مجله اکوفیزیولوژی بذر

جلد دوم، شماره اول، نیمه اول ۹۶

۷۵-۶۳

تأثیر فلزهای سنگین بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های تربچه (*Raphanus sativus* L.)

محمد حسین امینی فرد[۱]، حسن بیات[۱*]،حسین حمامی[۲]

۱. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۵

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف فلزهای سنگین کادمیوم، سرب، نیکل و کبالت بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های تربچه انجام شد. این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط آزمایشگاهی اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل فلزهای سنگین سرب، نیکل، کادمیوم و کبالت در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. صفات مورد بررسی شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل گیاهچه بود. نتایج نشان داد که تأثیر سطوح پایین فلزهای سنگین بر درصد و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار نبود ولی بر صفات رشدی مانند طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل گیاهچه اثر مثبت و افزایشی داشت. در بین فلزهای مورد بررسی میزان سمیت فلز کادمیوم در مقایسه با سایر فلزها بیشتر بود و بعد از آن فلز کبالت در رتبه‌ی بعدی قرار گرفت. غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلزهای سرب، نیکل، کادمیوم و کبالت، درصد جوانه‌زنی را به ترتیب ۲، ۴، ۶۰ و ۷۰ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. کمترین و بیشترین سرعت جوانه‌زنی به ترتیب از تیمارهای ۸۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کبالت و سرب به دست آمد. همچنین بیشترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه به ترتیب از تیمارهای ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب و نیکل به دست آمد. غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب، نیکل، کادمیوم و کبالت، وزن خشک ریشه را به ترتیب ۴۲، ۲۸، ۸۸ و ۹۰ درصد در مقایسه با شاهد کاهش دادند. بیشترین وزن خشک کل گیاهچه نیز از تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب به دست آمد. این تحقیق نشان داد که جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های تربچه در مناطق آلوده به فلزهای سنگین امکان‌پذیر است.

واژه‌های کلیدی:سرب، کادمیوم، کبالت، نیکل، جوانه‌زنی.

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیک:hassanbayat@birjand.ac.ir

مقدمه

آلودگی‌های محیطی ناشی از فلزهای سنگین یکی از مشکلات عمده جوامع بشری محسوب می‌شود و اثرات زیان‌بار بر زیست‌بوم، سلامت انسان و محصولات کشاورزی دارد. فلزهای سنگین از منابع مختلفی به طور طبیعی وارد محیط زیست می‌شوند، اما در این میان آلودگی‌های ناشی از فعالیت‌های بشری نظیر احداث کارخانجات صنعتی، سوخت‌های فسیلی، فاضلاب‌های صنعتی و استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی و آلی اهمیت فراوانی دارد (Singh et al., 2011). جذب فلزات سنگین توسط گیاهان می‌تواند اثرات زیانباری بر گیاهان داشته باشد و از این جهت که گیاهان بخش مهمی از زنجیره غذایی را تشکیل می‌دهند، خطر بزرگی نیز برای انسان و دیگر موجودات محسوب می‌شوند (Handique and Handique, 2009).

مفهوم تنش فلزهای سنگین را حساسیت به غلظت‌های بالای فلزات که باعث صدمه به گیاه یا مرگ آن می‌شود تعریف می‌کنند. زمانی که یون‌های این فلزها در سطوح بالا در محیط وجود داشته باشند، منجر به صدمات متابولیسم و کاهش رشد گیاه می‌شوند (Ghosh and Singh, 2005). کادمیوم، سرب، نیکل، جیوه، مس و کروم فلزهای سنگین آلاینده هستند (Kranner and Colville, 2011). در بین این فلزها، کادمیوم یکی از سمی‌ترین عناصر برای اندام‌های زنده است که نقش زیستی ندارد. این عنصر برای گیاه غیرضروری بوده و دوام بیولوژیکی بالایی دارد و سبب لوله‌ای شدن برگ‌ها، کلروز و کاهش رشد ریشه و ساقه می‌شود و فرآیند جوانه‌زنی، رشد و توسعه گیاهچه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mishra et al., 2006). فلز سنگین دیگر کروم است که هفتمین عنصر فراوان بر روی کره زمین است و به عنوان یکی از آلاینده‌های محیطی محسوب می‌شود. علائم سمیت کروم در گیاه شامل کاهش رشد، زردی برگ‌های جوان، کاهش محتوای رنگیزه‌ای، تغییر عملکرد آنزیمی و آسیب به سلول‌های ریشه است (Panda and Choudhury, 2005; Shanker et al., 2005). نیکل نیز به عنوان یک فلز سنگین، نقش مهمی در گیاهان ایفا می‌کند. این عنصر در غلظت‌های پایین اثر سمی بر گیاه ندارد ولی در غلظت‌های بالا برای گیاهان سمی است (Baycu et al., 2006). اما خطرناک‌ترین فلز سنگین، سرب است که باعث کاهش درصد جوانه‌زنی گیاه گشته و اثرات مضری بر رشد و متابولیسم گیاه بر جای می‌گذارد و مانع طویل شدن ریشه می‌گردد (Kopyra and Gwzdz, 2003).

جوانه‌زنی اولین مرحله از زندگی گیاه و یکی از حساس‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیکی می‌باشد که به وسیله فاکتورهای هورمونی و محیطی (تنش‌های زیستی و غیر زیستی) تحت تأثیر قرار می‌گیرد. فلزهای سنگین از دو طریق جوانه‌زنی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند؛ از طریق سمیت عمومی و ممانعت از جذب آب (Ghosh and Singh, 2005). تحقیقات متعددی مبنی بر اثرات مخرب فلزهای سنگین بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها گزارش شده است (Wang and Zhou, 2005; Ahsan et al., 2007; Liu et al., 2007; Yang etal., 2010; Talebi et al., 2014). همچنین گزارش شده است که جوانه‌زنی و رشد گیاه یونجه تحت تأثیر فلزهای کروم، کادمیوم، مس و نیکل کاهش می‌یابد (Peralta et al., 2000). در آزمایشی غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم بر درصد و سرعت جوانه‌زنی گیاهچه‌های آترپلکس تأثیر معنی‌دار نداشت ولی موجب کاهش معنی‌دار رشد گیاهچه‌ها شد (Sabri et al., 2010). تأثیر فلزهای سنگین مس، روی، نیکل و کبالت بر رشد و جوانه‌زنی گیاهان بادیان، رازیانه و زیره سیاه نشان داد که رشد اولیه ریشه‌ها بیشتر از جوانه‌زنی بذرها تحت تأثیر فلزهای سنگین قرار گرفت (Jeliazkova et al., 2003). علاوه‌براین گزارش شده است که کادمیوم بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های لوبیا تأثیر منفی داشته اما پاسخ‌های رشدی ژنوتیپ‌های مورد بررسی با یکدیگر متفاوت بود (Bahmani et al., 2014).

تربچه گیاهی یکساله، با نام علمی (*Raphanus sativus* L.) متعلق به خانواده شب بو (Brassicaceae) است (Peivast, 2009). قسمت خوراکی این گیاه که از ریشه و هیپوکوتیل منشا گرفته است، در تماس مستقیم با خاک قرار دارد که فلزهای سنگینی از این طریق وارد ریشه شده، به همراه مواد فتوسنتزی در آن ذخیره می‌شوند که اثرات سوء بر سلامت انسان می‌گذارد (Mathe-Gaspar and Anton, 2002). در بین گیاهان مورد بررسی، گیاهان خانواده شب بو قابلیت جذب و انباشته‌کردن فلزهای سنگین را به خوبی دارند و برای گیاه پالایی پیشنهاد شده‌اند (Gall and Rajakaruna, 2013). گزارش شده است که با افزایش غلظت کادمیوم در خاک، میزان تجمع آن در گیاه تربچه افزایش یافت و در بین اندام‌های مختلف مورد بررسی، بیشترین میزان تجمع در برگ‌ها مشاهده شد (Dalvand and Eftekhari, 2014). همچنین مشخص شده است که گیاه تربچه قادر است فلز سرب را جذب و انباشته کند و غلظت این عنصر در ریشه به طور معنی‌داری بیشتر از بخش هوایی بود (Dastjerdi et al., 2015). گزارش شده است که درصد جوانه‌زنی گیاه تربچه با افزایش غلظت فلزهای آلومنیوم و سرب تا سطح ۲۵ میلی مولار، به طور نزولی کاهش پیدا کرد (Raj and Rebecca, 2014). با این وجود، تحقیق جامعی که تأثیر فلزهای سنگین کادمیوم، سرب و نیکل را بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های تربچه نشان دهد، وجود ندارد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف فلزهای سنگین کادمیوم، سرب، نیکل و کبالت بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های تربچه انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و طرح آزمایشی

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۳۹۴ به اجرا درآمد. آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل فلزهای سنگین سرب، نیکل، کادمیوم و کبالت در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. در ابتدا بذور تربچه (*Raphanus sativus* L.) رقم اسپارکلر[1] در هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. تعداد ۲۵ عدد از بذور در داخل پتری‌دیش‌های ۹ سانتی‌متری پلاستیکی حاوی دو لایه کاغذ صافی که قبلا به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استریل شده بودند، قرار داده شد. سپس میزان ۱۰ میلی‌لیتر از تیمارهای موردنظر و یا آب مقطر (به عنوان شاهد) به آن‌ها اضافه شد. برای تهیه تیمارهای عناصر کادمیوم، سرب، نیکل و کبالت به ترتیب از ترکیبات کلرید کادمیوم[2]، اکسید سرب[3]، اکسید نیکل[4] و کلرید کبالت[5] استفاده شد. پتری‌دیش‌ها در داخل اتاقک رشد با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در شرایط فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی قرار داده شدند (Brandenburg and Kleier, 2011).

شمارش بذور جوانه‌زده ۲۴ ساعت پس از قرار دادن پتری‌دیش‌ها در داخل اتاقک رشد آغاز شد و این عمل تا روز یازدهم ادامه یافت (Mathe-Gaspar and Anton, 2002). بذرهایی که حداقل دارای دو میلی‌متر ریشه‌چه بودند به عنوان بذر جوانه‌زده در نظر گرفته شدند. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (انتخاب شش گیاهچه به طور تصادفی از داخل هر پتری‌دیش) در پایان آزمایش با استفاده از خط‌کش با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری و نسبت آن‌ها (R/S) محاسبه شد. سپس ریشه‌چه‌ها و ساقه‌چه‌ها درداخل آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند تا وزن خشک آن‌ها محاسبه شود (Pace et al, 1999). در پایان آزمایش درصد جوانه‌زنی بذور محاسبه شد.

---

[1] -Sparkler
[2] -$CdCl_2$
[3]- PbO
[4] -NiO
[5] -$CoCl_2$

سرعت جوانه‌زنی نیز از طریق معادله زیر محاسبه شد (Bajji et al., 2002):

$$GR= \sum Ni / Di \quad (۱)$$

که در این معادله GR سرعت جوانه‌زنی، Ni تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز وDi روز شمارش بذر می‌باشد.

میانگین زمان جوانه‌زنی بر اساس معادله زیر محاسبه شد (Ruan, 2002):

$$MGT= \Sigma(D\times N)/ \Sigma N \quad (۲)$$

که در این معادله MGT میانگین زمان جوانه‌زنی، N تعداد بذرهایی که در روز D ام جوانه زدند و D تعداد روزهایی که از آغاز زمان جوانه‌زنی گذشته است. شاخص بنیه بذر نیز از حاصل ضرب درصد جوانه‌زنی نهایی در طول گیاهچه محاسبه شد (Elias and Copeland, 2001).

تجزیه آماری

تجزیه داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار JMP 8 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تأثیر فلزهای سنگین بر جوانه‌زنی گیاه تربچه معنی‌دار بود (جدول ۱). غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز سرب، نیکل، کادمیوم و کبالت درصد جوانه‌زنی را به ترتیب ۲، ۴، ۶۰ و ۷۰ درصد نسبت به شاهد کاهش دادند (شکل ۱). در بین فلزهای مورد بررسی و در غلظت‌های یکسان، تأثیر فلز کادمیوم نسبت به سایر فلزها در کاهش درصد جوانه‌زنی بیشتر بود (شکل ۱). سرعت جوانه‌زنی نیز تحت تأثیر معنی‌دار فلزهای سنگین قرار گرفت (جدول ۱). کمترین (۲/۵۳ بذر در روز) و بیشترین (۲۱/۳۴ بذر در روز) سرعت جوانه‌زنی به ترتیب از تیمارهای ۸۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای کبالت و سرب به دست آمد. تأثیر فلزهای کادمیوم و کبالت در مقایسه با فلزهای سرب و نیکل در کاهش جوانه‌زنی بیشتر بود. غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلزهای سرب، نیکل، کادمیوم و کبالت سرعت جوانه‌زنی را به ترتیب ۶، ۱، ۸۲ و ۸۸ درصد نسبت به شاهد کاهش دادند (شکل ۱). تأثیر فلزهای سنگین بر میانگین زمان جوانه‌زنی تربچه معنی‌دار بود (جدول ۱). میانگین زمان جوانه‌زنی با افزایش غلظت فلزهای سنگین به‌طور صعودی افزایش پیدا کرد که شدت این افزایش در بذور تیمار شده با فلزهای کادمیوم و کبالت در مقایسه با فلزهای سرب و نیکل (تأثیر این دو فلز بر میانگین زمان جوانه‌زنی معنی‌دار نبود) بیشتر بود. مقادیر میانگین زمان جوانه‌زنی در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای سرب، نیکل، کادمیوم و کبالت به ترتیب ۱/۶۱، ۱/۸۱، ۳/۸۴ و ۳/۲۴ بود (شکل ۲). فلزهای سنگین بر شاخص بنیه بذر تأثیر معنی‌دار داشتند (جدول ۱). فلزهای سنگین در غلظت‌های پایین باعث افزایش شاخص بنیه بذر شدند ولی با افزایش غلظت در همه فلزها میزان این شاخص کاهش یافت. کمترین (۰/۱۵) و بیشترین (۱۵/۰۷) شاخص بنیه بذر به ترتیب از تیمارهای ۸۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای کادمیوم و نیکل به دست آمد. در غلظت‌های یکسان، تأثیر فلز کادمیوم در مقایسه با سایر فلزها در کاهش شاخص بنیه بذر بیشتر بود (شکل ۳). نتایج مشابهی توسط سایر محققین مبنی بر کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر تحت تأثیر فلزهای سنگین گزارش شده است که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد (Jeliazkova et al., 2003; Wang and Zhou, 2005; Ahsan et al., 2007; Yang et al., 2010; Raj and Rebecca, 2014; Talebi et al., 2014). گزارش شده است که فلزهای سنگین به صورت فیزیولوژیکی مانع جذب آب توسط بذر و گیاه شده و از این طریق مانع جوانه‌زنی بذر می‌شوند. همچنین اظهار شده است که غلظت‌های بالای فلزهای سنگین باعث صدمه به جنین و یا حتی مرگ آن می‌شود (Kranner and Colville, 2011). علاوه براین کاهش جوانه‌زنی در اثر فلزهای سنگین به ویژه کادمیوم می‌تواند به علت تجمع آن ها در سلول و در نتیجه

تمایل ترکیبی آن با گروه سولفیدریل پروتئین‌ها باشد که باعث کاهش سنتز و تولید پروتئین‌های ساختمانی مورد نیاز در فرآیندهای رشد و تقسیم سلولی و جوانه‌زنی می‌شود (Siddhu and Ali Khan, 2012). گزارش شده که تأثیر فلز کادمیوم در مقایسه با سرب بر کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی تریتیکاله (*Triticose alewittmack*) بیشتر بود (Talebi et al., 2014) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابق داشت. با توجه به اینکه کادمیوم در واکوئل سلول تجمع می‌یابد و از طریق مسیر سیم پلاستی و آپوپلاستی به خوبی منتقل می‌شود (Sanita et al., 1999) و بر تقسیم و طویل شدن سلول‌هاو تنظیم رشد و نمو گیاه اثر می‌گذارد و باعث اختلال در متابولیسم کربوهیدرات ها می‌شود که این عوامل در نهایت منجر به سمیت بیشتر فلز کادمیوم در مقایسه با سایر فلزهای سنگین می‌شود (Das et al., 1997; Gouia et al., 2001).

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر فلزهای سنگین بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر تربچه.

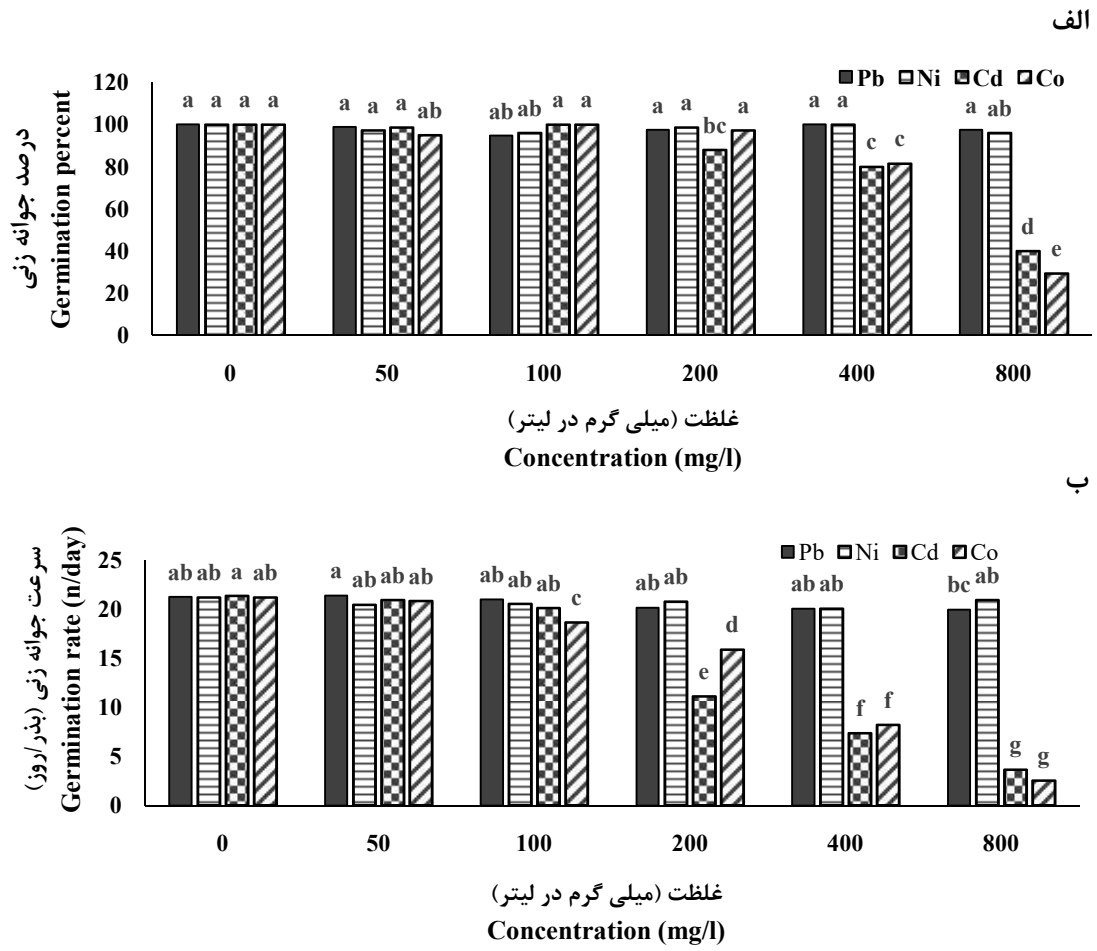
Table 1. Analysis of vriance of heavy metals on germination indices and seed vigor index of radish (*Raphanussativus* L.).

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین زمان جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر
Source of variation	d.f	Germination percent	Germination rate	Mean germination time	Seed vigor index
فلزهای سنگین Heavy metals	23	1002.88**	107.89**	1.69**	72.56**
خطا Error	48	27.11	0.71	0.10	0.87

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد.

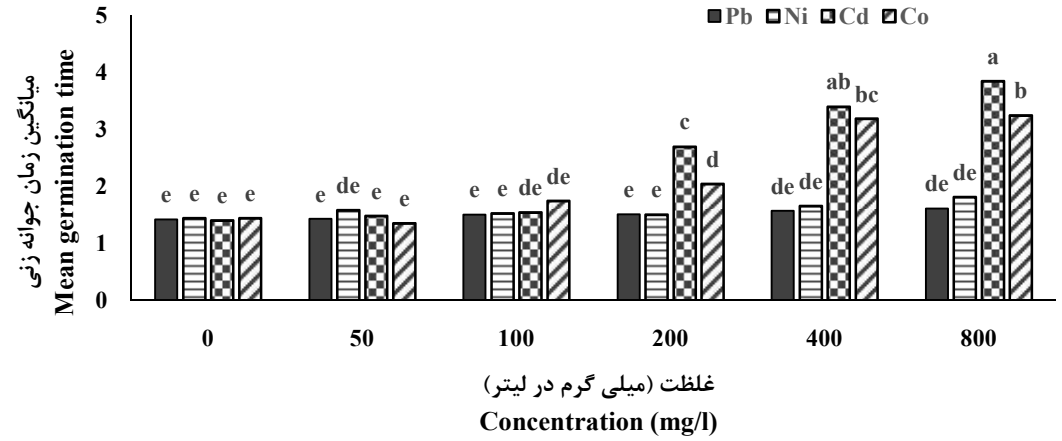
** significant at 1% probability level.

تأثیر فلزهای سنگین بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و نسبت R/S معنی‌دار بود (جدول ۲). طول ریشه‌چه در غلظت‌های پایین فلزهای سنگین نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد ولی با افزایش غلظت، طول ریشه‌چه روند کاهشی پیدا کرد به‌طوری‌که کمترین مقادیر آن از غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد (جدول ۳). کمترین (۰/۱۰ سانتی‌متر) و بیشترین (۹/۶۴ سانتی‌متر) طول ریشه‌چه به ترتیب از تیمارهای ۸۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای کادمیوم و سرب به دست آمد (جدول ۳). تأثیر فلزهای سنگین سرب و نیکل بر طول ساقه‌چه در همه غلظت‌های مورد بررسی (به غیر از غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) افزایشی بود، ولی فلزهای کادمیوم و کبالت تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش طول ریشه‌چه شدند اما در غلظت‌های بالاتر، روند طول ریشه‌چه کاهشی شد. کمترین (۰/۳۰ سانتی‌متر) و بیشترین (۷/۰۴ سانتی‌متر) طول ساقه‌چه به ترتیب از تیمارهای ۸۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای کادمیوم و نیکل بدست آمد (جدول ۳). نسبت R/S نیز تحت تأثیر فلزهای سنگین قرار گرفت به‌طوریکه کمترین (۰/۱۵) و بیشترین (۱/۶۷) نسبت به ترتیب از تیمارهای ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای کادمیوم و سرب حاصل شد (جدول ۳). تأثیر فلزهای سنگین بر وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). وزن خشک ریشه با افزایش غلظت فلزهای سرب و نیکل تا سطح



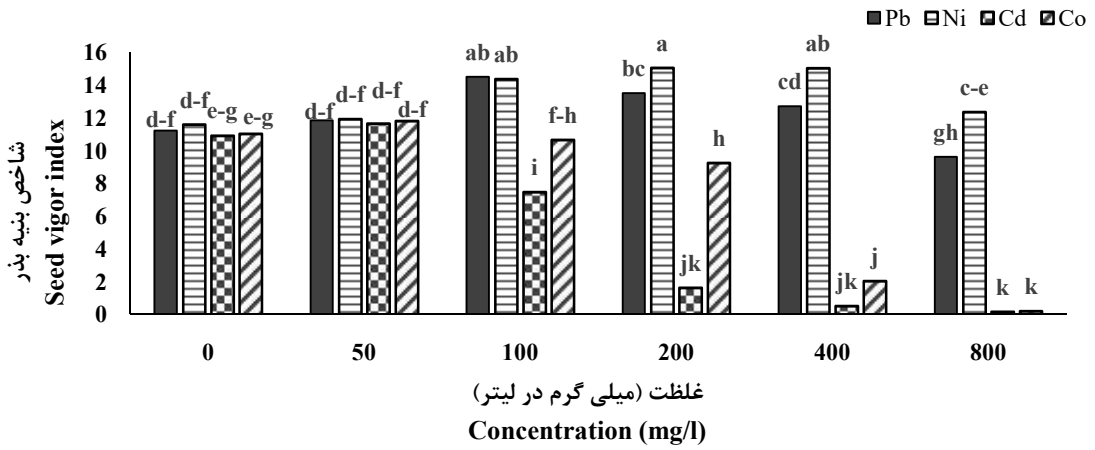
شکل ۱. تأثیر فلزهای سنگین بر الف) درصد و ب) سرعت جوانه‌زنی بذور تربچه.

Figure 1. Effect of heavy metals on germination percent and rate of radish (*Raphanus sativus* L.).



شکل ۲. تأثیر فلزهای سنگین بر میانگین زمان جوانه‌زنی بذور تربچه.

Figure 2. Effect of heavy metals on mean germination time of radish (*Raphanus sativus* L.).



شکل ۳. تأثیر فلزهای سنگین بر شاخص بنیه بذر تربچه.

Figure 3. Effect of heavy metals on seed vigor index of radish (*Raphanus sativus* L.).

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر فلزهای سنگین بر شاخص‌های رشد گیاهچه‌های تربچه.

Table 2. Analysis of variance of heavy metals effect on growth indices in Radish seedling (*Raphanus sativus* L.).

منابع تغییر Source of variations	درجه آزادی df	طول ریشه‌چه Root length	طول ساقه‌چه Shoot length	نسبت R/S R/S ratio	وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Shoot dry weight	وزن خشک کل Total dry weight
فلزهای سنگین Heavy metals	23	27.35**	12.81**	0.04**	0.00018**	0.00168**	0.00250**
خطا Error	48	0.83	0.41	0.59	0.00002	0.00034	0.00041

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد.

** significant at 1% probability level.

۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت ولی با افزایش غلظت تا ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر، وزن خشک ریشه‌چه به‌طور نزولی کاهش پیدا کرد (جدول ۳). اما تأثیر همه سطوح فلزهای کادمیوم و کبالت بر وزن خشک ریشه منفی و کاهشی بود. غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای سرب، نیکل، کادمیوم و کبالت وزن خشک ریشه را به ترتیب ۴۲، ۲۸، ۸۸ و ۹۰ درصد در مقایسه با شاهد کاهش دادند. تأثیر فلزهای سنگین بر وزن خشک ساقه‌چه متفاوت بود به‌طوریکه فلزهای سرب و نیکل تا سطح ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر، روندی افزایشی داشتند ولی در مورد فلزهای کادمیوم و کبالت به ترتیب تا سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر روند افزایشی مشاهده شد (جدول ۳). در غلظت‌های یکسان، کمترین مقادیر وزن خشک ساقه‌چه از فلز کادمیوم بدست آمد. کمترین (۰/۰۰۵ گرم) و بیشترین (۰/۱۰۰ گرم) وزن خشک کل به ترتیب از تیمارهای ۸۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای کادمیوم و سرب به دست آمد (جدول ۳). گزارش شده است که طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تأثیر غلظت‌های پایین فلزهای سنگین افزایش پیدا کرد (Talebi et al., 2014). فلزهای سنگین در غلظت‌های پایین می‌توانند نقش تغذیه‌ای داشته باشند

جدول ۳. تأثیر فلزهای سنگین بر شاخص‌های رشدی گیاهچه‌های تربچه.

Table 3. Effect of heavy metals on growth indices of radish (*Raphanus sativus* L.) seedling.

غلظت فلز	نوع فلز	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	طول ساقه‌چه(سانتی‌متر)	نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه (گرم)	وزن خشک ساقه‌چه(گرم)	وزن خشک کل(گرم)
Concentration	**Metal type**	**Root length (cm)**	**Shoot length (cm)**	**Root to shoot length ratio**	**Root dry weight (gr)**	**Shoot dry weight (gr)**	**Total dry weight (gr)**
0	Pb	6.03e-g	5.18d-f	1.16b-d	0.018bc	0.062ab	0.080a-c
	Ni	6.30ef	5.30c-f	1.19b-d	0.016b-e	0.050a-c	0.066bc
	Cd	5.96e-g	4.96ef	1.20b-d	0.014b-f	0.053ab	0.067bc
	Co	5.84e-g	5.20d-f	1.12cd	0.016b-e	0.054ab	0.070a-c
50	Pb	6.20ef	5.82b-e	1.07c-e	0.020b	0.073ab	0.930ab
	Ni	6.41ef	5.88b-e	1.17b-d	0.016b-e	0.063ab	0.075a-c
	Cd	6.54d-f	5.30c-f	1.24b-d	0.014b-f	0.059ab	0.073a-c
	Co	6.49ef	5.98a-e	1.12cd	0.007f-i	0.063ab	0.071a-c
100	Pb	9.64a	5.76b-e	1.67a	0.035a	0.065ab	0.100a
	Ni	8.88ab	6.09a-d	1.47ab	0.018bc	0.065ab	0.083a-c
	Cd	2.36i	5.12d-f	0.46f-h	0.002i	0.056ab	0.058c
	Co	4.60gh	6.16a-d	0.75ef	0.005hi	0.068ab	0.072a-c
200	Pb	8.12bc	5.79b-e	1.42a-c	0.013b-g	0.074ab	0.087a-c
	Ni	8.68ab	6.60ab	1.31b-d	0.011c-h	0.073ab	0.084a-c
	Cd	0.23j	1.61gh	0.15h	0.002i	0.021c-e	0.023d
	Co	3.42hi	6.09a-d	0.55fg	0.006gi	0.060ab	0.066bc
400	Pb	6.37ef	6.34a-c	1.01de	0.009e-i	0.081a	0.090a-c
	Ni	8.00b-d	7.04a	1.15b-d	0.011c-h	0.079a	0.090a-c
	Cd	0.15j	0.49i	0.31gh	0.001i	0.006e	0.007d
	Co	0.64j	1.91g	0.32gh	0.001i	0.018de	0.020d
800	Pb	5.54fg	4.39f	1.25b-d	0.010d-h	0.048b-d	0.058c
	Ni	7.10c-e	5.80b-e	1.25b-d	0.011c-h	0.065ab	0.077a-c
	Cd	0.08j	0.30i	0.26gh	0.001i	0.003e	0.005d
	Co	0.18j	0.61hi	0.28gh	0.001i	0.006e	0.007d

میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال پنج درصد و بر اساس آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with same letters are not significantly different at α=0.05 by LSD Test.

و برخی از عناصر مورد نیاز برای رشد گیاهچه را تأمین نمایند (Parmoon et al., 2014). اما سطوح بالای فلزهای سنگین باعث کاهش شاخص‌های رشدی گیاهچه‌های تربچه شد که با نتایج سایر محققین در گیاهان گل کلم (Chatterjee and Chatterjee, 2000)، لوبیا (Bhardwaj et al., 2009)، گندم (Veselov et al., 2003)، تریتیکاله (Talebi et al., 2014) و ماش (Nair and Rajani, 2015) مطابقت داشت. فلزهای سنگین با جلوگیری از تقسیم‌های میتوزی و طویل شدن سلول‌ها سبب کاهش رشد ریشه و ساقه می‌شوند (Shulan et al., 2010). علاوه براین، فلزهای سنگین در غلظت‌های بالا مانع ساخت RNA های ریبوزمی در سلول‌های مریستمی شده و سبب کاهش رشد می‌گردند (Serida et al., 2008). در این تحقیق تأثیر فلزهای سنگین بر کاهش طول ریشه‌چه نسبت به طول ساقه‌چه بیشتر بود که باعث کاهش نسبت R/S نیز شد. گزارش شده است که میزان حساسیت رشد ریشه در مقایسه با ساقه نسبت به فلزهای سنگین بیشتر است (Araujoand Monteiro, 2005; Fuentes et al., 2007; Talebi et al., 2014). علاوه‌براین، انتقال فلزهای سنگین از ریشه به اندام هوایی با محدودیت همراه است و این فلزها در بافت‌های ریشه تجمع می‌یابند که این امر باعث ایجاد سمیت بیشتر در ریشه می‌شود (Bidar et al., 2007). کاهش تولید زیست‌توده در اثر فلزهای سنگین نیز می‌تواند به دلیل کاهش رشد ریشه و اندام هوایی و اختلال در فرآیندهای فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن باشد (Balestrasse et al., 2001; Sundaramoorthy et al., 2010).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تأثیر سطوح پایین فلزهای سنگین بر درصد و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار نبود ولی بر صفات رشدی مانند (طول ریشه و ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل) اثر مثبت و افزایشی داشت. در بین فلزهای مورد بررسی میزان سمیت فلز کادمیوم در مقایسه با سایر فلزها بیشتر بود و بعد از آن فلز کبالت در رتبه بعدی قرار گرفت. اثرات منفی فلزهای نیکل و سرب بر صفات مورد بررسی در مقایسه با دو فلز دیگر بسیار کمتر بود. نتایج این تحقیق بیانگر آن است که جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های تربچه در مناطق آلوده به فلزهای سنگین امکان‌پذیر است.

منابع

Ahsan, N., Lee, D. G., Lee, S. H., Kang, K.Y., Lee, J. J., Kim, P. J., Yoon, H. S., Kim, J. S., Lee, B. H., 2007. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. Chemosphere. 67, 1182-1193.

Araujo, A. S. F., Monteiro, R. T. R., 2005. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. Scientia Agricola. 62, 286-290.

Bahmani, R., Habibi, D., Bihamta, M. R., 2014. Evaluation of common bean genotypes tolerance in response to cadmium stress at germination stage. Electronic Journal of Crop Production. 7, 61-80. [In Persian]

Bajji, M., Kinet, J. M., Lutts, S., 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplexhalimus* (Chenopodiaceae). Canadian Journal of Botany. 80, 297-304.

Balestrasse, K. B., Gardey, L., Gallego, S. M., Tomaro, M. L., 2001. Response of antioxidant defense system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Australian Journal of Plant Physiology. 28, 497-504.

Baycu, G., Doganay, T., Hakan, O., Sureyya, G., 2006. Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn, and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul. Environmental Pollution. 143, 545-554.

Bhardwaj, P., Chaturvedi, A. K., Prasad, P., 2009. Effect of enhanced lead and cadmium in soil on physiological and biochemical attributes of *Phaselous vulgaris*. Nature and Science. 7, 63-75.

Bidar, G., Garc, G., Pruvot, C., Dewaele, D., Cazier, F., Douay, F., Shirali, P., 2007. Behavior of *Trifoliumrepens* and *Loliumperenne* growing in a heavy metal contaminated field: Plant metal concentration andphytotoxicity. Environmental Pollution. 147, 546-553.

Balestrasse, K. B., Gardey, L., Gallego, S. M., Tomaro, M. L., 2001. Response of antioxidant defense system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Australian Journal of Plant Physiology. 28, 497-504.

Baycu, G., Doganay, T., Hakan, O., Sureyya, G., 2006. Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn, and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul. Environmental Pollution. 143, 545-554.

Bhardwaj, P., Chaturvedi, A. K., Prasad, P., 2009. Effect of enhanced lead and cadmium in soil on physiological and biochemical attributes of *Phaselous vulgaris*. Nature and Science. 7, 63-75.

Bidar, G., Garc, G., Pruvot, C., Dewaele, D., Cazier, F., Douay, F., Shirali, P., 2007. Behavior of *Trifoliumrepens* and *Loliumperenne* growing in a heavy metal contaminated field: Plant metal concentration and phytotoxicity. Environmental Pollution. 147, 546-553.

Brandenburg, W., Catherine, K., 2011. Effect of $MgCl_2$ on germination, growth and biomass allocation of the radish cv. “Cherry Belle”. American Journal of Environmental Sciences. 7, 132-135.

Chatterjee, J., Chatterjee, C., 2000. Phtotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. Environmental Pollution. 109, 69-74.

Dalvand, K., Eftekhari, S. A. 2014. Evaluation of cadmium uptake by radish cv. Sorkhan plant (*Raphanussativus* L.) in cadmium contaminated soils. Journal of Agricultural Engineering. 37, 67-75.

Das, P., Samantaray, S., Rout, G. R., 1997. Studies of cadmium toxicity in plants-review. Environmental Pollution. 98, 20-36.

Dastjerdi, Z., SafipourAfshar, A., Saeidnematpour, F., 2015. Effects of lead and methyl jasmonate on radish (*Raphanussativus* L.). Journal of Plant Process and Function. 4, 59-66

Elias, S. G., Copeland, L. O., 2001. Physiological and harvest maturity of canola in relation to seed quality. Agronomy Journal. 93, 1054-1058.

Fuentes, D., Disante, K. B., Valdecantos, A., Cortina, J., Vallejo, V. R., 2007. Sensitivity of Mediterranean woody seedlings to copper, nickel and zinc. Chemosphere. 66, 412-420.

Gall, J. E., Rajakaruna, N., 2013. The physiology, functional genomics, and applied ecology of heavy metal-tolerant brassicaceae. In: Lang, M., (Ed.), Brassicaceae: Characterization, Functional Genomics and Health Benefits. Nova Science Publishers: Hauppauge, NY, USA, pp. 121–148.

Ghosh, M., Singh, S. P., 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it’s by products. Asian Journal on Energy and Environment. 6, 214–231.

Gouia, H., Ghorbal, M. H., Meyer, C., 2001. Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiology. 38, 629-638.

Handique, G. K., Handique, A. K., 2009. Proline accumulation in lemongrass (*Cymbopogonflexuosus*Stapf.) due to heavy metal stress. Journal of Environmental Biology. 30, 299–302.

Jeliazkova, E. A., Craker, L. E., Xing, B., 2003. Seed germination of anise, caraway, and fennel in heavy metal contaminated solutions. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants. 10, 83-93.

Kopyra, M., Gwzdz, E. A., 2003. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinusluteus*. Plant Physiology and Biochemistry. 41, 1011-1017.

Kranner, I., Colville, L., 2011.Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. Environmental and Experimental Botany. 72, 93–105.

Liu, X., Zhang, S., Shan, X. Q., Christie, P., 2007. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination. Ecotoxicology and Environmental Safety. 68, 305-313.

Mathe-Gaspar, G., Anton A., 2002. Heavy metal uptake by two radish varieties. ActaBiologicaSzegediensis. 46, 113–114.

Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, P. D., 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in Baccopamonnieril. Plant Physiology and Biochemistry. 44, 25-37.

Nair, S. R., Rajani, V., 2015. Effects of heavy metals on seed germination and protein content of *Vignaradiata* (l.) Wilczek. International Journal of Advanced Research. 3, 1306-1317.

Pace, F., Cralle, H. T., El-Halawany, S. H. M., Cothren, J. T., Senseman, S. A., 1999. Drought-induced changes in shoot and root growth of young cotton plants. The Journal of Cotton Science. 3, 183-187.

Panda, S. K., Choudhury, S., 2005. Chromium stress in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17, 95-192.

Parmoon, G., Ebadie, A., Ghahremani, M., Moosavi, S. A., 2014. The effect of heavy metals on seed germination indices and vigor of maize under laboratory conditions. Journal of Seed Research. 4, 40-51. [In Persian]

Peivast, G. 2009. Growing Vegetables. Daneshpazir Press. Fifth Edition, 577 p. [In Persian]

Peralta, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., Tiemann, K. J., 2000. Study of the effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*) grown in soild media. Proceedings of the 2000 Conference on Hazardous Wast Research, pp. 135-140.

Raj, J., Rebecca, L. J., 2014. Phytoremediation of aluminium and lead using *Raphanussativus*, *Vignaradiata* and *Cicer arietinum*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 6, 1148-1152

Ruan, S., 2002. The influence of priming on germination of rice seeds and seedling emergence and performance in flooded soil. Seed Science and Technology. 30, 61-67.

Sabri, M., Tavily, A., Jafari, M., Hidary, M., 2010. Effect of different levels of heavy metals on germination and growth seedling of atriplex (*Atriplexlentiformis*). Journal of Range. 1, 112-120. [In Persian].

Sanita di Toppi, L., Gabbrielli, R., 1999. Response to cadmium in higher plants- review. Environmental and Experimental Botany. 41, 105-130.

Serida, K., Mohammad, B. A., Eun, J. H., Kee, Y. P., 2008. Copper toxicity in *Withaniasomnifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Environmental and Experimental Botany. 64, 279–285.

Shanker, K. A., Cervantes, C., Loza-Taversa, H., Avudainayagam, S., 2005. Chromium toxicity in plants. Environment International. 31, 739-753.

Shulan, Z., Qing L., Yanting, Q., Lian, D., 2010. Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in turf grass. ActaBiologicaCracoviensia Series Botanica. 52, 7–11.

Siddhu, G., Ali Khan, M. A., 2012. Effects of cadmium on growth and metabolism of *Phaseolus mungo*. Journal of Environmental Biology. 33, 173-179.

Singh, J., Upadhayay, S. K., Pathak, R. K., Gupta, V., 2011. Accumulation of heavy metal in soil and paddy crop (*Oryza sativa*), irrigated with water of Ramgarh Lake, Gorakhpur, UP, India. Toxicological and Environmental Chemistry. 93, 462-473.

Sundaramoorthy, P., Alagappan, C., Kaliyaperumal, S. G., Pachikkaran, U., Logalashmanan, B., 2010. Chromium stress in paddy: (i) Nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) Phytoremediation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. ComptesRendusBiologies. 333, 597-607.

Talebi, S., NabaviKalat, S. M., SohaniDarban, A. L., 2014. The study effects of heavy metals on germination characteristics and proline content of triticale (*TriticosealeWittmack*). International Journal of Farm and Allied Science. 3, 1080-1087.

Veselov, D., Kudoyarova, G., Symonyan, M., and Veselov, S., 2003. Effect of cadmium on ion uptake transpiration and cytokinin content in wheat seedlings. Bulgarian Journal of plant physiology, Special issue pp. 353-359.

Wang, X. F., Zhou, Q. X., 2005. Ecotoxicological effects of cadmium on three ornamental plants. Chemosphere. 60, 16-21.

Yang, Y., Wei, X., Lu, J., You, J., Wang, W., Shi, R., 2010. Lead–induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticumaestivum* L.). Ecotoxicology and Environmental Safety. 73, 1982-1987.

Journal of Seed Ecophysiology

Vol 2, No 1, 2017

63 - 75

University of Birjand

Effect of heavy metals on seed germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus* L.)

Mohammad Hossein Aminifard [1], Hassan Bayat[1*], Hossein Hammami[2]

1. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.
2. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.

Received 17 August 2016; Accepted 13 February 2017

Abstract

Introduction: Uptake of heavy metals by plants can result in harmful effects to plants and the plants are an important part of the food chain constitute, so a great danger for humans and other members of the food chain can have. Germination is the first stage of the plant life and is one of the most sensitive physiological processes that affected by hormonal and environmental factors (biotic and abiotic stresses). Heavy metals affect the germination of two ways; through general toxicity and inhibiting the absorption of water. Radish is an annual plant with the scientific name *Raphanussativus* belongs to the Brassicaceae family. The root is edible parts of this plant, which is in direct contact with soil and heavy metals can enter into the roots and stored along with the photosynthetic material. Among the studied plants, radish has ability to absorb and accumulate heavy metals and have been proposed for phytoremediation. However, there is no exhaustive research that showed the impact of the heavy metals Cadmium, Lead, Nickel and Cadmium on the germination and seedling growth of radish. Therefore, this research aimed to investigate the effect of different concentrations of heavy metals Cadmium, Lead, Nickel and Cobalt on germination and seedling growth of radish was conducted.

Materials and methods: This experiment was conducted based on completely randomized design with three replications in Research Laboratory, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, and University of Birjand in 2015. Treatments included heavy metals Lead, Nickel, Cadmium and Cobalt with concentrations of 0 (control), 50, 100, 200, 400 and 800 mg/l. The measured traits were germination percent, germination rate, mean germination time, seed vigor index, root length, shoot length, root to shoot length ratio and dry weight of root, shoot and total.

Results and discussion: The results showed that the effect of heavy metals on seed germination characteristics and seedling growth of radish was significant at the 1% level. The impact of low levels of heavy metals on seed germination (percentage and rate of germination) were not significant, but have the positive effects on growth traits (e.g., length of root and shoot and dry weight of root, shoot and total) and increased them. Among the metals studied the toxicity of Cadmium was higher than the other metals and Cobalt in ranked next after that. Seed germination percent were decreased with concentration of 800 mg/l of Lead, Nickel, Cadmium and Cobalt by 2, 4, 60 and 70 percent as compared to the control, respectively. The lowest and the highest germination rate were obtained from metals Cobalt and Lead with concentrations of 800 and 50 mg per liter, respectively.

*Correspondent author Email:hassanbayat@birjand.ac.ir

It is reported that heavy metals physiologically inhibit water uptake by seeds and plants and thereby prevents seed germination. It has been suggested that high concentrations of heavy metals cause damage to the embryo or even death it. Moreover, reduction of germination due to heavy metals could be due to its accumulation in the cell and thus its affinity with proteins which reduced the synthesis and production of structural proteins required for cell division and growth and germination processes. The highest root length (9.64 cm) and shoot length (7.04 cm) were obtained from metals Lead and Nickel with concentrations of 100 and 400 mg per liter, respectively. Metals Lead, Nickel, Cadmium and Cobalt with concentration of 800 mg/l were decreased root dry weight by 42, 28, 88 and 90 percent as compared to the control, respectively. The highest total dry weight (0.10 g) was obtained from Lead at concentration of 100 mg/l. Heavy metals by preventing mitotic divisions and cell elongation reduced growth of root and shoot. The results indicate that germination and seedling growth of radish is possible in areas contaminated by heavy metals.

Keywords: Cadmium, Cobalt, Lead, Nickel, Germination.