DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4

ناهنجاری‌های کروموزومی القاء شده توسط فلزات سنگین در گیاه گلپر (*Heracleum persicum* Desf. ex fisch)

فاطمه حاج‌مرادی[۱]* و فاطمه علیجانی[۲]

[۱] **ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی**

[۲] **ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده کشاورزی**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۴

چکیده

باتوجه به رشد فزآینده آلاینده‌ها در محیط زیست، به منظور تعیین اثر تخریبی فلزات سنگین بر کروموزوم‌ها از انتهای ریشه‌ی گیاهان گلدار استفاده می‌شود. گیاه گلپر (*Heracleum persicum* Desf. ex fisch.) از تیره چتریان (Apiaceae) می باشد که دارای اهمیت غذایی و دارویی فراوانی است. هدف از این مطالعه مقایسه اثر برخی فلزات سنگین مانند سرب، مس و روی در چرخه میتوزی انتهای ریشه گیاه گلپر می‌باشد. به این منظور انتهای ریشه این گیاه توسط غلظت‌های افزایشی (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ پی پی ام) از فلزات سرب، روی و مس تیمار شدند. این مطالعه اولین گزارش از اثر فلزات سنگین در تقسیم میتوزی گیاه گلپر می‌باشد. بر اساس داده‌های حاصل، شاخص میتوزی و درصد ناهنجاری‌های کروموزومی محاسبه شدند. داده‌ها نشان دادند که تراکم فلزات سنگین با ممانعت از ورود سلول‌های انتهای ریشه به تقسیم میتوزی باعث کاهش قابل ملاحظه شاخص میتوزی شدند. ناهنجاری‌های میتوزی در سلول‌های انتهای ریشه، در تمام تیمارها افزایش وابسته به غلظت نشان دادند. از جمله ناهنجاری‌های میتوزی می‌توان به چسبندگی کروموزوم، میکرونوکلئوس، کروموزوم سرگردان، پل و جدا شدن زودهنگام کروموزوم‌ها اشاره کرد. نتایج این مطالعه نشان داد سه عنصر سرب، روی و مس به ویژه در غلظت‌های بالا تخریب کننده میتوز در گیاه گلپر می‌باشند. توانایی سمیت ژنی در سه عنصر بررسی شده به ترتیب از سرب به مس و روی دارای روند کاهشی است. با توجه به اهمیت غذایی و دارویی گیاه گلپر، نتایج این مطالعه می‌تواند زنگ خطری برای اثر سمی آلاینده‌های محیطی بر گیاهان و حتی سلامت انسان باشد.

واژه های کلیدی: سمیت ژنی، فلزات سنگین، گلپر، ناهنجاری‌های میتوزی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۰۹۸۹۱۸۳۱۸۴۴۳۹+، پست الکترونیکی: f.hajmoradi@pnu.ac.ir

مقدمه

منابع مختلفی از جمله پساب معادن، صنایع، مواد شیمیایی مورد استفاده در کشاورزی، احتراق سوخت و غیره باعث تجمع فلزات سنگین در محیط زیست می‌شود. سمیت فلزات سنگین اثرات مخربی بر گیاهان، جانوران و انسان دارد. این فلزات تجزیه نمی‌شوند، بنابراین با توجه به حضور طولانی مدت آنها در محیط به عنوان عوامل موثر در سمیت ژنی بررسی می‌شوند (۶). گیاهان را می‌توان به عنوان راه مهمی برای انتقال فلزات سنگین از محیط به انسان‌ها معرفی کرد. تجمع زیاد فلزات سنگین توسط گیاهان به مکانیسم‌های فیزیولوژیکی نظیر سرعت بالای جذب فلزات، انتقال کارآمد و تجمع آنها در بافت‌های گیاهی خصوصا در مناطق رشد بستگی دارد (۲۵). تجمع فلزات سنگین منجربه آسیب و تغییرات در مواد ژنتیکی در طول چرخه سلولی می‌شود (۱۲). فلزات سنگین می‌توانند

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4

باعث اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی فراوانی در گیاهان و سایر موجودات شوند (۱، ۲). در بین فلزات سنگین عناصری مانند سرب، روی و مس توجه بیشتری به خود جلب کرده‌اند (۳، ۱۴، ۱۸، ۱۹، ۲۳، ۲۹، ۳۷، ۴۰). تحقیقات فراوانی در زمینه اثر فلزات سنگین بر چرخه تقسیم در گیاهان انجام شده است. نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد که فلزات سنگین می‌توانند منجربه ایجاد اختلال در تقسیم سلولی و ایجاد ناهنجاری‌هایی مثل میکرونوکلئوس، پل کروموزومی، چسبندگی و غیره شوند(۲۴، ۴۸).

سرب جز عناصر غیر ضروری است که باعث سمیت در گیاهان می‌شود واثرات مخرب آن بر ریخت شناسی، جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهک، فتوسنتز، محتوای آب، تغذیه مواد معدنی و فعالیت آنزیمی در بسیاری از گیاهان تایید شده است (۴، ۵، ۷، ۱۱، ۲۴). مس در مقادیر بسیار کم برای گیاهان ضروری است ولی در مقادیر بیشتر برای آنها به شدت سمی است. اگرچه در جانوران نیز مس عنصری ضروری برای زندگی است ولی وجود بیش از اندازه آن در بدن با ایجاد مسمومیت حاد یا مزمن اثرات نامطلوبی بر سلامت جاندار دارد و حتی ممکن است باعث مرگ آنها شود (۱۳). روی نیز برای رشد گیاهان ضروری است. این عنصر در گیاه اکسید یا احیا نمی‌شود و بصورت ترکیب با بسیاری از آنزیم‌ها یا به عنوان کوفاکتور عملکردی، ساختاری یا تنظیمی در طیف وسیعی از آنزیم‌ها فعالیت می‌کند. در هرصورت مقادیر زیاد مس در خاک باعث سمیت گیاهان خصوصا محصولات زراعی می‌شود. مکانیسم چگونگی اثر فلزات سنگین بر تقسیمات سلولی در گیاهان پیچیده است. فلزات سنگین به جای عناصر مغذی جذب گیاه می‌شوند و موجب اختلال در توزیع یون‌ها در گیاه می‌شوند (۶). برخی فلزات سنگین مانند کادمیوم، سرب و منگنز ممکن است با تمایل بیشتر نسبت به منیزیوم و پتاسیم با اسیدهای نوکلئیک پیوند برقرار کنند. بنابراین ساختار RNA را تحت تاثیر قرار می‌دهند. علاوه بر این، فلزات سنگین از طریق تداخل با پروتئین‌های درگیر در متابولیسم اسیدهای نوکلئیک و ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال، مولکول RNA را به طور غیر مستقیم نیز تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۵).

بمنظور بررسی اثر تخریبی فلزات سنگین بر کروموزم‌ها در چرخه میتوزی، انتهای ریشه نهال‌های جوان گیاهان استفاده می‌شود. با توجه به اهمیت غذایی، ادویه‌ای و دارویی گیاه گلپر (*H. persicum*) بذرهای این گیاه مورد استفاده قرار گرفت. هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه اثرات سمی سه عنصر سرب، روی و مس در مراحل مختلف تقسیم میتوز سلول‌های مریستمی انتهای ریشه گیاه گلپر می‌باشد.

مواد و روشها

آماده سازی بذرها: در ابتدا بذور گیاه گلپر توسط اسیدسولفوریک خالص به مدت یک دقیقه کاملا استریل شده و سپس چندین بار توسط آب مقطر شستشو شدند. بذور استریل شده با استفاده از کاغذ صافی در پتری دیش قرار گرفتند و بمنظور جوانه زنی به مدت ۲-۳ روز در دمای ۲۳ °C-۲۲ در انکوباتور نگهداری شدند.

تیمار سرب، روی و مس: محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۵۰ ، ۱۰۰ ، ۱۵۰ و ۲۰۰ پی پی ام) از سرب ($Pb(NO_3)_2$)، روی ($ZnCl_2$) و مس ($CuCl_2$) با استفاده از روش رقیق سازی تهیه شد (۲۳). بعد از جوانه‌زنی بذرها، انتهای ریشه‌های جوان توسط غلظت‌های مختلفی از عناصر سنگین برای ۳ ساعت تیمار شدند. سپس انتهای ریشه به مدت ۲۴ ساعت در ترکیبی شامل اتانول و اسید استیک (۱:۳) نگهداری شدند. در مرحله آخر انتهای ریشه‌ها تا زمان مطالعه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند.

تهیه اسلایدهای میتوزی: انتهای ریشه‌ها به مدت یک دقیقه در محلول یک نرمال HCl هیدرولیز شد. سپس توسط استوکارمن۴ درصد رنگ آمیزی شدند. اسلایدها توسط تکنیک اسکوآش برای مطالعه میکروسکوپی آماده

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4

شدند. تقسیم میتوزی در ۴۰۰ سلول توسط میکروسکوپ نوری بررسی شد. بر اساس داده‌های بدست آمده، شاخص

$$\text{شاخص میتوزی} = \frac{\text{تعداد کل سلول های در حال تقسیم}}{\text{تعداد کل سلول های مشاهده شده}} \times 100$$

تحلیل آماری: به منظور تعیین دقت داده‌ها، تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 و آزمون آنوا (ANOVA) و دانکن (DUNCAN) در سطح احتمال $P\leq0.05$ انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

مشاهدات انتهای ریشه روشی حساس و سریع برای نمایش کروموزوم‌هاست. درجه ناهنجاری‌های کروموزومی در میتوز به عنوان معیاری برای تخمین حساسیت گونه‌ها به ترکیبات جهش‌زا و اثر این ترکیبات بر کروموزوم‌ها می‌باشد.

مطالعه کروموزومی انتهای ریشه گیاه گلپر نشان داد که این گیاه دیپلوئید بوده و عدد پایه کروموزومی آن برابر۲۲= ۲x =۲n می‌باشد. در نمونه‌های شاهد، تقسیم میتوز بصورت عادی و بدون ناهنجاری میتوزی مشاهده شد. سلول‌های مریستمی انتهای ریشه گلپر تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب، روی و مس افزایش وابسته به میتوزی (۲۷) و درصد ناهنجاری‌ها بر اساس فرمول‌های زیر تعیین گردید:

$$\text{درصد ناهنجاری ها} = \frac{\text{تعداد سلول های غیر طبیعی}}{\text{تعداد کل سلول های مشاهده شده}} \times 100$$

غلظت در ناهنجاری‌های کروموزومی را نشان دادند؛ بطوریکه با افزایش غلظت فلزات سنگین از ۵۰ پی پی ام به ۲۰۰ پی پی ام، درصد ناهنجاری‌های میتوزی در مورد سرب از ۳/۰±۹۶/۸۷^{c} به ۱۲/۰±۰۳/۲۲^{a}، برای مس از ۲/۰±۷۷/۸۵^{c} به ۹/۰±۰۷/۲۲^{b} و در مورد روی از ۱/۰±۶۴/۲۷^{a} به ۷/۰±۸۶/۲۷^{a} افزایش یافت (شکل ۱ و جدول ۱).

بین ناهنجاری های میتوزی مختلف در تمام تیمارها چسبندگی کروموزوم بیشترین درصد ناهنجاری را به خود اختصاص داده است. فراوانی سایر ناهنجاری‌های میتوزی در هریک از فلزات سنگین به صورت زیر است:

سرب: پل > کروموزوم سرگردان > جد شدن زود هنگام کروموزوم ها > میکرونوکلئوس.

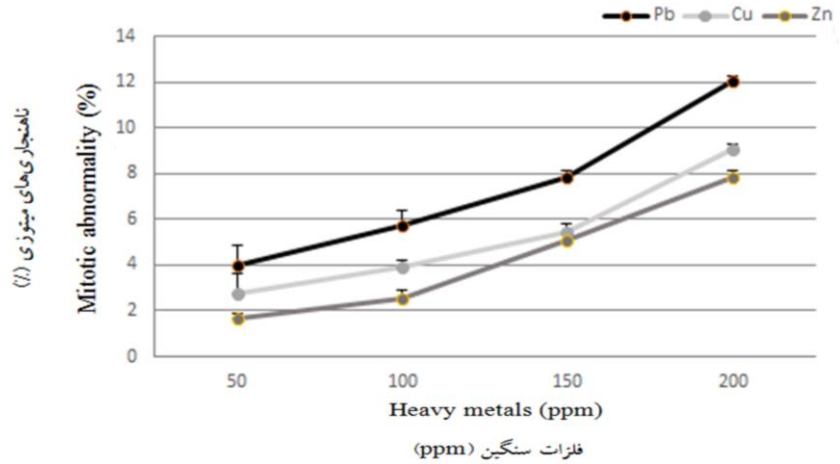
مس: کروموزوم سرگردان > پل > جدا شدن زود هنگام کروموزوم ها > میکرونوکلئوس.

روی: میکرونوکلئوس > پل > کروموزوم سرگردان > جدا شدن زود هنگام کرومزوم.

جدول ۱- اثر سرب، مس و روی بر شاخص میتوزی و ناهنجاری های میتوزی در انتهای ریشه گیاه گلپر (*Heracleum persicum*)

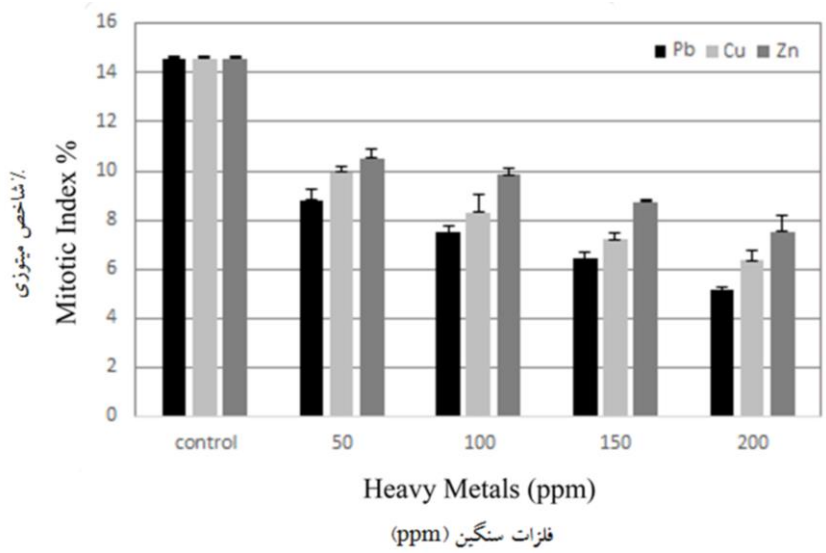
غلظت (ppm)	شاخص میتوزی (٪) (میانگین ± خطای استاندارد)			ناهنجاری های میتوزی (٪) (میانگین ± خطای استاندارد)		
	سرب Pb	مس Cu	روی Zn	سرب Pb	مس Cu	روی Zn
شاهد	۱۴/۰±۵۶/۱۲ ^{a}	۱۴/۰±۵۶/۱۲ ^{a}	۱۴/۰±۵۶/۱۲ ^{a}	–	–	–
۵۰	۸/۰±۸۱/۴۲ ^{b}	۹/۰±۹۵/۲۵ ^{a}	۱۰/۰±۵۳/۳۶ ^{b}	۳/۰±۹۶/۸۷ ^{c}	۲/۰±۷۷/۸۵ ^{c}	۱/۰±۶۴/۲۷ ^{a}
۱۰۰	۷/۰±۵۱/۲۹ ^{a}	۸/۰±۳۲/۷۱ ^{c}	۹/۰±۸۶/۲۲ ^{b}	۵/۰±۷۳/۶۶ ^{a}	۳/۰±۹۵/۲۶ ^{a}	۲/۰±۵۵/۳۷ ^{b}
۱۵۰	۶/۰±۴۳/۲۵ ^{b}	۷/۰±۲۱/۳۰ ^{b}	۸/۰±۷۵/۰۸ ^{a}	۷/۰±۸۱/۳۳ ^{b}	۵/۰±۴۵/۳۷ ^{a}	۵/۰±۰۶/۳۹ ^{b}
۲۰۰	۵/۰±۱۷/۰۸ ^{a}	۶/۰±۳۸/۴۲ ^{a}	۷/۰±۵۴/۶۷ ^{c}	۱۲/۰±۰۳/۲۲ ^{a}	۹/۰±۰۷/۲۲ ^{b}	۷/۰±۸۶/۲۷ ^{a}

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4



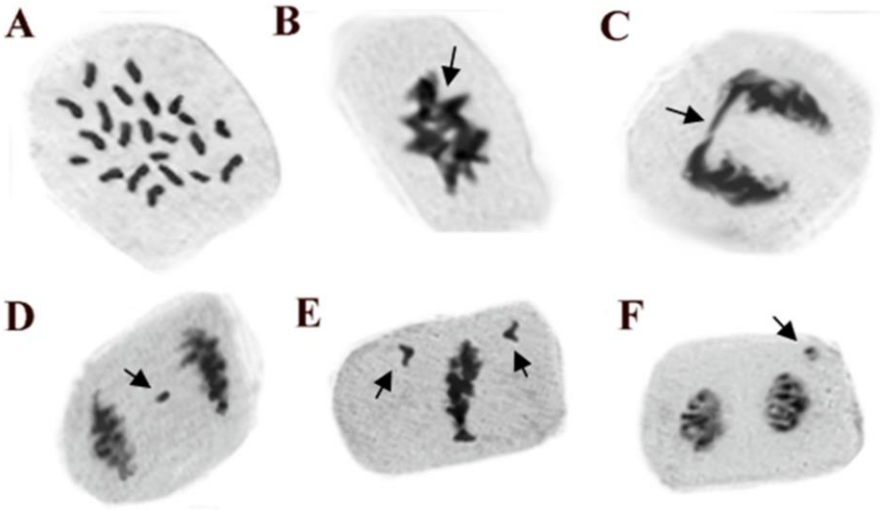
شکل ۱- افزایش درصد ناهنجاری‌های میتوزی القاء شده (میانگین ± خطای استاندارد) به ترتیب توسط تیمار سرب (Pb)، مس (Cu) و روی (Zn) در انتهای ریشه گیاه گلپر (*Heracleum persicum*)

ناهنجاری‌های مختلفی از جمله چسبندگی کروموزوم، میکرونوکلئوس، کروموزوم سرگردان، پل و جدا شدن زودهنگام کروموزوم‌ها با درصدهای مختلفی در سلول‌های میتوزی انتهای ریشه گیاه گلپر تحت تیمار سرب، روی و مس مشاهده شد. از شاخص میتوزی به عنوان پارامتری مهم در ارزیابی سمیت ژنی فلزات استفاده می‌شود. داده‌های حاصل از این مطالعه نشان داد با افزایش غلظت فلزات سنگین، شاخص میتوزی برای سرب از $۸/۰±۸۱/۴۲^{b}$ به $۵/۰±۱۷/۰۸^{a}$، در مورد مس از $۹/۰±۹۵/۲۵^{a}$ به $۶/۰±۳۸/۴۲^{a}$ و در مورد فلز روی از $۱۰/۰±۵۳/۳۶^{b}$ به $۷/۰±۵۴/۶۷^{c}$ کاهش یافت (جدول ۱). همانطور که مشخص است با افزایش غلظت فلزات سنگین، شاخص میتوزی کاهش یافته است (شکل ۲، جدول ۱). شاخص میتوزی بیشترین کاهش را در مس و کمترین کاهش را در روی نشان داد (شکل ۲).



شکل ۲- کاهش درصد شاخص میتوزی القاء شده (میانگین ± خطای استاندارد) به ترتیب توسط تیمار سرب (Pb)، مس (Cu) و روی (Zn) در انتهای ریشه گیاه گلپر (*Heracleum persicum*)

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4



شکل ۳- تقسیم میتوز و ناهنجاری‌های کروموزومی ایجاد شده در اثر فلزات سنگین در گیاه گلپر (*Heracleum persicum*)- A: پروفاز عادی بیانگر تعداد کروموزوم‌ها، B: چسبندگی کروموزوم، C: پل ناشی از چسبندگی کروموزوم‌ها، D: کروموزوم سرگردان، E: جدا شدن زود هنگام کروموزوم ها در اثر جدا شدن زود هنگام سانترومر، F: میکرونوکلئوس.

مطالعات زیادی نشان می‌دهد تجمع کادمیوم و سرب، باعث استرس اکسیداتیو، انباشته شدن کلسیم و مهار ترمیم DNA می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در ایجاد استرس اکسیداتیو و تخریب غشا میتوکندری نقش دارند (۱۹، ۲۰، ۲۲، ۳۴، ۴۳، ۴۴). فلزات سنگین ممکن است وارد هسته سلولی شوند و با بازهای پورین و پیریمیدین و پروتئین‌ها متصل شوند و یا ممکن است دوک تقسیم را تجزیه کنند و منجربه تشکیل میکرونوکلئوس و در نتیجه کاهش تعداد کروموزومی شوند (۲۱). فلزات سنگین می‌توانند سنتز DNA را مهار کنند یا ممکن است حتی سلول‌ها را در فاز G2 چرخه سلولی نگه دارند و مانع از ورود آنها به میتوز شوند. علاوه بر این، فلزات سنگین بر روی آنزیم‌های ترمیم کننده DNA نیز اثر می کنند؛ این فلزات با تغییر در ساختار پروتئینی آنزیم‌ها یا با کاهش تولید آنزیم‌ها در سطح ترجمه موجب ایجاد ناهنجاری‌های کروموزمی در سلول‌های میتوزی می‌شوند (۴۱). مطالعات دیگر نیز افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی مانند چسبندگی کروموزوم، پل، کروموزوم سرگردان، میکرونوکلئوس و جدا شدن زودهنگام کروموزوم‌ها را در اثر افزایش غلظت فلزات سنگین در گیاهان مختلف نشان داده‌اند (۱۸، ۲۱، ۴۰، ۴۷، ۴۸). لازم به ذکر است بررسی اثر فلزات سنگین بر گیاه گلپر دراین مطالعه برای اولین بار گزارش می‌شود.

چسبندگی کروموزوم‌ها نشان دهنده کروموزوم‌های سمی شده با سطوح چسبنده هستند و احتمالا منجربه مرگ سلول می‌شوند (۳۵، ۴۲). این ناهنجاری توسط عوامل ژنتیکی و محیطی ایجاد می‌شود (۳۲). چسبندگی کروموزوم ممکن است به علت اختلال در متابولیسم اسیدهای نوکلئیک سلول مشاهده شود (۹). به گفته Turkoglu (۴۶) چسبندگی کروموزوم بیانگر اثر سمی بالای عامل جهش‌زا می‌باشد. جهش‌های ژنی القا شده توسط فلزات سنگین ممکن است منجربه اشتباه در کد شدن پروتئین‌های غیرهیستونی درگیر در ساماندهی کروموزوم شود. این پروتئین‌ها باعث چسبندگی می‌شوند یا حتی ممکن است خود فلزات سنگین با پروتئین‌های هیستونی واکنش داده و باعث چسبندگی شوند (۳۶). این ناهنجاری در اوایل متافاز در تمام تیمارها با درصد بالایی دیده شد و مقدار آن با افزایش غلظت فلزات سنگین افزایش نشان داد (شکل ۳ و جدول ۲). Ritambhara و Kumar (۳۶) نیز با مطالعه‌ی اثر سرب و روی بر

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4

سلول‌های میتوزی در گیاه *Lathyrus sativa* به افزایش چسبندگی کروموزومی در اثر افزایش غلظت سرب و روی اشاره کردند و نتیجه گرفتند این ناهنجاری همراه با سایر ناهنجاری‌ها منجربه کاهش باروری دانه گرده می‌شود. تشکیل میکرونوکلئوس ویژگی بسیار بارزی برای آشکارسازی اختلالات منجربه از دست رفتن مواد ژنتیکی می‌شود (۴۵). کروموزوم‌هایی که موفق به رسیدن به قطب‌ها نمی‌شوند، ممکن است باعث تشکیل میکرونوکلئوس شوند (۱۶، ۲۶). این ناهنجاری فقط در غلظت ۵۰ پی پی ام سرب و مس دیده نشد. در مجموع ارتباط مثبتی بین فراوانی میکرونوکلئوس در سلول‌های مریستمی انتهای ریشه گیاه گلپر با افزایش غلظت فلزات سنگین دیده شد (شکل ۳ و جدول ۲). بنابراین وجود میکرونوکلئوس می‌تواند به عنوان نشانگر مناسبی برای تعیین وجود آلودگی مواد جهش‌زا باشد.

کروموزوم سرگردان ناهنجاری دیگر مشاهده شده در سلول های مریستمی انتهای ریشه گیاه گلپر تحت آلودگی سرب، روی و مس می‌باشد. این ناهنجاری در تمام تیمارها به‌جز ۵۰ و ۱۰۰پی پی ام فلز روی دیده شد (شکل ۳، جدول ۲). فراوانی کروموزوم سرگردان با افزایش غلظت تیمارها افزایش نشان داد و در تیمار مس نسبت به دو عنصر دیگر مقدار این ناهنجاری بیشتر دیده شد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه مقادیر ناهنجاری های القاء شده توسط سرب، مس و روی در انتهای ریشه گیاه گلپر (*Heracleum persicum*)

تیمار	غلظت (ppm)	ناهنجاری های میتوزی				
		چسبندگی کروموزوم	پل کروموزومی	کروموزوم سرگردان	جدا شدن زود هنگام	میکرونوکلئوس
سرب	۵۰	۱/۰±۴۵/۱۷	۰/۰±۸۲/۰۵	۰/۰±۵۱/۱۶	–	–
	۱۰۰	۱/۰±۶۱/۲۰	۱/۰±۳۱/۰۳	۱/۰±۰۸/۲۱	۰/۰±۶۸/۱۵	۰/۰±۴۵/۱۵
	۱۵۰	۲/۰±۱۴/۲۰	۱/۰±۷۵/۱۶	۱/۰±۴۳/۱۸	۰/۰±۹۵/۱۵	۰/۰±۷۴/۲۲
	۲۰۰	۳/۰±۹۵/۱۴	۲/۰±۱۵/۲۵	۱/۰±۸۵/۲۶	۱/۰±۱۲/۱۱	۰/۰±۸۵/۲۱
مس	۵۰	۱/۰±۱۷/۱۲	۰/۰±۳۵/۱۲	۰/۰±۴۷/۱۸	–	–
	۱۰۰	۱/۰±۴۲/۲۷	۰/۰±۶۹/۱۴	۰/۰±۸۸/۱۳	۰/۰±۵۵/۲۲	۰/۰±۳۵/۱۸
	۱۵۰	۱/۰±۶۶/۰۵	۰/۰±۸۱/۰۶	۱/۰±۲۳/۱۷	۰/۰±۶۸/۱۷	۰/۰±۵۹/۱۵
	۲۰۰	۲/۰±۱۷/۱۶	۱/۰±۱۹/۱۳	۱/۰±۴۴/۱۸	۰/۰±۹۵/۱۴	۰/۰±۷۷/۰۹
روی	۵۰	۰/۰±۸۴/۱۵	۰/۰±۱۵/۱۴	–	–	۰/۰±۱۹/۱۵
	۱۰۰	۰/۰±۹۵/۰۸	۰/۰±۱۹/۱۸	–	–	۰/۰±۲۵/۱۸
	۱۵۰	۱/۰±۲۴/۰۹	۰/۰±۳۱/۱۲	۰/۰±۱۷/۱۲	۰/۰±۱۲/۱۲	۰/۰±۴۸/۰۹
	۲۰۰	۱/۰±۵۳/۰۳	۰/۰±۵۶/۱۵	۰/۰±۲۹/۱۹	۰/۰±۰۸/۰۳	۰/۰±۶۹/۱۲

این کروموزوم‌های سرگردان ممکن است به علت اتصال بسیار ضعیف به دوک تقسیم یا عدم اتصال به آن ایجاد شوند. چسبندگی کروموزومی و تغییر در همساختی جفت کروموزوم‌ها نیز می‌تواند دلیل دیگری برای این ناهنجاری باشد (۲۸). Das and Roy (۱۰) اظهار داشتند که به علت اثر مواد جهش‌زا، فیبرهای دوک تقسیم موفق به انتقال کروموزم‌ها به قطب‌ها نمی‌شوند و منجربه ایجاد کروموزوم سرگردان در آنافاز می‌شوند.

پل‌های کروموزومی به شکست کامل در ساختار کروموزومی اشاره دارند که منجربه تشکیل پل‌های کروماتینی طولانی و نازک می‌شود. پل‌های کروموزومی ممکن است به علت چسبندگی کروموزومی و شکست در جدا شدن آزادانه کروموزوم‌ها در آنافاز باشد و یا ممکن

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4

است به جابه‌جا شدن نابرابر قطعات کروموزومی مربوط باشد. پل‌های آنافازی در غلظت‌های بالاتر از فلزات سنگین فراوان‌تر دیده شدند. بیشترین درصد تشکیل پل در تیمار سرب و کمترین آن در تیمار روی مشاهده شد. در برخی از سلول‌های میتوزی بیش از یک پل همراه با کروموزوم سرگردان دیده شد. تعداد پل‌ها به تعداد کروموزوم‌های درگیر در تبادل نابرابر بستگی دارد (۳۸). پل تکی به دلیل اتصال کروماتیدهای خواهری در نقطه جدا شدن ایجاد می‌شود، درحالیکه جابه‌جا شدن بین کروموزوم‌های غیرهمساخت با ایجاد بازوهای غیر مشابه منجربه ایجاد پل‌های کروموزومی مضاعف می‌شود (۴۷). ضخامت پل‌ها و تعداد کروموزوم‌های درگیر در تشکیل آنها بین تیمارهای مختلف متنوع است. ژنتیک و همچنین عوامل محیطی به عنوان دلیلی برای تشکیل پل در گونه‌های مختلف گیاهی بیان می شود (۳۱). این ناهنجاری کروموزومی با ضخامت‌های مختلف در تمام تیمارها دیده شد (شکل۳، جدول ۲).

حرکت زودهنگام کروموزوم‌ها ناهنجاری دیگری است که در تمام تیمارها به جز ۵۰ پی پی ام سرب، روی و مس و ۱۰۰ پی پی ام فلز روی با مقادیر مختلف دیده شد (شکل ۳، جدول). اختلال در عملکرد دوک تقسیم به علت از بین رفتن میکروتوبول‌های دوک، پایان زودهنگام اتصال کروموزوم‌ها و اختلال شیمیایی در دوک از دلایل حرکت زودهنگام کروموزوم‌ها به قطبین می‌باشد (۳۳). کروموزوم‌های حاصل از حرکت زودهنگام به طرفین ممکن است منجربه تشکیل میکرونوکلئوس شود و یا دلیلی برای تعداد کروموزوم‌های نامتعادل مانند آنیوپلوئیدی باشد (۳۰).

Kumar و Srivastava (۲۷) با بررسی اثر کادمیوم و سرب بر تقسیم میتوزی در انتهای ریشه *Vicia faba* به نقش این فلزات بر افزایش ناهنجاری‌های میتوزی و کاهش تقسیم سلولی اشاره کردند. به علاوه آنها سرب را دارای پتانسیل سمیت بیشتری نسبت به کادمیوم معرفی کردند. مطالعه حاضر نیز نشان داد سرب نسبت به روی و مس دارای سمیت بیشتری است. در مطالعه‌ی دیگری Kumar و Bhardway (۲۳) با بررسی اثر کرم، کادمیوم و سرب بر تقسیم میتوزی در گیاه *Cuminum cyminum* به نتایج مشابهی رسیدند. در سایر مطالعات نیز با بررسی انواع فلزات سنگین بر تقسیم سلولی در گیاهان مختلف به سمیت این فلزات برای گیاهان اشاره شده است و نتایج مشابهی بدست آمده است (۱۸، ۲۱، ۴۰، ۴۷، ۴۸).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد فلزات سنگین سرب، روی و مس قادر به ایجاد ناهنجاری‌های مختلفی در سلول‌های مریستمی انتهای ریشه گیاه گلپر می‌باشند. می‌توان گفت این فلزات با ایجاد ناهنجاری‌های میتوزی دارای اثر سمیت ژنی بر رفتار کروموزوم‌ها در چرخه میتوزی می‌باشند. فلزات سنگین مورد مطالعه به طور قابل توجهی با ممانعت از ورود سلول‌ها به چرخه میتوزی منجربه کاهش شاخص میتوزی شدند. داده‌های بدست آمده نشان داد از بین فلزات بررسی شده عنصر سرب از دو عنصر دیگر دارای اثرات تخریبی بیشتری می‌باشد. بر این اساس می‌توان از ویژگی‌های سیتوژنتیکی به خوبی برای ارزیابی سم شناسی فلزات سنگین با استفاده از گونه‌های گیاهی به عنوان مدل استفاده کرد. با توجه به مصرف گیاه گلپر به عنوان غذا و دارو، نتایج این مطالعه می تواند زنگ خطری برای اثر سمی این آلاینده‌های محیطی بر گیاه و حتی سلامت انسان باشد. پیشنهاد می‌شود اثر فلزات سنگین بر فیزیولوژی و متابولیت‌های ثانویه گیاهان خصوصا گیاهان دارویی در پژوهش‌های آتی مورد توجه قرار بگیرد.

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4

منابع

۱- شهرستانی، فاطمه، ابوالمعالی، شمس الضحی، درویش علیپور استانه، شکیبا. (۱۳۹۸). غربالگری جدایه‌های هالوتولرانت مقاوم به فلزات سنگین و تولید کننده پپتیدهای غیر ریبوزومی. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی ۲۵۷-۲۴۷، (۲)۳۲)

۲- محسنی، مجتبی، معقول، شیماسادات. (۱۳۹۴). سنجش سمیت فلزات سنگین سرب، کادمیوم و مس توسط باکتری نورافشان جداشده از دریای مازندران. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی ۵۹۸-۵۸۸، (۴)۲۸)

3- Abubacker, M.N. and Sathya, C., 2017. Genotoxic Effect of Heavy Metals Cr, Cu, Pb and Zn using *Allium cepa* L. Biosci., Biotech. Res. Asia, 14(3): 1181-1186.

4- Ackova, D.G., 2018. Heavy metals and their general toxicity on plants. PST, 5(1): 14-18.

5- An, Y.J., 2006. Assessment of comparative toxicities of lead and copper using plant assay. Chemosphere, 62: 1359-1365.

6- Biddappa, C.C., Khan, H.H., Joshi, O.P. and Manikandan, P. 1987. Effect of root feeding of heavy metals on the leaf concentration of P, K, Ca and Mg in coconut (Cocosnucifera L). Plant Soil, 101, 295-297.

7- Chen, Q., Zhang, X., Liu, Y., Wei, J., Shen, W., Shen, Z. and Cui, J., 2017. Hemin-mediated alleviation of zinc, lead and chromium toxicity is associated with elevated photosynthesis, antioxidative capacity; suppressed metal uptake and oxidative stress in rice seedlings. Plant Growth Regul, 81: 253-64.

8- Cheng, C., Ma, X., Yan, X., Sun, F. and Li, L.M., 2006. MARD: a new method to detect differential gene expression in treatment-control time courses. Bioinformatics, 22 (21): 2650-7.

9- Chidambaram, A., Murugan, L., Sankar, A., Ganesh, K. and Sundaramoorthy, P., 2006. Effect of Chromium on growth and cell division of blackgram (Vigna mungo (L.) Hepper.). Iran J Environ Healt, 6 (2): 763-766.

10- Das, S.K. and Roy, S.K., 1989. Radio Cytologia studies on Solanum meiotic abnormalities. Cytologia, 54: 477-481.

11- Dashadi, M. and Pezeshkpoor, P., 2018. Investigating Phosphorous and Zinc Levels on Quantity and Quality Characters of Two Cultivars Chickpea. J. Plant Prod. Sci., 41(3), 13-24.

12- El-Shahaby, A.O., Abdel Migid, H.M., Soliman, M.I. and Mashaly, I.A., 2003. Genotoxicity screening of industrial wastewater using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. Pak J Biol Sci, 6: 23-28.

13- Ezeh, E., Okeke, O., Aburu, C.M. and Anya, O.U., 2018. Comparative evaluation of the cyanide and heavy metal levels in traditionally processed cassava meal products sold within Enugu Metropolis. IJESNR, 12 (2): 1-6.

14- Fallah Moaf, S. and Sharafi, Y., 2017. Effects of Zinc Foliar Spray on Pollen Tube Growth in Pistils of Some Apple Cultivars Crosses. The Plant Production, 40(3): 1-14.

15- Feig, A.L. and Uhlenbeck, O.C. 1999. The role of metal ions in RNA biochemistry. In: Gesteland, R.F., Cech, T.R., Atkins, J.F. (Eds). The RNA World (pp. 287–319). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

16- Gilli, W. 1941. Chromosome behaviour in mitosis in Triploid Tradescantia hybrids. Bull. Torrey Bot., 68: 207-221.

17- Hajmoradi, F. and Taleb Beydokhti, A. 2019a. chromosomal study of yellow sweet-clover (*Melilotus officinalis* (L.) Lam.) under heavy metals pollution of lead and zinc mine of Zeh Abad, Qazvin. JNE. 72 (2): 199-212.

18- Hajmoradi, F. and Taleb beydokhti, A. 2019b. Effect of heavy metals on meiosis cell division in *Stachys inflata* Benth. CJES 17 (4): 363-373.

19- He, X., Wu, J., Yuan, L., Lin, F., Yi, J., Li, J., Yuan, H., Shi, J., Yuan, T. and Zhang, S. 2017. Lead induces apoptosis in mouse TM3 Leydig cells through the Fas/FasL death receptor pathway. Environ. Toxicol. Pharm. 56: 99–105.

20- Hosseinzadeh Colagar, A., Azizi, S.N. and Hafeziyan, S.M. 2012. Biosorption of Cobalt from aqueous solutions by wet and dried biomass of *Oscillatoria* sp. J. Chem. Eng. Jap. 45(4)1-6.

21- Jiang, W., Liu, D. and Hou, W., 2001. Hyperaccumulation of cadmium by roots, bulbs and shoots of garlic (*Allium sativum* L). Bioresour. Technol., 76: 9-13.

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4

22- Joseph, P. 2009. Mechanisms of cadmium carcinogenesis. Toxicol. Appl. pharm. 238, 272–279.

23- Kumar, G. and Bhardwaj, M. 2017. Comparative genotoxicity of heavy metals in root meristems of *Cuminum cyminum* L. Chromosome Botany, 12 (3): 56-62.

24- Kumar, G. and Srivastava, A. 2015. Clastogenic and mito-inhibitory effect of heavy metals in root meristems of *Vicia faba*. Chromosome Botany, 23-29.

25- Lasat, M.M., Pence, N.S., Curvin, D.F., Ebbs, S.D. and Kochian, I.V. 2005. Molecular physiology of the Zn transport in the hyper accumulation *Thlaspi caerulescens*. J. Exp. Bot, 51: 71-79.

26- Levan, A. 1951. Localised chromosome breakage in *Vicia faba*. Heriditas, 30: 382-388.

27- Love, R.M. 1949. Estudos citológicos preliminares de trigos rio-grandenses. Secretaria da Agricultura, Porto Alegre.

28- Magoon, M.L. Cooper, D.C. and Hougas, R.W. 1958. Cytogenetic studies of some diploid *Solanum* section *Tuberarium*. Am. J. Bot., 45: 207-221.

29- Mahmoodzadeh, H. and Afsar, M. 2016. Morpho-physiological Characteristics of *Brassica napus* L. Under Cadmium Stress. J. Genet. Resour. 2(1):52-59

30- Mansuelli, RW., Tanimoto, E.Y., Brown, C. and Comai, L. 1995. Irregular meiosis in a somatic hybrid between *Solanum bulbocastanum* and *S. tuberosum* detected by species-specific PCR markers and cytological analysis. Theor Appl Genet, 91 (3): 401-408.

31- Nirmala, A. and Rao, P.N. 1996. Genetics of chromosome numerical mosaism in higher plants. The nucleus, 39: 151-175.

32- Pagliarini, M.S. 2000. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. Genet. Mol. Biol., 23: 997-1002.

33- Patnaik, S., Saran, B.L. and Patnik, S.M. 1984. Effect of zarda (processed tobacco leaf) extract on the chromosomes of *Allium cepa*. Cytologia, 49: 807-814.

34- Pulido, M.D. and Parrish, A.R., 2003. Metal-induced apoptosis: mechanisms. Mutat. Res-Fund. Mol. M. 533, 227–241.

35- Ranjbar, M., Karamian and R., Hajmoradi, F. 2010. Chromosome number and meiotic behaviour of two populations of *Onobrychis chorassanica* Bunge (O. sect. Hymenobrychis) in Iran. Journal of Cell and Molecular Research 2 (1):49-55.

36- Ritambhara, T. and Kumar, G. 2010. Genetic loss through heavy metal induced chromosomal stickiness in Grass pea. Caryologia, 63(3): 223-228.

37- Shahabivand, S. Parvaneh, A. and Aliloo, A.A. 2018. The Cadmium Toxicity in *Helianthus annuus* can be Modulated by Endosymbiotic Fungus (*Piriformospora indica*). J. Genet. Resour. 4(1): 44-55

38- Shaikh, M.A.Q. and Godward, M.B.E. 1972. The meiotic consequences of radiation induced chromosome breaks in *Lathyrus sativus* and *Vicia ervilla*. Cytologia, 37: 497-505.

39- Shner, J.V., Pimenov, M.G., Kljuykov, E.V. Alexeeva, T.V. Ghahremani-nejad, F. and Mozaffarian, V. 2004. Chromosome numbers in the Iranian Umbelliferae. Chromosome Science. 8: 1-9.

40- Siddiqui, S. 2012. Lead induced genotoxicity in Vigna mungo var. HD-94. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 11: 107-112.

41- Siddiqui, S. 2015. DNA damage in Cicer plant grown on soil polluted with heavy metals. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 27: 217-223.

42- Singh, P. 2015. Toxic effect of chromium on genotoxicity and cytotoxicity by use of *Allium cepa* L. International Journal of Research in Engineering and Applied Sciences, 5: 1-10.

43- Sinkakarimi, M.H., Solgi, E. and Hosseinzadeh Colagar, A. 2020. Interspecific differences in toxicological response and subcellular partitioning of cadmium and lead in three earthworm species. Chemosphere. 238:124595

44- Sinkakarimi, M.H., Solgi, E. and Hosseinzadeh Colagar, A. 2020. Subcellular partitioning of cadmium and lead in *Eisenia fetida* and their effects to sperm count, morphology and apoptosis. Ecotoxicol. Environ. Saf. 187: 109827

45- Stopper, H. and Muller, S.O. 1997. Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: A minire view. Toxicol In Vitro, 11: 661-667.

46- Turkoglu, S. 2009. Genotoxic effects of mono-, di-, and trisodium phosphate on mitotic activity,

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.3.6.4

DNA content, and nuclear volume in *Allium cepa* L. Caryologia, 62 (3): 171-179.

47- Yagyu, P. and Morris, R. 1957. Cytogenetic effects of X-rays and thermal neutrons on dormant tomato seeds. Genetics, 42: 222-225.

48- Yucel, E., Hatdpoglu, A., Sozeni, E., & Guner, S. T. 2008. Effects of Lead (PbCl2) on Mitotic Cell Division of Anatolian Black Pine (*Pinus nigra* ssp. pallasiana). Biodicon 1(2): 124-129.

Chromosomal abnormalities induced by heavy metals in Golpar (*Heracleum persicum* Desf. ex fisch)

Hajmoradi F.[1*] and Alijani F.[2]

[1] Dept. of Biology, Payame-Noor University, Tehran, I.R. Iran

[2] Dept. of agricultural, Payame-Noor University, Tehran, I.R. Iran

Abstract

Because of the increasing growth of pollutants in the environment, in order to determine the destructive effect of heavy metals on chromosomes, the root tips of the flowering plants are used. Golpar (*Heracleum persicum* Desf. Ex fisch) belonging to Apiaceae, has the nutrition values and medical importance. The aim of present study is reveal the comparative toxic impact of lead, copper and zinc on the mitotic cell of root tips of Golpar. So the root tips of *H. persicum*, were treated with graded concentrations (viz. 50, 100, 150 and 200 ppm) of lead, copper and zinc. This is the first report of heavy metals on *Heracleum persicum.* The mitotic index and total abnormality percentage were calculated based on achieved data. Data shows that heavy metals concentrations, significantly lead to the decrease mitotic index by prevented root tips cells entering cell division phases. Mitotic abnormalities in the root tips cells have shown a concentration-dependent increase at different concentration in all treated sets. Mitotic abnormalities include sticky chromosome, micronucleus, laggard chromosome, bridge and precocious movement. The results of the present investigation indicated that lead, copper and zinc have genotoxic effects especially at higher concentrations. The ability of genotoxicity in the three studied elements is reduced from lead to copper and zinc, respectively. Due to the nutritional and medicinal importance of Golpar, the result of this study should be considered as a warning for the toxic effects of environmental pollutants on plants and even human health.

Key words: Genotoxic, Heavy metal, *Heracleum persicum*, Mitotic abnormalities