل اسمزی خود را با افزایش بیوسنتز متابولیت‌های محافظ مانند پرولین، بتائین و کربوهیدرات‌های احیا کننده حفظ می‌نمایند. متابولیت‌های قندی با تبدیل پلی‌ساکاریدها و اولیگوساکاریدها به یکدیگر، تعادل اسمزی را کنترل می‌نمایند. افزایش میزان کربوهیدرات در گیاه نشان‌دهنده کاهش میزان آب در سلول‌ها است و کاهش میزان آب نیز عامل مهمی در کاهش رشد گیاه به‌شمار می‌رود (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2011). افزایش قندهای محلول در اغلب شرایط تنش‌زا به‌عنوان یک مکانیسم تحمل در برابر تنش است و در واقع باعث تنظیم پتانسیل آب سلول در بخش سیتوزول برای مقابله با غلظت بالای یون‌های جذب شده و تجمع یافته در واکوئل می‌گردد (Dubey et al., 1999; Hurry et al., 1995; Verma et al., 2001).

مطالعات نشان داده است که تنش ناشی از کادمیوم باعث افزایش قندهای محلول در ۲ واریته از برنج شده است، به‌طوری‌که تنش ناشی از کادمیوم با تاثیر بر فعالیت آنزیم‌های اینورتاز و سوکروز سنتتاز باعث افزایش قندهای محلول شده است (Aldoobie et al., 2013). افزایش محتوای قندهای محلول تحت آلودگی کادمیوم در جو نیز گزارش شده است (Gubrelay et al., 2013). در این تحقیق محتوای قندهای محلول در نمونه های تحت تیمار نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌دار را نشان داد. افزایش میزان قندهای محلول در گیاه گندم تحت اثر کلرید جیوه نیز گزارش شده است (Raeesi sadati et al. 2015).

افزایش میزان قندهای محلول در تیمار با کلریدکادمیوم در کلزا، گلرنگ و عدس توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Nooraniazad et al., 2011). با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال تجمع جیوه در سلول‌ها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه‌براین افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این بررسی، می‌توان اظهار داشت که توتون در مواجهه با تنش فلز سنگین جیوه سعی در حفظ فشار اسمزی خود دارد و این کار را با افزایش اسمولیت‌هایی از جمله پرولین و قندهای محلول انجام می‌دهد که به حفظ فشار و تورژسانس سلول‌های گیاه کمک می‌کنند. از آن‌جایی‌که تنش فلز سنگین باعث ایجاد تنش اکسایشی در توتون شده و تولید ROSها را افزایش داده است، و از آن‌جایی که دفاع آنتی‌اکسیدانی کارآمد، گام اساسی در تحمل به تنش فلز سنگین محسوب می‌شود، توتون با افزایش آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از جمله افزایش ترکیبات فنلی همانند فنول، آنتوسیانین و فلاونوئید و فلاونول و افزایش پرولین و افزایش سطوح MDA و قندهای محلول به تنش فلز سنگین پاسخ داده است. کاهش کلروفیل برگ‌ها و افزایش ترکیبات فنلی نشان‌دهنده سمیت شدید جیوه و فعال شدن دفاع آنتی اکسیدانی در مورد گیاه مورد مطالعه است.

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله از مرکز دخانیات استان گیلان بابت تامین بذور توتون و از دانشگاه گیلان حمایت مالی این مطالعه قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

REFERENCES

Abioye, O.P., Ijah, U.J.J. & Aransiola, S.A. 2013. Remediation mechanisms of tropical plants for lead-contaminated environment. Soil Biology 35: 59-77.

Aggarwal, A., Sharma, I., Tripathi, B.N., Munjal, A.K., Baunthiyal, M. & Sharma, V. 2011. Photosynthesis: Overviews on Recent Progress & Future Perspective 16: 229-236

Ali, A., Deng, X., Hu, X., Gill, R.A., Ali, S., Wang, S. & Zhou, W. 2015. Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seeds of (*Brassica napus* L.). Journal of Agricultural Science and Technology 17: 63-74.

Asada, K. 1984. Chloroplast: formation of active oxygen and its scavenging. Method in Enzymology105: 422-429.

Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annals of Botany 91: 179-194.

Cargnelutti, D., Tabaldi, L.A., Spanevello, R.M., Jucoski, G.O. & Battisti, V. 2006. Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. Chemosphere 65: 999-1006.

Chu, Y.H., Chang, C.L. & Hsu, H.F. 2000. Flavonoid contents of several vegetable and their antioxidant activity. Journal of Agriculture and Food Science 80:561-566.

Dai L. P, Xiong Z.T, Huang Y. & Li, M.J. 2006. Cadmium-induced changes in pigments, total phenolics, and phenylalanine ammonia-lyase activity in fronds of *Azolla imbricata*. Environmental toxicology 21: 505-512.

Dubey RS, Singh AK. 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plants. Biologia Plantarum 2: 233-239.

Fahmideh, L. & Mahmoodi, N. 2017.Survey on enzymatic activity and secondary metabolites of cumin (*Cuminum cyminum*) under manganese stress. Journal of Crop Science Research in Arid Regions 1: 191-203. (In Persian).

Gao, T., Jelle, B.P., Sandborg, L.I.C. & Gustavsen, A. 2013. Monodisperse hollow silica nanospheres for nano insulation materials: synthesis, characterization and life cycle assessment. ACS Applied Materials & Interfaces 5: 761-767.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H Z. E. & Rahmat. A. 2010. Antioxidant activities, total henolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). Molecules 15: 4324-4333.

Ghorbanli, M. & Kiapour, A. 2012. Copper-induced changes on pigments and activity of non enzimatic and enzymatic systems in (*Portulaca oleracea* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28: 235-247. (In Persian).

Gubrelay, U., Agnihotri, R.K., Singh, G. & Kaurl, R. 2013. Effect of heavy metal cd on some physiological and biochemical parameters of Barley *(Hordeum vulgare* L.). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5: 2743- 2751.

Han, F.X., Banin, A., monts, D.L. & Triplett, G.B. 2002**.** Industrial age anthropogenic inputs of heavy metals into the pedosphere. Naturwissenschoften 89: 497-504.

Han, F.X., Monts, D.L., Waggoner, A.C. & Pledinec J.M. 2006. Binding, distribution, and plant ustake of Hg in a soil from oak Ridge, Tennessee, USA. Science of the Total Environment 368: 753-768.

Hawrylak, B., Matraszek, R. & Szymanska, M. 2007. Response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. Vegetable Crops Research Bulletin 67: 63-70.

Heath, R.L. and Packer, L. 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Hernandez, I., Alegre, L. & Munne-Bosch, S. 2004. Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in Cistus clusii grown under Mediterranean field conditions. Tree Physiology 24: 1303-1311.

Hong, S.W., Kwon, S.J., Sohn, S.I., Kim, N.S. & Kim, J.C. 2003. Characterization of embryogenesis related Pbmyb genes during in vitro differentiation of Pimpinella brachycarpa. Korean Journal of Genetics 25: 293-300.

Hurry, V.M., Strand, A., Tobiaeson, M. & Gardeström, P. 1995. Cold hardening of spring and winter-wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content. Plant physiology 109: 697-706.

Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. & Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Plant Physiology 84: 55-60.

Izbiańska, K., Arasimowicz-Jelonek, M., and Deckert, J. 2014. Phenylpropanoid pathway metabolites promote tolerance response of lupine roots to lead stress. Ecotoxicology and Environmental Safety 110: 61-67.

Jaakola, L., Maatta, K., Pirttila, A.M., Torronen, R., Karenlampi, S. & Hohtola, A. 2002**.** Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. Plant Physiology 130: 729-739.

Jaleel, C.A., Gopi, B., Sankar, P., Manivannan, A., Kishorekumar, R.S. & Panneers, L. 2007. Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in Catharanthus roseus seedling under salt stress. South African Journal of Botany 73: 190-195.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. & Sharma S. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake *in* (*Lemna polyrrhiza* L.). Plant, Soil and Environment 54: 262-270.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S. 2009. Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters metal accumulation by

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

Brassica juncea L. International Journal of Plant Production 3: 65-76.

Katsuhara, M., Otsuka, T. & Ezaki, B. 2005. Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in Arabidopsis. Plant Sciences 169: 369-373.

Khatib M, Rashed Mohasel M, Ganjali, A. and Lahouti M**.** 2008. The effects of different nickel concentrations on some morpho-physiological characteristics of parsley (*Petroselinum crispum*). Iranian Journal of Field Crops Research 2: 295-302. (In Persian).

Kocal, N., Sonnewald, U. & Sonnewald, S. 2008. Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. Plant Physiology 148: 1523-36.

Kovacik, J., Backor, M., Strnad, M. & Repcak, M. 2009. Salicylic acid induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. Plant Cell Report 28: 135-143.

Krizek D. T, Britz S. J. & Mirecki R. M. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. Physiologia Plantarum 103: 1-7.

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

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Masukasu, H., Karin, O. & Kyoto, H. 2003. Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. Plant Science 164: 259-265.

Mauchamp, A. & Methy, M. 2004. Submergence-induced damage of photosynthetic apparatus in *Phragmites australis*. Environmental and Experimental Botany 51: 227-235.

Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies 15: 523-530.

Molassiotis, A., Tanoug, G. & Patakas, A. 2005. Effects of 4- month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. Journal of Plant physiology 25: 843-860.

Najafi, S. & Jamei, R. 2014. Effect of silver nanoparticles and Pb $(NO_3)_2$ on the yield and chemical composition of mung bean (*Vigna radiata*). Journal of Stress Physiology & Biochemistry 10: 316-325.

Noorani Azad, H. & Kafilzadeh F. 2011. The effect of cadmium toxicity on growth, soluble sugars, photosynthetic pigments and some of enzymes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Iranian Journal of Biology 24: 858-867. (In Persian).

Nooraniazad, H. & Hajibagheri, M. 2010. The study of $HgCl_2$ toxicity on the growth and some biochemical traits in Dill (*Anethum graveolens* L.) crop. Journal on Plant Science Researches 18: 19-27. (In Persian).

Norastehnia, A. & Yousefzadeh, G. 2017. Improvement in growth of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seedling by methyl jasmonate under drought stress Nova Biologica Reperta 2: 260-271. (In Persian).

Norastehnia, A. & Farjadi, M. 2016. The effect of the interaction between water stress and potassium nitrate on some of the physiological responses of *Nicotiana tabacum* L. Nova Biologica Reperta 2: 260-271. (In Persian).

Norastehnia, A. & Valeh, S. 2016. Changes of some growth factors in tobacco (*Nicotiana tabacum*) under drought steress using potassium nano-chelate. Iranian Journal of Plant Biology 8: 95-113. (In Persian).

Posmyk, M.M., Dobranowska, A. & Janas, K.M. 2005. Role of anthocyanins in red cabbage seedlings response to copper stress. Ecological Chemistry and Engineering 12: 1107-1112.

Posmyk, M.M., Kontek, R. & Janas, K.M. 2007. Effect of anthocyanin-rich red cabbage extract on cytological injury induced by copper stress in plant and animal tissues. Environmental Protection of Natural Soures 33: 50-56.

Posmyk, M.M., Kontek, R. & Janas, K.M. 2009. Antioxidant Enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. Ecotoxicology and Environmental safety 72: 596-602.

Prasad, M.N.V., Malec, P., Waloszek, A., Bojko, M. & Strzałka, K. 2001. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. Plant Science 161: 881-889.

Raeesi Sadati1, S.Y. & Jahanbakhsh Godekahriz, S. 2015. The effect of heavy metals on soluble sugars content, total protein and activity of antioxidant enzymes in Wheat. Research in Crop Ecosystems 1: 117-128. (In Persian).

Sakihama, Y., Cohen, M.F., Grace, S.C. & Yamasaki, H. 2002. Plant phenolics antioxidant and pro oxidant activity: Phenolics-induced oxidative damage mediated by metal in plants. Toxicology 177: 67-80.

Seyoum, A., Asres, K. & El-Fiky, F.K. 2006. Structure radical scavenging activity relationships of flavonoid. Phytochemistry 67: 2058-2070.

Skorzynska-Polit, E., Drazkiewicz, M., Wianowska, D., Maksymiec, W., Dawidowicz, A.L. & Tukiendorf, A. 2004. The influence of heavy metal stress on the level of some flavonols in the primary leaves of Phaseolus coccineus. Acta Physiologiae Plantarum 26: 247-253.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. & Masia, A. 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondealdehyde content during rewatering in olive tree. Plant Sciences 166: 293-302.

Sudhakar, C., Lakshmi, A. & Giridarakumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science 161: 613-619.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]

Suriyan, Ch. & Chalermpol, K. 2009. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. Agricultural Sciences in China 8: 51-58.

Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzaka, K. & Prasad, M.N.V. 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. Acta Physiologiae Plantarum 35: 985-999.

Theriappan, P., Gupta, A.K. & Dhasarathan, P. 2011. Accumulation of proline under salinity and heavymetal stress in cauliflower seedlings. Journal of Applied Sciences and Environmental Management 15: 251-255.

Venskutonis, P.R., Miliauskas, G. & Van Beek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of so medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85: 231-237.

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

Wang, P., Zhang, S., Wang, C. & Lu, J. 2012. Effects of Pb on the oxidative stress and antioxidant response in a Pb bioaccumulator plant *Vallisneria natans*. Ecotoxicology Environmental Safety 78: 28-34.

Winkel-Shirley, B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology 5: 218-223.

Wo´jcik, M., Skórzyńska-Polit, E. & Tukiendorf, A. 2006. Organic acids accumulation and antioxidant enzyme activities in Thlaspi caerulescens under Zn and Cd stress. Plant Growth Regulation 48: 145-155.

Xiong, H., Duan, C., Xinxiang, A. & Chen, M. 2013. Response of scutellarin content to heavy metals in *Erigeron breviscapus*. International Journal of Environmental Science and Development 4: 277-281.

Yamasaki, H. 1997. A function of color. Trends in Plant Science 2: 7-8.

Yordanova, R. Y., Christov, K. N. & Popova, L. P. 2003. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. Environmental and Experimental Botany 5: 93-101.

Zare Dehabadi, S. & Asrar, Z. 2009. Effect of excess zinc on the concentration of some mineral element and antioxidant responses of spearmint (*Mentha spicata* L.) Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 24: 530-540. (In Persian).

Zhang, X.X, Fan, X.M., Li, C.J. & Nan, Z.B. 2010. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and antioxidative enzymes in *Achnatherum inebrians* plants infected with *Neotyphodium endophyte*. Plant Growth Regulation 60: 91-97.

Zhao, J., Davis, L.C., Verpoorte, R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnolgy Advance 23: 283- 333.

*****

How to cite this article:

Farjadi, M. & Norastehnia, A. 2021. The effects of heavy metal mercury on some of the physiological responsses in (*Nicotiana tabacum* L.). Nova Biologica Reperta 8: 118-129. (In Persian).

فرجادی، م. و نورسته‌نیا، ا. ۱۴۰۰. اثرات فلز سنگین جیوه بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی توتون. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۸: ۱۲۹-۱۱۸.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.4.5]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.118]