

تأثیر EDTA به عنوان همبندکننده بر رشد و انباشت کروم در گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.)

ژاله حسانی، علی گنجعلی، پروانه ابریشم‌چی* و حمید اجتهادی
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، تأثیر همبندکننده اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) بر انباشت کروم سه ظرفیتی و رشد گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) بررسی شد. گیاهچه‌های ۱۰ روزه، ۴ هفته در شرایط هیدروپونیک حاوی غلظت‌های مختلف کروم (۱، ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر) و همبندکننده (۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) کشت داده شدند. پس از برداشت، رشد، مقدار کروم در اندام هوایی و ریشه و مقدار پرولین در اندام هوایی اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل نشان داد که در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر کروم، استفاده از همبندکننده باعث افزایش معنی‌دار طول اندام هوایی و ریشه، سطح برگ و نسبت وزن تر ریشه به وزن تر اندام هوایی در مقایسه با تیمار کروم فاقد همبندکننده می‌شود. اندازه‌گیری مقدار پرولین مشخص کرد که در هر دو سطح همبندکننده و ۶ میلی‌گرم در لیتر کروم، مقدار پرولین در اندام هوایی به طور معنی‌دار نسبت به تیمار کروم فاقد همبندکننده کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج حاصل از این بررسی، همبندکننده در غلظت مناسب شرایط تنش‌زای ناشی از فلز کروم را کاهش می‌دهد و نه تنها تأثیر منفی بر رشد گیاه ندارد، بلکه باعث بهبود رشد آن نیز می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، تربچه (*Raphanus sativus* L.)، کروم سه ظرفیتی

مقدمه

برای حیات جانوران ضروری است. در انسان کمبود کروم موجب تأخیر رشد، کوتاه شدن عمر و کم شدن مقاومت در برابر تنش‌های فیزیولوژیک می‌شود، تغذیه از گیاهان و استفاده از کروم موجود در منابع گیاهی می‌تواند نیاز فیزیولوژیک جانوران را نسبت به این عنصر تأمین کند (Khodadoust et al., 1976). سمیت کروم در گیاهان به

فلزات سنگین از آلاینده‌های مهم محیط‌زیست محسوب می‌شوند. بسیاری از این فلزات حتی در غلظت‌های بسیار اندک نیز سمی هستند (Chen and Cutright, 2001). کروم، فلزی سنگین است که در گروه عناصر ضروری گیاهان قرار ندارد (Ghani, 2011)، اما

سلولی منجر می‌شود (Shanker *et al.*, 2005). کروم همچنین بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سیتوکروم اکسیداز و نیترات ردوکتاز تأثیر می‌گذارد (Ghani, 2011). انباشته شدن یون‌های فلزی توسط گیاه، تعادل یونی داخل سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Yadav, 2010).

در گیاهان سازوکارهایی برای کاهش آثار فلزات سنگین وجود دارد. اساس این سازوکارها بر پایه همبند شدن فلز و کده‌بندی (compartmentalization) آن در سلول است. گیاهان برای رشد در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین از سه راهکار اساسی استفاده می‌کنند. راهکار اول: گیاهان به طور مؤثر از ورود فلز به بخش هوایی جلوگیری می‌کنند. راهکار دوم: گیاهان فلزات را در اندام‌هایی که بیرون از خاک قرار گرفته‌اند انباشته می‌کنند و میزان فلز در بافت‌های این گیاهان نشان‌دهنده میزان فلز در خاک است. راهکار سوم، گونه‌های گیاهی می‌توانند فلزات را در مقادیری بیش از آنچه که در خاک و یا گونه‌های غیر انباشت‌گر مجاور یافت می‌شود، در اندام‌های بیرون از خاک خود انباشته کنند (Memon *et al.*, 2001). انباشت فرآیندی است که بخشی از آن تحت تأثیر توارث و بخشی از آن در اثر شرایط اکولوژیک حاصل می‌شود.

همبندکننده‌ها باعث جذب فلزات سنگین و افزایش تحرک آنها در گیاهان می‌شوند (Römken *et al.*, 2002). اتیلن دی‌آمین تترااستیک اسید (EDTA) همبندکننده‌ای سنتزی است که ظرفیت بالایی در همبند کردن فلزات دارد و کمپلکس آن با فلزات به آسانی توسط گیاه جذب می‌شود (Wu *et al.*, 2004). EDTA آثار متفاوتی بر رشد و متابولیسم گیاهان دارد.

ظرفیت آن بستگی دارد. کروم شش ظرفیتی دارای درجه بالایی از سمیت و تحرک است، در حالی که کروم سه ظرفیتی سمیت کمتری دارد. آثار سمیت کروم بر رشد و نمو گیاه در مراحل جوانه‌زنی، رشد ریشه، ساقه و برگ مشاهده می‌شود (Shanker *et al.*, 2005). غلظت‌های زیاد کروم بر جوانه‌زنی و زیست‌پذیری دانه‌ها تأثیر منفی دارد و رشد گیاهچه‌ها را محدود می‌کند (Akinci and Akinci, 2010). بر اساس نظر Zurayk و همکاران (۲۰۰۱)، کاهش جوانه‌زنی دانه در اثر تنش کروم به علت کاهش فعالیت آنزیم آمیلاز است. کاهش رشد ریشه تحت تأثیر فلزات سنگین در گیاهان می‌تواند به علت جلوگیری از فرآیندهای تقسیم سلولی در ریشه باشد. کروم تأثیر نامطلوبی بر رشد بخش هوایی دارد و علت عمده آن را می‌توان به کاهش رشد ریشه و متعاقب آن انتقال کمتر آب و مواد غذایی به بخش‌های هوایی گیاه نسبت داد. علاوه بر این، انتقال کروم به بخش هوایی اثر مستقیمی بر متابولیسم سلولی در بخش‌های هوایی دارد و به کاهش ارتفاع گیاه منجر می‌شود. همچنین، کروم تأثیر نامطلوبی بر فرآیندهای فیزیولوژیک نظیر فتوسنتز، روابط آبی و تغذیه معدنی دارد. تأثیر کروم بر مراحل مختلف فتوسنتز شامل تثبیت دی‌اکسید کربن، انتقال الکترون، فسفریلاسیون نوری و فعالیت‌های آنزیمی اعمال می‌شود. کروم به علت شباهت ساختاری با برخی عناصر ضروری، تغذیه معدنی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Shanker *et al.*, 2005). تغییرات متابولیک نیز توسط کروم در گیاهان ایجاد می‌شود. این تغییرات از طریق اثر مستقیم فلز کروم بر آنزیم‌ها، متابولیت‌ها و یا توانایی آن در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) و ایجاد تنش اکسیداتیو، اعمال می‌شود. تنش اکسیداتیو به آسیب

گیاه تربچه افزایش می‌دهد. همچنین، در حضور EDTA علیرغم انباشت کروم در گیاه کاهش رشد معنی‌داری مشاهده نمی‌شود، بنابراین EDTA آستانه تحمل گیاه تربچه را نسبت به کروم سه ظرفیتی افزایش می‌دهد. پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف EDTA بر انباشت فلز سنگین کروم سه ظرفیتی و همچنین، چگونگی تأثیر آن بر رشد و فیزیولوژی گیاه تربچه انجام شد، تا به این ترتیب غلظتی از همبند کننده انتخاب شود که ضمن کمک به افزایش تجمع فلز در گیاه، آستانه تحمل آن را به طور جدی کاهش ندهد، بلکه آن را افزایش دهد.

مواد و روش‌ها

روش کشت گلدانی گیاه تربچه و اعمال تیمارها

بذرهای گیاه تربچه پس از چند بار شستشو با آب، با هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند و به منظور جذب رطوبت، با آب مقطر شسته، به مدت ۲۴ ساعت در آب قرار گرفتند. پس از این مدت بذرهای در گلدان‌های ۱۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی ماسه (۵ بذر در هر گلدان) کشت شدند و در اتاقک رشد، در دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۲۶۰۰ لوکس و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. آبیاری روزانه گلدان‌ها با ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول غذایی هوگلند با اسیدیته ۵/۸ حاوی نیترات کلسیم، نیترات پتاسیم، سولفات منیزیم و فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم به مدت ۱۰ روز انجام شد. ۱۱ روز پس از کشت، محلول غذایی هوگلند حاوی غلظت‌های مورد نظر از فلز کروم و همبند کننده EDTA تهیه و پس از تنظیم اسیدیته به گیاهان افزوده شد. تیمارها عبارت بودند از: چهار سطح

برای مثال، EDTA جوانه‌زنی دانه و مقدار کلروفیل و پروکلین را در *Lolium perenne* و *Festuca arundinacea* افزایش می‌دهد (Duo et al., 2005). بررسی‌ها نشان داده است که در گیاه برنج رشد یافته در خاک آلوده با کادمیوم، EDTA مقدار پروکلین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز را افزایش می‌دهد، در حالی که فعالیت پراکسیداز و کاتالاز را کاهش می‌دهد. EDTA همچنین در گیاه برنج سبب افزایش مقدار پروکلین در بافت گیاهی می‌شود (Li et al., 2010).

بیش از ۵۰۰ گونه متعلق به ۱۰۱ تیره گیاهی به عنوان گونه‌های "بیش انباشت‌گر" گزارش شده است. این صفت به طور ویژه‌ای در تیره شب‌بو (Brassicaceae) مشهود است (Kramer, 2010). تیره شب‌بو دارای ۸۷ گونه بیش انباشت‌گر که به ۱۱ جنس تعلق دارند (Suresh and Ravishankar, 2004). گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) از تیره شب‌بو، گیاهی انباشت‌گر است (Baker and Brooks, 1989). آبیاری گیاه تربچه با پساب‌های صنعتی نشان داده است که تربچه قادر به بیش انباشت فلزات کروم، مس، نیکل و روی است (Pandey, 2006). همچنین انباشت فلزات سرب و کادمیوم نیز در گیاه تربچه گزارش شده است (Ouihamn et al., 2012).

با توجه به این که همبند کننده‌ها باعث افزایش انباشت فلز در بافت‌های گیاهی می‌شوند و این روش یکی از سازوکارهای دفاعی گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین است و از سوی دیگر بر اساس مطالعات پیشین که نشان داده‌اند گیاه تربچه به عنوان عضوی از تیره شب‌بو توانایی انباشت فلزات سنگین را دارد، فرضیه انتخاب شده در پژوهش حاضر آن بود که EDTA انباشت کروم را در

برای این منظور ۰/۰۵۰ گرم بافت خشک گیاهی (برگ یا ریشه) درون ارلن‌های ۲۵ میلی‌لیتری قرار گرفت. به هر یک از آنها ۳ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ افزوده شد و روی هر یک از ارلن‌ها یک شیشه ساعت قرار داده شد (برای هضم بافت گیاهی)، پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت، ارلن‌ها به مدت ۱/۵ تا ۲ ساعت روی اجاق‌گاز آزمایشگاه به آرامی حرارت داده شدند تا محلول درون آنها بی‌رنگ و نیتریک اسید تبخیر شود. سپس، حجم هر یک از ارلن‌ها در بالن ژوژه با آب مقطر به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از صاف کردن، جذب اتمی هر نمونه با دستگاه Hermle Atomic absorption (مدل AA-670G) ثبت شد.

سنجش مقدار پرولین

برای استخراج و سنجش پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. پس از آماده شدن نمونه‌ها میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu (مدل UV-120-02) در طول موج ۵۲۰ نانومتر ثبت شد.

تحلیل داده‌ها

برای تحلیل آماری داده‌ها و همچنین برای تحلیل واریانس داده‌ها از نرم‌افزارهای Jmp و Mstat-c استفاده شد. میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال $P \leq 0/05$ مقایسه و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج

تأثیر کروم بر شاخص‌های رشد

در این پژوهش، نشانه‌های سمیت کروم در غلظت‌های ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر، به صورت زردی در برگ‌های جوان و کوچک انتهایی مشاهده شد.

نیترات کروم (۱، ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر) (۱۹/۲، ۳۸/۴، ۷۶/۶ و ۱۱۵/۲ میکرومول) به همراه شاهد و دو سطح EDTA (۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) (۳/۴ و ۱۰/۲ میکرومول). آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

زمان و روش نمونه‌برداری از گیاهان

گیاهان ۴ هفته پس از شروع تیمارها برداشت شدند. در این مدت محلول غذایی هوگلدن به صورت هفتگی تهیه و پس از افزودن تیمارهای مورد نظر و تنظیم اسیدیته به گیاهان اعمال شد. بخش هوایی، ریشه و بخش غده‌ای ریشه از یکدیگر جدا شد و پس از اندازه‌گیری صفات مورد بررسی، بخشی از نمونه‌ها برای سنجش‌های بیوشیمیایی بعدی خشک و بخشی دیگر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

سطح برگ گیاهان پس از جدا شدن از ساقه با استفاده از دستگاه اسکنر Ligt box (مدل Delta-T) اندازه‌گیری شد. وزن تر اندام هوایی، ریشه و بخش غده‌ای ریشه به طور جداگانه با ترازوی دیجیتال Sartorius با دقت ۰/۰۰۱ گرم و وزن خشک آنها پس از قرار گرفتن در آون (دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت) تعیین شد. برای اندازه‌گیری سطح ریشه، نخست ریشه‌ها با محلول آبی رنگ متیل بنفش (برای ایجاد تضاد)، رنگ آمیزی شدند و سپس با دستگاه اسکنر Ligt box (مدل Delta-T)، سطح آنها تعیین شد.

سنجش‌های بیوشیمیایی

تعیین غلظت کروم موجود در اندام‌های گیاهی

برای سنجش مقدار کروم در بافت‌های گیاهی، نخست خاکستر تر با روش Wallis (۱۹۵۸) تهیه شد.

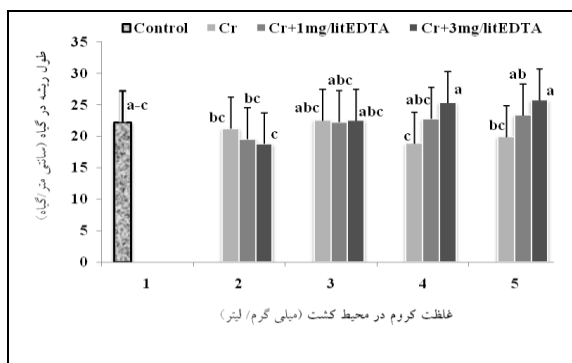
به تیمار کروم بدون همبند کننده افزایش معنی دار داشت ($P \leq 0/05$) (شکل ۲).

کاربرد همبند کننده (۳ میلی گرم در لیتر) همراه با کروم (۴ و ۶ میلی گرم در لیتر کروم) باعث افزایش معنی دار سطح برگ شد. این افزایش حتی در مقایسه با گیاهان شاهد هم معنی دار بود ($P \leq 0/05$) (شکل ۳). سطح ریشه در تیمار ۶ میلی گرم در لیتر کروم همراه با همبند کننده (۱ و ۳ میلی گرم در لیتر) نیز نسبت به تیمار کروم به تنهایی و همین طور گیاهان شاهد افزایش معنی دار نشان داد ($P \leq 0/05$) (شکل ۴).

انباشت کروم در بافت گیاهی

با افزایش غلظت کروم در محیط کشت، انباشت این فلز در اندام هوایی و ریشه افزایش یافت، با وجود این، روند افزایش نسبت به شاهد معنی دار نبود. اگر چه میزان تجمع کروم در ریشه بیشتر از بخش هوایی بود، اما این برتری نیز معنی دار نبود (جدول ۱).

در این بررسی، حضور همبند کننده جذب فلز توسط گیاه را افزایش داد و میزان تجمع کروم در اندام های گیاه بیشتر از تیمار کروم بدون همبند کننده بود، اما این افزایش معنی دار نبود (جدول ۱).



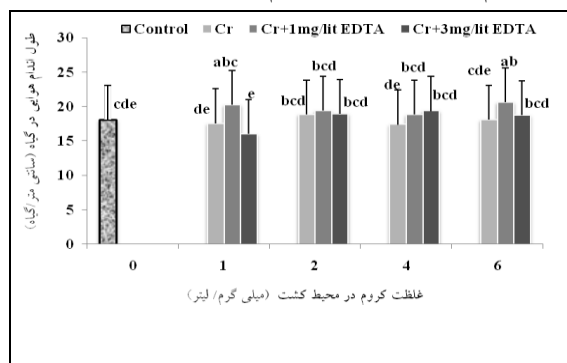
شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف Cr^{+3} و همبند کننده EDTA بر طول ریشه. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن ($P \leq 0/05$) است.

اغلب ویژگی های رشد (طول، وزن تر و خشک اندام هوایی، سطح برگ و ریشه، نسبت وزن تر ریشه به وزن تر اندام هوایی، نسبت سطح برگ به سطح ریشه) در غلظت ۶ میلی گرم در لیتر کروم نسبت به شاهد افزایش یافت. با وجود این، افزایش تنها در مورد سطح برگ معنی دار بود. بنابراین، در پژوهش حاضر، آستانه تحمل گیاه تربچه نسبت به کروم سه ظرفیتی بیشتر از غلظت هایی بود که در این تحقیق استفاده شد.

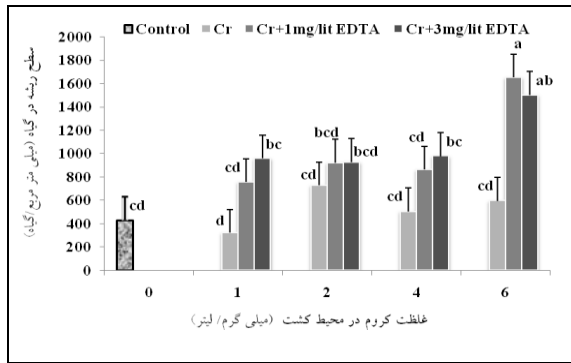
اثر متقابل کروم و همبند کننده بر شاخص های رشد

افزایش طول اندام هوایی، هنگام استفاده از ۶ میلی گرم در لیتر کروم همراه با ۱ میلی گرم در لیتر کلاتور، نسبت به شاهد معنی دار بود. همچنین، طول بخش هوایی با تیمارهای ۱ و ۶ میلی گرم در لیتر کروم، همراه با ۱ میلی گرم در لیتر کلاتور، در مقایسه با گیاهان تیمار شده با غلظت های مشابه کروم بدون کلاتور به طرز معنی داری افزایش داشت ($P \leq 0/05$) (شکل ۱).

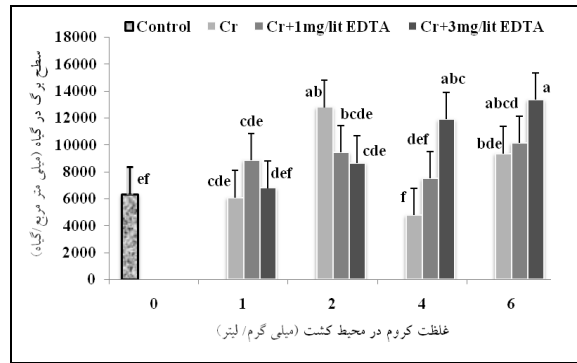
طول ریشه تنها در تیمارهای ۴ و ۶ میلی گرم در لیتر کروم همراه با ۳ میلی گرم در لیتر EDTA نسبت



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف Cr^{+3} و همبند کننده EDTA بر طول اندام هوایی. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن ($P \leq 0/05$) است.



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف Cr^{+3} و همبند کننده EDTA بر سطح ریشه. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف Cr^{+3} و همبند کننده EDTA بر سطح برگ. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.

جدول ۱- مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تأثیر کروم و همبند کننده بر انباشت کروم در بافت‌های گیاه تربچه. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.

مقدار کروم (گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک)	همبند کننده EDTA (میلی گرم/لیتر)	کروم (میلی گرم/لیتر)
اندام هوایی در گیاه	ریشه در گیاه	
۰/۰۱۴۲±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۳۲۴±۰/۰۰۴ ^a	۰
۰/۰۰۵۰±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۲۳۲±۰/۰۰۴ ^{ab}	۱
۰/۰۱۰۸±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۱۳۳±۰/۰۰۴ ^{ab}	۳
۰/۰۰۹۹±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۰۷۳±۰/۰۰۴ ^b	۰
۰/۰۱۱۷±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۱۵۵±۰/۰۰۴ ^{ab}	۱
۰/۰۱۰۴±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۱۵۲±۰/۰۰۴ ^{ab}	۳
۰/۰۱۲۷±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۲۲۷±۰/۰۰۴ ^{ab}	۰
۰/۰۱۸۷±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۲۶۷±۰/۰۰۴ ^{ab}	۱
۰/۰۱۱۸±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۲۴۶±۰/۰۰۴ ^{ab}	۳
۰/۰۰۹۲±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۱۸۰±۰/۰۰۴ ^{ab}	۰
۰/۰۱۰۴±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۱۴۹±۰/۰۰۴ ^{ab}	۱
۰/۰۱۲۹±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۲۷۱±۰/۰۰۴ ^{ab}	۳

فلز (یک میلی‌گرم در لیتر) افزایش معنی‌دار نشان داد ($P \leq 0.05$).

همچنین، استفاده از EDTA هم‌زمان با فلز کروم در محیط کشت، باعث کاهش مقدار پرولین در بخش هوایی گیاه تربچه شد. این کاهش در برخی تیمارها کاملاً مشخص بود ($3 \text{ mg/L EDTA} + 6 \text{ g/L Cr}^{+3}$ و

تأثیر کروم و همبند کننده بر مقدار پرولین در بافت گیاهی

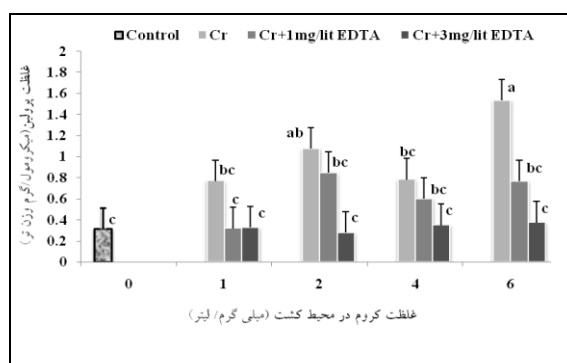
در بررسی حاضر، مقدار پرولین در اندام هوایی با افزایش غلظت کروم در محیط کشت افزایش یافت. مقدار پرولین در بیشترین سطح کروم (۶ میلی‌گرم در لیتر) در مقایسه با گیاهان تیمار شده با کمترین سطح از

آثار سمی کروم بر رشد در بسیاری از گونه‌های گیاهی بررسی شده است. برای مثال، Zaker (۲۰۰۴) با کشت گیاهچه‌های جعفری در محیط هیدروپونیک حاوی غلظت‌های مختلف Cr^{+3} نشان داد که جذب کروم رشد و میزان کلروفیل را در گیاهان به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوری که با افزایش غلظت کروم در محیط طول ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و میزان کلروفیل به تدریج به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد.

یافته‌های Panda و Patra (۲۰۰۰) نشان داد که طول ریشه در نهال‌های گیاه گندم تحت تأثیر یک میکرومول کروم افزایش و در غلظت‌های بیشتری از فلز کاهش می‌یابد.

در بررسی حاضر، استفاده از EDTA همراه با فلز سنگین باعث تحریک رشد گیاه تربچه شد. حضور EDTA به همراه کروم در محیط کشت باعث افزایش معنی‌دار صفات رشد مانند طول اندام هوایی و ریشه، سطح برگ و ریشه نسبت به تیمار کروم به تنهایی شد، به طوری که استفاده از ۳ میلی‌گرم در لیتر EDTA (برخلاف غلظت یک میلی‌گرم در لیتر از آن) به همراه غلظت‌های ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر کروم در محیط کشت، سبب افزایش معنی‌دار سطح برگ نسبت به تیمار کروم به تنهایی شد. افزایش سطح برگ یکی از عواملی است که می‌تواند با تقویت توان فتوسنتزی گیاه به رشد و سازش آن در شرایط تنش‌زا کمک کند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر EDTA می‌تواند علیرغم وجود فلز سنگین در محیط، طول ریشه را به طور قابل توجهی در گیاه تربچه افزایش

دهد که می‌تواند نشانه‌ای از کاهش شرایط تنش‌زا توسط همبند کننده باشد (شکل ۵). به نظر می‌رسد که با کاهش انتقال فلز از ریشه به بخش هوایی در حضور همبند کننده، مقدار پروکلین در این بخش به طور معنی‌داری نسبت به تیمارهای فاقد همبند کننده کاهش می‌یابد.



شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف Cr^{+3} و همبند کننده EDTA بر مقدار پروکلین در اندام هوایی. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.

بحث

در مجموع می‌توان گفت که غلظت‌های استفاده شده فلز سنگین کروم در این بررسی، تأثیر معنی‌دار و درخور توجهی بر رشد گیاه تربچه نداشتند، زیرا شاخص‌های رشد مانند طول اندام هوایی، طول ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه در هیچ کدام از سطوح کروم نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری نداشتند. با وجود این، افزایش سطح برگ در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر کروم معنی‌دار بود. با توجه به این نتایج می‌توان گفت که در پژوهش حاضر آستانه تحمل گیاه تربچه نسبت به کروم سه ظرفیتی بیشتر از غلظت‌هایی بود که در این طرح استفاده شد.

ریشه را در گیاه آفتابگردان کاهش داد. در حالی که استفاده از ۱ و ۱/۵ میلی‌مول همبندکننده همراه با یک میلی‌مول سرب به ترتیب باعث بهبود وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه شد.

طبق بررسی Krystofova و همکاران (۲۰۰۹) گیاهان آفتابگردان تیمار شده با غلظت‌های مختلف سرب به همراه EDTA، نسبت به شاهد سریع‌تر رشد کردند و افزایش مشخصی در وزن خشک و طول اندام هوایی و وزن تر ریشه داشتند (به جز در بالاترین غلظت‌ها).

از سوی دیگر، برخی گزارش‌ها نشان‌دهنده کاهش ماده خشک گیاهی تحت تأثیر EDTA هستند. برای مثال، در مطالعه‌ای Xu و همکاران (۲۰۰۹)، تأثیر روی، کادمیوم و EDTA بر رشد گیاه *Vetiveria zizanioides* بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده در مقایسه با گیاهان شاهد، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه در حضور EDTA به ترتیب ۱۰ و ۱۵ درصد کاهش یافت.

مطالعه Cui و همکاران (۲۰۰۶) نشان داده است که EDTA اثر ممانعتی فلز بر طویل شدن ریشه را کاهش می‌دهد و باعث افزایش تعداد ریشه‌های جانبی می‌شود.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر با افزایش مقدار فلز در محیط کشت، مقدار فلز سنگین در بافت‌های گیاهی (اندام هوایی و ریشه) نیز افزایش می‌یابد. همچنین، بررسی مقدار کروم موجود در ریشه و بخش هوایی گیاه تربچه، نشان داد که مقدار فلز در ریشه حدود ۱/۵ تا ۲ برابر بیشتر از اندام هوایی است و بخش عمده‌ای از فلز سنگین که توسط گیاه جذب می‌شود، در خود ریشه

دهد (به ویژه در غلظت‌های ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر کروم). یکی از شاخص‌های مهم برای مقاومت گیاه نسبت به فلز سنگین تفاوت در طول ریشه است (Azhar *et al.*, 2009). همچنین، استفاده از هر دو غلظت EDTA باعث افزایش معنی‌دار سطح ریشه نسبت به تیمار کروم به تنهایی شد. از آنجا که ریشه اندامی مهم در جلوگیری از انتقال فلزات سنگین به بخش هوایی است، بدیهی است که تقویت آن به ویژه در سطوح بالاتر فلز سنگین به سازگاری گیاه در برابر آثار مضر فلز کمک می‌کند. مشاهده افزایش معنی‌دار رشد ریشه در گیاهان تیمار شده با ۳ میلی‌گرم در لیتر EDTA و ۶ میلی‌گرم در لیتر کروم شاهدی بر این ادعا است. از این نظر، غلظت بالاتر همبندکننده تأثیر بیشتری داشت. به طور کلی، تأثیر همبندکننده بر طول و سطح ریشه بیشتر از تأثیر آن بر بخش هوایی بود و حضور آن باعث بهبود رشد گیاهان شد.

استفاده از EDTA همراه با فلزات سنگین و بررسی اثر آن بر رشد گیاهان مختلف توسط پژوهشگران متعددی انجام شده است و نتایج حاصل بسته به نوع گیاه و نوع فلز سنگین متفاوت است. برای مثال، در مطالعه‌ای که توسط Zeid و Abou El Ghate (۲۰۰۷) انجام شد، رشد گیاهچه‌های لوبیا که با پساب حاوی فلزات سنگین مس، روی، کادمیوم و سرب آبیاری شده بودند در حضور EDTA بررسی و مشخص شد که همبندکننده اثر ممانعتی فلزات سنگین بر رشد گیاهچه‌ها را کاهش می‌دهد.

بر اساس تحقیق Azhar و همکاران (۲۰۰۹) استفاده از EDTA و فلز به تنهایی، وزن خشک اندام هوایی و

نقش دارد، تغییر در تعادل آلاینده‌ها بین فاز محلول خاک و فاز جامد آن است. هنگامی که همبند کننده‌ها به خاک اضافه می‌شوند، با فلزات کمپلکس‌های محلول تشکیل می‌دهند و به این ترتیب باعث تحرک فلز می‌شوند. مطابق با نظریه غالب مبنی بر جذب فلز همبند شده توسط گیاهان، تنها یون‌های آزاد جدا شده از کمپلکس فلز-لیگاند جذب ریشه‌های گیاه می‌شوند و لیگاند در محلول خاک باقی می‌ماند. بر اساس نظریه دیگر، کمپلکس‌های فلز-لیگاند جذب شده توسط ریشه‌های گیاه از طریق گزینش به بخش هوایی منتقل در آن جا انباشته می‌شوند. علاوه بر این، نظریه دیگر وجود دارد که EDTA پروتونه آزاد پس از ورود به ریشه گیاه با فلز کمپلکسی را تشکیل و انتقال فلز را به بخش هوایی افزایش می‌دهد (Wu et al., 2007).

در تحقیق حاضر، جذب فلز توسط گیاه در حضور همبند کننده افزایش یافت و مقدار کروم انباشته شده در اندام‌های گیاه بیشتر از تیمار کروم بدون همبند کننده بود. اگر چه این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نیست، اما ممکن است از تأثیر EDTA بر مقدار تثبیت فلز در سطح بستر کشت و حلالیت آن ناشی شده باشد. همچنین، این احتمال نیز مردود نیست که مقادیر استفاده شده از EDTA برای همبند کردن غلظت‌های به کار رفته از فلز کافی نبوده باشد.

انباشت پرولین به عنوان یک نشانگر برای شرایط تنش‌زای محیطی محسوب می‌شود و نقش حیاتی و مهمی در این زمینه دارد (Hajiboland and Hasani, 2007). پرولین می‌تواند به عنوان منبع کربن و نیتروژن در شرایط تنش‌زا عمل کند. همچنین، در نقش آنتی‌اکسیدان (Pál et al., 2006) با حذف گونه‌های

باقی می‌ماند. این امر می‌تواند یکی از راه‌های تحمل و مقاومت گیاه نسبت به فلزات سنگین باشد.

علت انباشت بیشتر کروم در ریشه می‌تواند عدم تحرک کروم در واکوئل‌های سلول‌های ریشه باشد که به کاهش سمیت کروم منجر می‌شود (Shanker et al., 2005).

تجمع بیشتر کروم در ریشه گیاهان نسبت به بخش هوایی توسط Jamshidi (۲۰۰۶) روی گیاه تربچه و Dogo و همکاران (۲۰۱۱) روی گیاه نعناع (*Mentha piperita*) گزارش شده است.

در کشت‌های هیدروپونیک چندین گونه گیاهی مانند تربچه، گوجه‌فرنگی، چغندر و کلم انتقال کروم از ریشه به بخش هوایی به طور گسترده‌ای توسط گیاهان محدود می‌شود، به طوری که مقدار انباشت کروم در ریشه ۱۰۰ برابر بیشتر از بخش هوایی است (Zayed et al., 1998).

تأثیر مثبت همبند کننده EDTA بر جذب فلزات سنگین توسط ریشه گیاهان مختلف نظیر نخودفرنگی (Piechalak et al., 2003) و آفتابگردان (Chen and Cutright, 2001; Lesage et al., 2005) گزارش شده است.

بررسی‌های نشان داده‌اند که جذب کمپلکس فلز-EDTA از طریق آپوپلاست به شکل غیر انتخابی انجام می‌شود (Hernández-Allica et al., 2007). اثر همبند شدن بر جذب فلز به مکانیسم‌های مختلف جذب فلز بستگی دارد. همبند کننده می‌تواند با اثر بر میزان حلالیت و تحرک فلز در خاک یا محیط کشت در جذب آن تأثیر بگذارد (Gupta et al., 2008). مکانیسم اصلی که در تحرک فلز توسط همبند کننده

در حضور یک میلی گرم در لیتر EDTA به همراه ۶ میلی گرم در لیتر کروم، مقدار پرولین نسبت به تیمار کروم به تنهایی به نصف کاهش یافت. از طرفی، مقدار پرولین در اندام هوایی گیاهان تیمار شده با ۶ میلی گرم در لیتر کروم (بدون حضور همبندکننده)، ۴ برابر مقدار آن در اندام هوایی گیاهان تیمار شده با ۳ میلی گرم در لیتر EDTA و ۶ میلی گرم در لیتر کروم بود. به این ترتیب غلظت بیشتر همبندکننده باعث کاهش بیشتر مقدار پرولین در بافت گیاهی نسبت به تیمار کروم به تنهایی می‌شود. این نتیجه می‌تواند تأییدی بر تأثیر مثبت همبندکننده بر کاهش تنش ناشی از کروم در گیاه تربچه باشد.

در تأیید این نتیجه می‌توان به مطالعه Saleh (۲۰۰۲) روی گیاه اسفناج آبی (*Chorcorus oltorius*) درباره اثر تنش نیکل و استفاده از EDTA اشاره کرد. این پژوهشگران نشان دادند که با افزایش غلظت نیکل مقدار پرولین در اندام هوایی به طور معنی‌داری افزایش و در صورت استفاده از تیمار EDTA کاهش می‌یابد.

جمع‌بندی

پژوهش حاضر برای نخستین بار تأثیر همبندکننده EDTA را بر رشد و انباشتگی کروم در گیاه تربچه بررسی کرد. نتایج نشان داد که گیاه تربچه می‌تواند تا غلظت ۶ میلی گرم در لیتر کروم سه ظرفیتی را به خوبی تحمل کند، بدون آن که کاهش معنی‌دار و شدیدی در شاخص‌های رشد آن ایجاد شود.

استفاده هم‌زمان همبندکننده EDTA و فلز کروم می‌تواند در برخی غلظت‌ها باعث بهبود شاخص‌های رشد مانند طول اندام هوایی و ریشه، سطح برگ و

فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد به تثبیت ماکرومولکول‌ها کمک کند. این آمینو اسید می‌تواند همبندکننده فلزات باشد (Sharma and Dietz, 2006) و با تنظیم اسیدیته و تثبیت سنتز پروتئین‌ها، گیاه را در شرایط تنش‌زا حمایت کند (Pál et al., 2006).

در این مطالعه، مقدار پرولین در اندام هوایی گیاهان تیمار شده با کروم با افزایش غلظت کروم از ۲ تا ۶ میلی گرم در لیتر افزایش یافت که می‌تواند سازوکار احتمالی در گیاه تربچه برای تحفیف آثار سوء فلز سنگین کروم باشد.

به طور مشابه Schat و همکاران (۱۹۹۷) با مطالعه القای انباشت پرولین در حضور مس، کادمیوم و روی در اکوتیپ‌های مقاوم و غیرمقاوم *Silene vulgaris* گزارش کردند که مقدار پرولین در برگ اکوتیپ‌های مقاوم ۵ تا ۶ برابر بیشتر از اکوتیپ‌های غیرمقاوم است.

در مطالعه‌ای که توسط Hasani و Hajiboland (۲۰۰۷) انجام شد، سمیت منگنز و مس در گیاه برنج و آفتابگردان بررسی و افزایش معنی‌داری در مقدار پرولین مشاهده شد. مطالعات انجام شده روی گیاه آفتابگردان نشان داده است که حضور فلزات سرب و نیکل شدت تأثیر تنش شوری را در گیاه افزایش می‌دهد و به این ترتیب غلظت پرولین در برگ‌های گیاه افزایش می‌یابد (Saima et al., 2010).

در تحقیق حاضر، حضور هم‌زمان EDTA و کروم در محیط کشت باعث کاهش معنی‌دار مقدار پرولین در اندام هوایی گیاه تربچه شد. به طوری که مقدار پرولین در غلظت ۶ میلی گرم در لیتر کروم به طور معنی‌داری نسبت به تیمار کروم به تنهایی کاهش یافت. همچنین،

گیاه و تخفیف آثار تنش، بررسی‌های بیشتری نظیر چگونگی تأثیر آن بر سیستم‌های آنزیمی از جمله آنزیم‌های دخیل در متابولیسم یا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مقدار هورمون‌های تنظیم کننده رشد و شاخص‌های مربوط به روابط آبی نظیر پتانسیل آب برگ، پتانسیل اسمزی و فشار تورژسانس ضروری است.

سپاسگزاری

با سپاس فراوان از اساتید ارجمند، مسؤولان محترم پژوهشکده گیاهی، آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی و تجزیه دستگاهی که در مراحل گوناگون انجام این پژوهش نقش ویژه داشتند.

سطح ریشه نسبت به تیمار فلز به تنهایی و حتی در برخی موارد نسبت به شاهد شود. در حضور همبند کننده مقدار انباشتگی کروم در اندام‌های زیرزمینی و هوایی گیاه به طور چشم گیر و معنی داری تغییر نکرد. بنابراین، به نظر نمی‌رسد که غلظت‌های به کار گرفته شده از کروم و EDTA بر جذب و انتقال فلز از ریشه به اندام هوایی تأثیر معنی داری داشته باشند و از این طریق تأثیر مثبت بر رشد گیاه اعمال نموده باشند.

کاهش معنی دار مقدار پرولین به عنوان ماده آنتی‌اکسیدان و ضد تنش با عملکردهای متعدد، در حضور همبند کننده می‌تواند نشانه‌ای از کاهش شدت تنش وارد به گیاه و تخفیف آن در حضور EDTA باشد. برای درک مکانیسم اثر همبند کننده بر بهبود رشد

منابع

- Akinci, I. E. and Akinci, S. (2010) Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). African Journal of Biotechnology 9(29): 4589-4594.
- Azhar, N., Ashraf, M. Y., Hussain, M., Ashraf, R. and Ahmed, R. (2009) EDTA-Induced improvement in growth and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants grown in lead contaminated medium. Pakistan Journal of Botany 41(6): 3065-3074.
- Baker, A. J. M. and Brooks, R. R. (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements a review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81-126.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Team, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39(1): 205-207.
- Chen, H. and Cutright, T. (2001) EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr and Ni uptake by *Helianthus annuus*. Chemosphere 45(1): 21-28.
- Cui, S., Zhou, Q. X., Wei, S. H., Wei, Z., Cao, L. and Ren, L. P. (2006) Effects of exogenous chelators on phytoavailability and toxicity of Pb in *Zinnia elegans* Jacq. Journal of Hazardous Materials 146(1-2): 341-346.
- Dogo, S., Razic, S. and Manojlovic, D. and Slavkovic, L. (2011) Analysis of the bioavailability of Cr (III) and Cr (VI) based on the determination of chromium in *Mentha piperita* by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Journal of Serbian Chemical Society 76(1): 143-153.
- Dou, L. A., Gao, Y. B. and Zhao, S. L. (2005) Heavy metal accumulation and ecological responses of turfgrass to rubbish compost with EDTA addition. Journal of Integrative Plant Biology 47(9): 1047-1054.
- Ghani, A. (2011) Effect of chromium toxicity on growth, chlorophyll and some mineral nutrients of *brassica juncea* L. Egyptian

- Academic Journal of Biological Sciences 2(1): 9-15.
- Gupta, D. K., Srivastava, A. and Singh, V. P. (2008) EDTA enhances lead uptake and facilitates phytoremediation by vetiver grass. *Journal of Environmental Biology* 26(6): 903-906.
- Hajiboland, R. and Hasani, B. D. (2007) Involvement of antioxidant defense capacity of rice and sunflower in their response to Cu and Mn toxicity under different light intensities. *Journal of Sciences* 18(2): 103-113.
- Hernández-Allica, J., Garbisu, C., Barrutia, O. and Becerril, J. M. (2007) EDTA-induced heavy metal accumulation and phytotoxicity in cardoon plants. *Environmental and Experimental Botany* 60(1): 26-32.
- Jamshidi, S. (2006) Effect of different concentrations of chromium (Cr^{3+}) on vegetation growth of *Raphanus sativus*. MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (in Persian).
- Khodadoust, A., Asgari Shirazi, H. and Moezi, R. (1976) Importance and role of chromium in human metabolism. *Journal of Medical College, Medical Sciences University, Tehran* 8: 312-316.
- Kramer, U. (2010) Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review Plant Biology* 61: 517-534.
- Krystofova, O., Shestivska, V., Galiova, M., Novotny K., Kaiser, J., Zehnalek, J., Babula, P., Opatrilova, L., Adam, V. and Kizek, R. (2009) Sunflower plants as bioindicators of environmental pollution with lead (II) ions. *Sensors* 9: 5040-5058.
- Lesage, E., Meers, E., Vervaeke, P., Lamsal, S., Hopgood, M., Tack, F. M. and Verloo, M. G. (2005) Enhanced phytoextraction: effect of EDTA and citric acid on heavy metal uptake by *Helianthus annuus* from a calcareous soil. *International Journal of Phytoremediation* 7(2): 143-152.
- Li, Y. R., Wu, Y. B., Xu, X. H. and Xu, W. H. (2010) Effects of organic acid and EDTA on the physiological and biochemical characteristics of rice in cadmium-contaminated soil. *Journal of Agricultural Sciences* 1: 91-102.
- Memon, A. R., Aktoprakligil, D., Özdemir, A. and Vertii, A. (2001) Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. *Turkish Journal of Botany* 25(3): 111-121.
- Ouihamn, E. L. M., Hbaiz, E. L. M., Lebkiri, M., Lebkiri, A., Rifi, E. L. H. and Ouza, A. (2012) Bio-accumulation of the metal elements traces by the radish (*Raphanus sativus*) cultivated on grounds amended by muds of a sewage treatment plant. *Journal of Material Environmental Sciences* 3(3): 469-476.
- Pál, M., Horváth, E., Janda, T., Páldi, E. and Szalai, G. (2006) Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169(2): 239-246.
- Panda, S. K. and Patra, H. K. (2000) Nitrate and ammonium ions effect on the chromium toxicity in developing wheat seedlings. *Proceedings National Academy of Sciences India, Section B. Biological Sciences* 70(1): 75-80.
- Pandey, S. N. (2006) Accumulation of heavy metals (Cd, Cr, Cu, Ni and Zn) in *Raphanus sativus* L. and *Spinacia oleracea* L. plants irrigated with industrial effluent. *Journal of Environmental Biology* 27(2): 381-384.
- Piechalak, A., Tomaszewska, B. and Baralkiewicz, D. (2003) Enhancing phytoremediative ability of *Pisum sativum* by EDTA application. *Phytochemistry* 64(7): 1239-1251.
- Römkens, P., Bouwman, L., Japenga, J. and Draaisma, C. (2002) Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils, *Environmental Pollution* 116(1): 109-121.
- Saima, M., Bhatti, H. N., Khalid, M., Anwar, U. H. and Shahzad, S. M. (2010) Potential

- of sunflower (*Helianthus annuus* L.) for phytoremediation of nickel (Ni) and lead (Pb) contaminated water. *Pakistan Journal of Botany* 42(6): 4017-4026.
- Saleh, A. A. H. (2002) Response of anabolic capacities, proline, protein patterns and mineral elements to nickel and EDTA stress in *Chorcorus olitorius*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 5(4): 455-460.
- Schat, H., Sharma, S. S. and Vooijs, R. (1997) Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum* 101(3): 477-482.
- Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. and Avudainayagam, S. (2005) Chromium toxicity in plants. *Environment International* 31(5): 739-753.
- Sharma, S. S. and Dietz, K. J. (2006) The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany* 57(4): 711-726.
- Suresh, B. and Ravishankar, G. A. (2004) Phytoremediation-a novel and promising approach for environmental clean-up. *Critical Reviews in Biotechnology* 24(2-3): 97-124.
- Wallis, C. J. (1958) *Practical biology: for advanced level medical and intermediate students*. 4th edition, William Heinemann Medical Books Ltd., London.
- Wu, L. H., Luo, Y. M., Xing, X. R. and Christie, P. (2004) EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 102(3): 307-318.
- Wu, L., Luo, Y. and Song, J. (2007) Manipulating soil metal availability using EDTA and low-molecular-weight organic acids. In: *Methods in biotechnology*, vol. 23: Phytoremediation: Methods and reviews (Ed. Willey, N.) 291-303. Humana Press Inc., Totowa, New Jersey.
- Xu, W., Li, W., He, J., Balwant, S. and Xiong, Z. (2009) Effects of insoluble Zn, Cd and EDTA on the growth, activities of antioxidant enzymes and uptake of Zn and Cd in *Vetiveria zizanioides*. *Journal of Environmental Sciences* 21(2): 186-192.
- Yadav, S. K. (2010) Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany* 76(2): 167-179.
- Zaker, A. (2004) Threshold of *Petroselinum crispum* to different concentrations of chromium (Cr³⁺ and Cr⁶⁺). MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (in Persian).
- Zayed, A., Lytle, C. M., Qian, J. H. and Terry, N. (1998) Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. *Planta* 206(2): 293-299.
- Zeid, I. M. and Abou El Ghate, H. M. (2007) Response of bean heavy metals in sewage water. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10(6): 874-879.
- Zurayk, R., Sukkariyah, B. and Baalbaki, R. (2001) Common hydrophytes as bioindicators of nickel, chromium and cadmium pollution. *Water, Air and Soil Pollution* 127(1-4): 373-388.

Effect of EDTA as chelator on growth and chromium accumulation in *Raphanus sativus* L.

Zhaleh Hesani, Ali Ganjeali, Parvaneh Abrishamchi * and Hamid Ejtehadi

Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

In this research, the effect of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on chromium accumulation and growth of *Raphanus sativus* L. was studied. 10-day old seedlings were cultured in hydroponic conditions containing different concentrations of chromium (1, 2, 4 and 6 mg/L) and EDTA (1 and 3 mg/L) for 4 weeks. After harvesting, growth parameters, amount of chromium in shoot and root and also prolin in shoot were measured. The results of this study showed shoot and root length, leaf area and root area, root/shoot ratio significantly increased at 6 mg/lit cr by using of EDTA, compared to chromium alone. Measurement of prolin showed that the amount of prolin in shoot was significantly decreased compared to chromium, at 6 mg/lit cr and 1 and 3 mg/L EDTA. According to the results of this research, appropriate concentration of EDTA decreased stress of chromium, so that not only did not have any negative effect on plant growth it enhanced the growth of the plant.

Key words: EDTA, *Raphanus sativus*, Chromium