پژوهش‌های خاک / الف / جلد 37 / شماره 1 بهار / 1402

10.22092/IJSR.2023.355603.626

اثر کروم (*VI*) بر فعالیت برخی آنزیم‌های خاک و شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه خرفه *Portulaca Oleracea L.*

الهام عزیزی، آتنا میربلوک[1]، راهله رهباریان و آسیه بهداد

دانشیار گروه زراعت، دانشگاه پیام نور، ایران؛ ***azizi.e@pnu.ac.ir***

دانش آموخته دکتری شیمی و حاصلخیزی خاک، دانشگاه ارومیه؛ ***atena.mirbolook@yahoo.com***

استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران؛ ***ra_ rahbarian@yahoo.com***

دانش آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه شیراز؛ ***Behdad_a@yahoo.com***

ص **51 - 66**

دریافت: **1400/6/23** و پذیرش: **1401/12/9**

چکیده

هدف این پژوهش بررسی اثر فلز سنگین کروم بر فعالیت های آنزیمی خاک و برخی شاخص های فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه خرفه بود.آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. نمونه‌های خاک با غلظت‌های متفاوت کروم (0، 25، 50، 75 و 100 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) آلوده شد و پس از برقراری تعادل در خاک، گیاه خرفه کشت گردید. پس از کامل‌شدن مراحل رشد گیاه، فعالیت آنزیم های دهیدروژناز، فسفاتاز و اوره آز و همچنین ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه خرفه تحت آلودگی کروم اندازه‌گیری شدند و روابط همبستگی بین آنها بررسی گردید. نتایج نشان داد که فعالیت‌های آنزیمی خاک با افزایش غلظت کروم در خاک کاهش یافت. بیشترین همبستگی منفی بین وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه خرفه با افزایش غلظت کروم در خاک مشاهده شد. نقش آنزیم‌های خاک در ارزیابی وضعیت آلودگی کروم با شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک تعیین شد که این شاخص بالاترین همبستگی منفی را با وزن خشک اندام هوایی گیاه خرفه نشان داد. بین افزایش غلظت کروم در خاک با همه شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه خرفه همبستگی بالاتر از90 درصد مشاهده شد. فعالیت آنزیم دهیدروژناز در همبستگی با شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه، رفتاری مشابه باشاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک نشان داد. به طور کلی، طبق نتایج این تحقیق، شاخص‌های گیاه خرفه با حساسیت بالاتری نسبت به شاخص‌های مورفولوژیک آن توانستند شدت آلودگی فلز کروم را در گیاه نشان دهند.

واژه‌های کلیدی: شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک، آلودگی کروم، دهیدروژناز

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: *atena.mirbolook@yahoo.com*

مقدمه

توسعه صنعت و تمدن در سال‌های اخیر باعث افزایش بیش از حد فلزات سنگین در خاک شده است. کروم یکی از ده عنصر فراوان در پوسته زمین است که به طور عمده بر اثر فعالیت‌های مختلف صنعتی و کشاورزی مانند دباغی چرم، فولاد، زغال سنگ و استفاده از کودهای فسفاته و سیلیکاته حاصل می‌شود (اتابنگ، 1989). گزارش شده است که حداکثر غلظت کروم در کودهای سیلیکاته و فسفاته دارای 3 تا 4 درصد کروم کل و حدود 0/1 درصد کروم محلول در اسید سیتریک دارند (واتاناب، 1984). طبق گزارشات *WHO* غلظت کروم شش ظرفیتی در خاک و آب به ترتیب 0/1 و 0/05 میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد. در کشور ایران در مناطق صنعتی مخصوصا در اطراف کارخانجات تولید سیمان، فولاد و چرم به شدت آلودگی به فلز کروم در خاک، محصولات علوفه‌ای و حتی دامها مشاهده شده است. سلامت دوست و همکاران (1396) گزارش کردند که در نمونه‌های خاک جمع آوری شده از منطقه صوفیان در اطراف کارخانه سیمان، تجمع بالایی از فلز کروم با میانگین تجمع 29/5 میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد.

این پژوهشگران همچنین گزارش کردند که در گیاه خارشتر کشت شده موجود در این نواحی تجمع کروم به 3/5 میلی گرم بر کیلوگرم رسید که این علوفه‌ها به مصرف دامهای موجود در منطقه می‌رسد. احمدی و اردکانی (1396) همچنین به بررسی آلودگی کروم در مناطق اطراف شهرک صنعتی اراک پرداختند و مشاهده کردند که میانگین غلظت کروم در خاک‌های سطحی 15/5 و در خاک‌های عمقی 13/5 میلی گرم بر کیلوگرم بود که از حدود آستانه تعیین شده توسط *WHO* بیشتر بود. تجمع کروم درخاک و جذب توسط گیاهان، منجر به ورود کروم به زنجیره‌ی غذایی شده و مشکلات جدی را برای خاک-ها و محیط ایجاد می‌کند. حضور کروم در محیط به یکی از دو صورت کروم سه ظرفیتی $Cr(III)$ و کروم شش ظرفیتی $Cr(VI)$ است، کروم شش ظرفیتی برای گیاهان و حیوانات سمی است و به راحتی در خاک حل می‌شود (بانرژی و همکاران، 2004)، در مقابل کروم سه ظرفیتی سمی نیست و حلالیت کمی دارد. سمیت کروم شش ظرفیتی 100 تا 1000 برابر بیشتر از سه ظرفیتی است و این ویژگی نشان دهنده اهمیت بررسی بیشتر اثرات کروم بر روی گیاهان و میکروارگانیسم‌ها است (انتا و هاتوری، 1983). کیفیت و حاصلخیزی خاک به فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک بستگی‌دارد و فلزات سنگین مانند کروم شش ظرفیتی تاثیر منفی بر زیست توده خاک می‌گذارد (باراباس و همکاران، 1998)، بنابراین فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک می‌تواند برای ارزیابی کیفیت یا سلامت خاک مورد استفاده قرار گیرد.

میزان بیومس میکروبی کربن، تنوع میکروبی و فعالیت آنزیم‌ها از جمله خصوصیات میکروبیولوژیکی هستند که می‌توانند به عنوان شاخص‌های کیفیت خاک مورد استفاده قرار گیرند (سیکورا و همکاران، 1995).آنزیم‌ها نیز در تکمیل چرخه عناصر غذایی و در تجزیه مواد آلی نقش دارند، همچنین در واکنش‌های مختلف و فرآیندهای متابولیکی مانند کاتالیزورهای بیولوژیکی عمل می‌کنند. میزان فعالیت آنزیم‌های خاک یکی از ارزانترین و آسانترین روش‌ها برای تعیین میزان آلودگی خاک است (دیک و همکاران، 2000). فلزات سنگین با تأثیر بر سوبسترای آنزیمی و تغییر پروتئین آنزیمی، بر مکان‌های‌فعال تأثیر می‌گذارند و مانع فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند.در واقع فلزات با ایجاد تغییر در جامعه میکروبی که باعث سنتز آنزیم‌ها می‌شود، به طور غیر مستقیم بر فعالیت آنزیم‌ها تأثیر می‌گذارند (بلیااوا و همکاران، 2005). تحقیقات در مورد اثرات منفی فلزات سنگین بر فعالیت آنزیم‌ها در خاک‌ها کم است. در پژوهشی که توسط مرزادوری و همکاران (1996) انجام شد، اثر آلودگی سرب برفعالیت آنزیم‌های خاک مورد مطالعه قرار گرفت. در این تحقیق بیشترین کاهش فعالیت

آنزیم‌ها در بالاترین غلظت سرب حاصل شد. بالاترین اثر بازدارندگی فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز توسط جیوه، آرسنیک ومولیبدن در تحقیق جاما و طباطبایی (1978) گزارش شد، آن‌ها همچنین بیان کردند، جیوه، کادمیوم، وانادیوم و آرسنیک بر روی فعالیت آنزیم فسفومنواستراز نیز تأثیر می‌گذارد.

هانگ و شیندو (2001) تأثیر مس، روی و کادمیوم را بر فعالیت اسید فسفاتاز در خاک مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج نشان داد توانایی مس در کاهش فعالیت این آنزیم بیشتر از روی بوده و توانایی کادمیوم ناچیز است. الخفاجی و طباطبایی (1979) نشان دادند که وجود کروم در خاک باعث کاهش قابل توجه فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز شده است.

استپنیوواکا و ولینسکا (2005) دریافتند که کاربرد کروم سه ظرفیتی وشش ظرفیتی در خاک تأثیر منفی زیادی بر فعالیت دهیدروژناز دارد. تفاوت بین کروم سه ظرفیتی و شش ظرفیتی ناشی از این واقعیت است که کروم شش ظرفیتی سمی‌ترین و متحرک‌ترین نوع کروم است و مشخص شده است که نسبت به کروم سه ظرفیتی اثر بسیار قوی‌تری برروی موجودات زنده دارد. فلز کروم همچنین می‌تواند برروی فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و رشد گیاه تأثیر بگذارد (ورنی 2007). ساندرامورسی و همکاران (2010) نشان داد که کروم باعث کاهش طول اندام‌هوایی و ریشه و همچنین کاهش در تعداد شاخه‌های جانبی گیاه برنج شد.

از جمله سبزیجات برگی و گیاهان دارویی که ترکیبات شیمیایی و مواد مغذی آن‌ها به طور گسترده کمتر مطالعه شده است. گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) می‌باشد (آجا و همکاران، 2010). این گیاه بومی ایران است و سابقه کشت آن به بیش از 2000 سال بر می‌گردد. خرفه در مناطق جنوبی کشور (به خصوص بهبهان و اهواز) به عنوان یک سبزی مهم مورد کشت و کار قرار می‌گیرد و به پرپین (مخصوص استان خوزستان) مشهور است. این گیاه در بسیاری از کشورهای دنیا برای اهداف گوناگون از جمله تغذیه انسان، صنایع تبدیلی و دارویی کاربرد دارد (استفان، 1994). خرفه یک گیاه گوشتی است که در ایران بیشتر بین ماه مارس و دسامبر یا فصل‌های گرم سال رشد می‌کند و برای اهداف غذایی و پزشگی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در ایران، این گیاه بیشتر به عنوان ماده غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا سرشار از ویتامین‌هایی مانند A و C و اسید های چرب امگا 3 است (ازکیو و همکارن، 1999). خرفه به سهولت در خاک های اسیدی و شور رشد می‌کند و به همین دلیل از جمله گیاهان هالوفیت می‌باشد.

مقاومت خرفه به شرایط شوری و تحمل پذیری آن به غلظت‌های بالای عناصر سنگین در تحقیقات زیادی گزارش شده است (عزیزی و میربلوک 2016، الیزوری و همکاران، 2013). اله بخش و همکاران (1397) گزارش کردند که گیاه خرفه از سرعت رشد و تکثیر بالایی برخوردار است و کاربرد آن به عنوان یک گیاه بیش اندوز در گیاه پالایی بدون اشکال و مقرون به صرفه خواهد بود. آنها نشان دادند که کاربرد سیلسیوم منجر به افزایش توان بردباری گیاه خرفه در شرایط آلودگی کادمیوم شد و این می‌تواند راهکار مناسبی برای پاکسازی خاک‌های آلوده به کروم باشد. عزیزی و همکاران (1395) گزارش کردند که گیاه خرفه دارای فاکتور تجمع بیولوژیکی بیشتر از 1 برای کروم است و قابلیت رشد در خاک‌های آلوده به کروم را دارد و می‌تواند به عنوان یک گیاه بیش تجمع دهنده برای حذف آلودگی‌های ناشی از کروم شش ظرفیتی مورد استفاده قرار گیرد.

آیمان و همکاران (2014)گزارش دادند که گیاه خرفه، فلز کروم را در ریشه بیشتر از ساقه می‌تواند تجمع دهد و این ویژگی خرفه را به یک گیاه بیش انباشت برای کروم تبدیل می‌کند. نامبرگان همچنین اظهار کردند که افزایش فلز کروم، پارامترهای رشد گیاه را تغییر داد.

باتوجه به نقش گیاهان در شناسایی و احیای خاک های آلوده به فلزات سنگین، هدف از انجام این آزمایش تعیین شاخص‌های مناسب برای ارزیابی وضعیت

آلودگی کروم در خاک با استفاده از پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه خرفه بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال 1398 در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل پنج سطح کروم با غلظت‌های صفر، 25، 50، 75 و 100 میلی‌گرم کروم در کیلوگرم خاک بودند. ابتدا یک نمونه از خاک برداشته شد و پس از هوا خشک‌کردن و گذراندن از الک دو میلی‌متری، برای تعیین برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه پیام نور مشهد منتقل شد. خصوصیات اصلی خاک مورد آزمایش در جدول 1 آورده شده است. میزان نیتروژن کل پس از هضم نمونه ها با اسید سولفوریک غلیظ با دستگاه کجلدال اندازه گیری شد (بریمنر، 1982). به منظور تعیین پتاسیم قابل دسترس از متد سیمارد (1993) و فسفر قایل دسترس با متد اولسن (1954) استفاده شد. *pH* و *EC* نمونه در نسبت 1 به 10 (وزنی) اندازه گیری شدند.

جدول 1- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

بافت خاک	میزان عناصر غذایی ($mg\ kg^{-1}$)			هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	*pH*	غلظت کروم کل ($mg\ kg^{-1}$)
	پتاسیم قابل دسترس	فسفر قابل دسترس	نیتروژن کل			
لوم سیلتی	118	7/1	298	1/14	7/7	4/5

به‌منظور آلوده کردن خاک با فلز سنگین کروم از نمک دی‌کرومات پتاسیم استفاده شد که به گلدان‌های حاوی 2 کیلوگرم خاک در سه تکرار اضافه شدند و برای ایجاد غلظت‌های برابر پتاسیم در خاک، کلرید پتاسیم در غلظت‌های معکوس به همه گلدان‌ها افزوده شد. سپس گلدان‌ها به مدت 120 روز در رطوبت 70 درصد ظرفیت مزرعه (به منظور ایجاد شرایط رطوبتی متوسط در خاک) و در دمای تقریبی 23 تا 25 درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردیدندکه حفظ رطوبت از طریق وزن کردن روزانه گلدان‌ها و اضافه نمودن آب لازم برای دستیابی به ظرفیت رطوبتی موردنظرانجام شد. هر گلدان به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و در آن، 10 عدد بذر گیاه خرفه کاشته شد. شرایط گلخانه با دمای تقریبی 25 تا 30 درجه سانتی‌گراد ثابت نگه‌داشته شد و گلدان‌ها هر بار به میزان 75 درصد ظرفیت مزرعه آبیاری شدند (اله بخش، 1395). پس از کامل شدن دوره رشد (60 روز)، گیاهان از درون گلدان‌ها برداشت شدند و بعد از شستشو با آب مقطر برخی پارامترهای رشد شامل وزن خشک اندام هوایی و ریشه، طول اندام‌های هوایی و ریشه و همچنین پارامترهای فیزیولوژیک گیاه خرفه به صورت زیر اندازه گیری شدند.

درصد نشت الکترولیت‌ها به روش پرماچاندرا و همکاران (1993) اندازه‌گیری و طبق معادله 1 میزان *MSI* سنجیده شد.

معادله (1)

$$MSI = 1 - \frac{EC_{s1}}{EC_{s2}}$$

پتانسیل آب برگ به روش بارس و واترلی (1962) اندازه-گیری و طبق معادله زیر محاسبه شد.

معادله (2)

$$RWC = \frac{FW-DW}{TW-DW} \times 100$$

که در آن *FW* وزن‌تر برگ، *DW* وزن خشک برگ و *TW* وزن اشباع برگ است.

برای سنجش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها از روش لیچتنتالر (1987) استفاده شد و درنهایت، میزان کلروفیل کل، کلروفیل *a, b*، نسبت کلروفیل *a* به *b* و میزان

کاروتنوئیدها از طریق معادله‌های 3، 4، 5 و 6 محاسبه گردید.

معادله (3) $Chl_b = 21.21A_{647} - 5.1A_{664}$

معادله (4) $Chl_a = 12.25A_{664} - 2.79A_{647}$

معادله (5) $Chl_T = Chl_a + Chl_b$

معادله (6) $carteniod = \frac{1000A_{470} - 1.8chla - 85.02chlb}{198}$

میزان فلورسانس کلروفیل برگ‌ها با استفاده از دستگاه فلورسانس سنج (*SCIENCES-OPTI*) مدل *OS*-30 در آزمایشگاه پژوهشکده گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد اندازه‌گیری شدند.

همچنین نمونه‌برداری از خاک نزدیک ریشه گیاه (خاک رایزوسفری) نیز صورت گرفت و نمونه‌ها برای اندازه‌گیری برخی از آنزیم‌های خاک به آزمایشگاه تحقیقاتی کشاورزی دانشگاه پیام نور مشهد منتقل شدند. فعالیت آنزیم دهیدروژناز با استفاده از روش تالمن (1968) و تبدیل ۵،۳،۲- تری فنیل تترازولیوم کلراید (*TTC*) به ۵،۳،۲- تری فنیل فورمازان (*TPF*) و اندازه گیری جذب در طول موج 466 با دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام شد. در اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی ابتدا یک گرم خاک توزین و سپس 0/25 میلی‌لیتر تولوئن و 4 میلی‌لیتر بافر فسفات با (*pH=11*) برای فسفاتاز قلیایی و با *pH=6.5* برای فسفاتاز اسیدی و یک میلی‌لیتر از محلول سوبسترای پارا نیترو فنل به آن افزوده شد و پس از انکوباسیون نمونه‌ها برای یک ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، 4 میلی‌لیتر هیدروکسیدسدیم 0/5 مولار و یک میلی‌لیتر کلرید کلسیم 0/5 مولار برای اتمام یافتن فعالیت آنزیمی به آن افزوده شد و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر و در طول‌موج 410 نانومتراندازه‌گیری انجام شد (طباطبائی و برمنر 1969).

فعالیت آنزیم اوره آز با افزودن بافر تریس (تریس هیدرو کسی متیل آمینو متان(*pH=9*) و انکوباسیون نمونه‌ها به مدت 2 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انجام شد. در ادامه محلول*KCl-Ag_2SO* (2/5مولار نسبت به *KCl* و 100 میلی‌گرم در لیتر نسبت به Ag_2SO_4) به نمونه‌ها افزوده شد و مقدار آمونیومآزادشده در سوسپانسیون به روش رنگ سنجی تعیین و برحسب میلی‌گرم آمونیوم به ازای هر گرم خاک (*mgN-NH_3/gr soil.2hr*) گزارش گردید (طباطبائی و همکاران، 1982). درصد کربن آلی خاک نیز به روش اکسیداسیون‌تر تعیین شد(والکی، 1947).

در انتها بر اساس فعالیت‌های آنزیمی خاک و میزان کربن، شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک (M_w) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

معادله (7) $M_W = \left(\frac{Ure}{10} + Deh + Pal + Pac\right).\%C$

در این معادله *Ure*: فعالیت آنزیم اوره آز، *Deh*: فعالیت آنزیم دهیدروژناز، *Pal*: فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی، *Pac*: فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و *C*: مقدار کربن خاک است (ویسکوسکا و همکاران، 2001).

نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار*MINTAB* بر مبنای طرح کاملاً تصادفی مورد آنالیز قرار گرفت. میانگین‌ها با استفاده از آزمون *LSD* و در سطح معنی‌داری 0/05 مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

فعالیت‌های آنزیمی خاک‌ها یکی از شاخص‌های بیولوژیکی مهم در ارزیابی کیفیت خاک‌ها به‌حساب می‌آیند (رت و همکاران، 2010). حضور فلزات سنگین در خاک‌ها توازن بیولوژیکی خاک‌ها را مختل می‌کند و ممکن است فعالیت‌های آنزیمی خاک‌ها را تحریک کند و در مقادیر بالا اثر ممانعت کنندگی خواهد داشت (فرانکنبرگر و همکاران، 1983). تأثیر فلزات سنگین بر خاک‌ها بستگی به نوع و ویژگی‌های آن فلز آلاینده دارد. نتایج تجزیه واریانس اثر کروم بر فعالیت آنزیمی و شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک در جدول 2 نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود اثر غلظت های مختلف کروم بر فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز، اوره

آز، فسفاتاز اسیدی و قلیایی و شاخص بیوشمیایی باروری خاک معنی‌دار بود ($P<0.05$). آنزیم دهیدروژناز با اولین افزایش در غلظت کرومیعنی تیمار 25 میلی‌گرم در کیلوگرم، ابتدا به میزان 11/5 درصد افزایش پیدا کرد و سپس در مقادیر بالاتر کروم در خاک، کاهش یافت (جدول 3).

جدول 2- تجزیه واریانس فعالیت های آنزیمی و شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک تحت سطوح مختلف کروم

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		فعالیت آنزیم دهیدروژناز (µg TPF/ gr soil.day)	فعالیت آنزیم اوره آز ($mgN-NH_3/gr$)	فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی (µmolPNP/gsoil.h)	فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی (µmolPNP/gsoil.h)	شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک
کروم	4	2/8988**	59/041**	9029/000**	19416/000**	29575/688**
خطا	10	2/348	2/348	1352	2387	3696/961
ضریب تغییرات (%)		8/283	8/283	3/076	13/685	8/580

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و *ns*: غیر معنی‌دار

در میان آنزیم‌های خاک، دهیدروژناز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی است که به‌عنوان شاخص فعالیت‌های میکروبی استفاده می‌شود زیرا در همه سلول‌های میکروبی زنده به‌صورت درون‌سلولی تولید می‌شود (سالازار و همکاران 2011). از طرفی میکروب‌ها در هنگام روبه‌رو شدن با تنش‌های واردشده به خاک مانند آلاینده‌های فلزی، فعالیت‌های زیستی خود را به‌طورچشم‌گیری افزایش می‌دهند و انرژی بیشتری را برای روبه‌رو شدن با آلاینده‌ها به کار می‌برند که با افزایش ترشح آنزیم دهیدروژناز نیز همراه خواهد بود. ولی این افزایش با ادامه حضور آلاینده‌ها و افزایش غلظت آن‌هانمی‌تواند ادامه پیدا کند و میکروارگانیسم های حساس از بین می‌روند (دیاز-راوینا و باس 1996). فعالیت آنزیم اوره‌آز با افزایش غلظت کروم در خاک تا 75 میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش و پس‌ازآن افزایش یافت. فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی نیز در ابتدای افزایش آلاینده زیاد و سپس کاهش یافتند که به دلیل مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر تنش ناگهانی واردشده به آن‌هااست (جدول 3).

جدول 3- تأثیر سطوح مختلف فلز کروم بر فعالیت های آنزیمی و شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک

غلظت کروم در خاک ($mg\ Cr.\ kg^{-}$)	فعالیت آنزیم دهیدروژناز (µg TPF/ gr soil.day)	فعالیت آنزیم اوره آز ($mgN-NH_3/gr$)	فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی (µmolPNP/gsoil.h)	فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی (µmolPNP/gsoil.h)	شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک
0	^{a}2/870	^{a}33/750	^{a}459/950	^{c}1633/220	^{c}1099/70
25	^{a}3/120	^{a}32/180	^{b}339/940	^{a}1839/460	^{a}1156/45
50	^{a}2/60	^{c}25/520	^{a}466/780	^{a}1792/870	^{b}1114/40
75	^{b}1/190	^{c}23/130	^{a}413/820	^{ab}1763/190	^{c}1090/25
100	^{b}0/960	^{b}28/540	^{a}467/630	^{bc}1702/330	^{d}1015/38
LSD	^{a}2/870	^{a}33/750	66/890	88/880	61/660

*میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در سطح احتمال پنج درصد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

هر یک از آنزیم‌های خاک، به‌گونه‌ای متفاوت توانایی بیان وضعیت کیفی خاک‌ها رادارند، به همین دلیل استفاده از مجموع نتایج آنزیمی خاک‌ها، شاخص قابل‌قبول‌تری برای بررسی کیفیت خاک‌ها خواهد بود. پژوهشگران برای این منظور از شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک استفاده می‌کنند که ارتباط بین آنزیم‌های دهیدروژناز، اوره آز،فسفاتاز اسیدی و فسفاتاز قلیایی را با درصد کربن آلی خاک نشان می‌دهد (کاچارسکی، 1997). با توجه به نتایج جدول 3 شاخص حاصلخیزی خاک ابتدا در تیمار غلظتی 25 میلی‌گرم بر کیلوگرم کروم افزایش و سپس با افزایش غلظت کروم کاهش یافته و کمترین میزان آن در غلظت 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. احتمالاً در ابتدا افزایش اندکی در غلظت کروم نقش تحریک‌کنندگی روی میکروارگانیسم‌ها و به دنبال آن فعالیت‌های آنزیمی خاک‌ها داشته است. یافته‌های دیگر پژوهشگران نیز تأثیر منفی فلزات سنگین را بر فعالیت‌های آنزیمی خاک‌ها نشان می‌دهد (طباطبائی و برمر 1969، کبوس 1995 و مارچیوری و همکاران 1998). البته تأثیر فلز سنگین به سطح آلاینده در خاک بستگی دارد. رونوسکا و هرینزاک(1992) گزارش کرد که وقتی غلظت فلز سنگین در خاک به‌تدریج افزایش یابد فعالیت‌های آنزیمی می‌توانند تحریک شوند اما در غلظت‌های بالاتر تأثیر ممانعت کنندگی آن‌هاچشم‌گیر است.

نتایج تجزیه واریانس معنی‌داری صفات وزن خشک اندام های هوایی و زیرزمینی، نسبت وزن خشک ریشه به اندام های هوایی، ارتفاع بوته و درصد بقاء تحت تأثیر سطوح مختلف کروم در جدول 4 نشان داده شده است.

بیشترین مقدار کل صفات مورد بررسی در شاهد مشاهده شد و با افزایش غلظت کروم، وزن خشک اندام های هوایی و زیرزمینی و نسبت وزن خشک ریشه به اندام های هوایی روند کاهشی معنی‌داری نشان دادند. همچنین با افزایش غلظت کروم تا 75 پی پی ام، صفات درصد بقاء، ارتفاع بوته و طول ریشه، کاهش و سپس در 100 پی پی ام کروم، افزایش یافت (جدول 5).

جدول 4- تجزیه واریانس برخی خصوصیات مورفولوژیک گیاه خرفه تحت سطوح مختلف کروم

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		وزن خشک کل (*g*)	وزن خشک ریشه(*g*)	وزن خشک اندام های هوایی (*g*)	طول ریشه (*cm*)	ارتفاع ساقه (*cm*)	درصد بقاء	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی
کروم	4	0/800**	0/213**	0/191**	45/653**	113/846**	1566/867**	0/034**
خطا	10	0/002	0/001	0/001	0/221	0/623	82/417	0/000
ضریب تغییرات		0/980	1/910	0/86	7/520	10/090	18/740	1/470

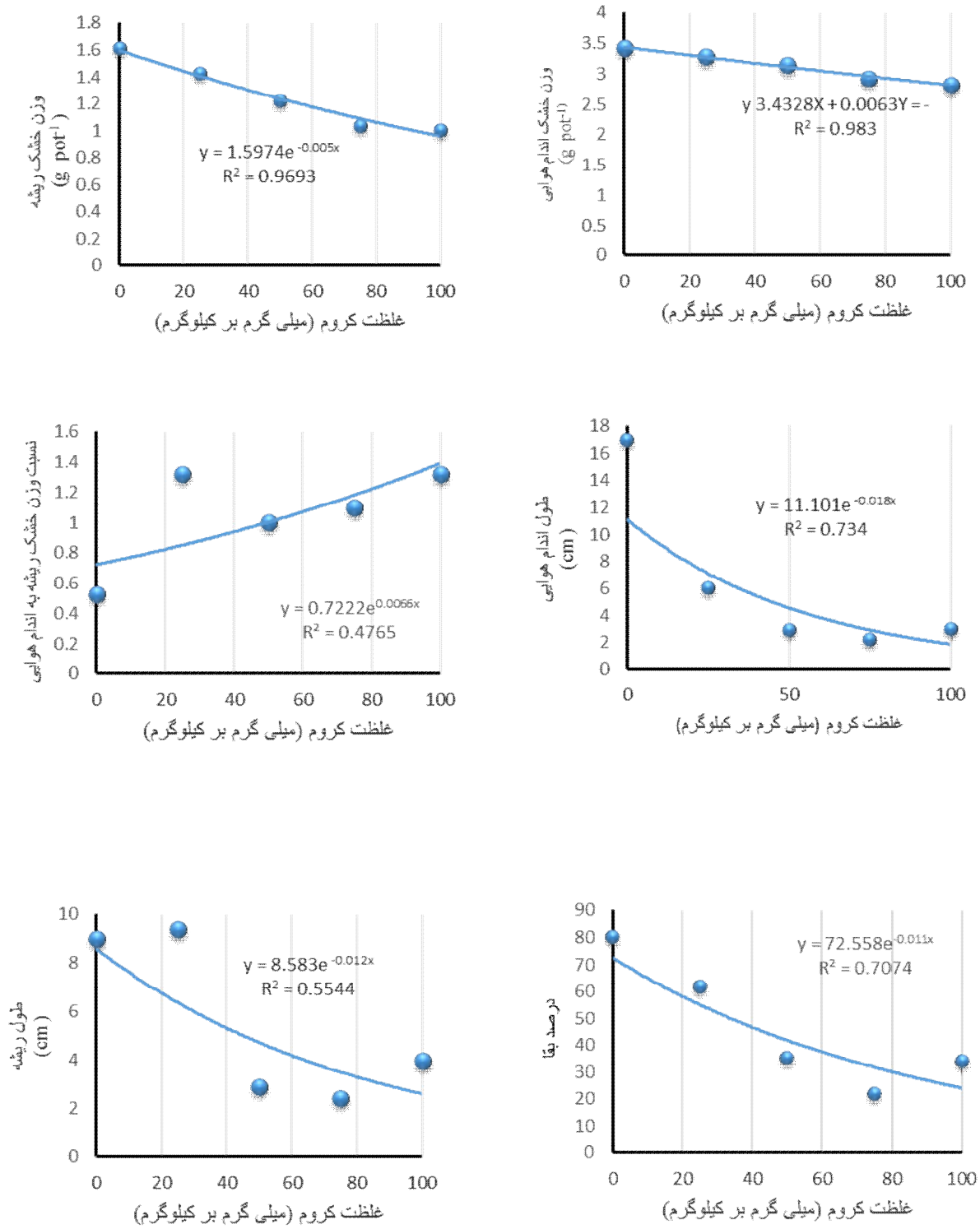
**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و *ns*: غیر معنی‌دار

جدول 5- مقایسه میانگین خصوصیات مورفولوژیک گیاه خرفه تحت سطوح مختلف کروم

سطوح مختلف کروم (پی پی ام)	درصد بقاء	ارتفاع ساقه (سانتی متر)	طول ریشه (سانتی متر)	وزن خشک اندام های هوایی (گرم در بوته)	وزن خشک ریشه (گرم در بوته)	وزن خشک کل (گرم در بوته)	نسبت وزن خشک ریشه به اندام های هوایی
شاهد	a80/000	a16/940	b9/000	a3/420	a1/613	a5/033	0.52c
25	b61/670	b6/000	9.39a	b3/306	b1/427	b4/713	1.32a
50	c35/000	d2/900	d2/900	c3/124	c1/217	c4/341	1b
75	d21/670	d2/267	2.4d	2.913d	d1/011	d3/912	1.1b
100	33.89c	3.01c	4c	e2/823	d1/000	e3/823	1.32a
LSD	16/520	1/436	0/855	0/057	0/057	0/081	0/011

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در سطح احتمال پنج درصد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

بین شدت کاربرد کروم در خاک و پارامترهای رشد گیاه خرفه همبستگی منفی مشاهده شد (شکل 1). بیشترین همبستگی منفی(R^2 =0.98) در رابطه بین وزن خشک اندام‌های هوایی و غلظت کروم در خاک مشاهده شد. بعد از آن به ترتیب وزن خشک ریشه‌ها (R^2 = 0.96)، طول اندام هوایی (R^2 = 0.73)، درصد بقا (R^2 = 0.70) و طول ریشه‌ها (R^2 = 0.55) در رتبه های بعدی قرار گرفتند. همانگونه که مشاهده می‌شود یشترین تأثیر منفی آلودگی کروم بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه است که در نهایت منجر به کاهش تقریباً 100 درصدی عملکرد گیاه می‌شود. وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاه خرفه می تواند به عنوان یک شاخص حساس برای ارزیابی وضعیت گیاه نسبت به تنش کروم در خاک، استفاده شود. کاهش در وزن خشک به علت اختلال در متابولیسم کلی سلول‌ها است. نتایج حاصل از تحقیقات پژوهشگران نشان داده است که میزان پروکسیداسیون چربی‌ها به علت افزایش مقدار پروکسید هیدروژن در سلول در حضور فلزات سنگین افزایش می‌یابد. این موضوع باعث بر هم خوردن تعادل آبی و تغذیه ای سلول شده که مهم‌ترین عامل در کاهش وزن گیاه می‌باشد (سانیتا و گابریلی 1999). تنش فلز کروم از جمله عوامل محدود کننده‌ی رشد ریشه گیاه است و کاهش رشد ریشه فعالیت‌های رشدی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و همچنین عدم توسعه ریشه منجر به کاهش سطوح جذب کننده‌ی مواد غذایی نیز می‌شود. این تغییرات منجر به تغییر در ساختار غشای سلولی و کاهش جذب و محتوای آب می‌شود. به طور کلی کاهش رشد ریشه و اندام هوایی تحت تأثیر فلزات سنگین نشان دهنده‌ی کاهش و اختلال در سنتز پروتئین‌ها و همچنین کاهش فعالیت دستگاه فتوسنتزی می‌باشد (مانیواساگاپرومال و همکاران 2011). با اینکه طول ریشه‌ها و اندام هوایی در تنش کروم کاهش یافت ولی نسبت طول ریشه به اندام هوایی با افزایش غلظت کروم در خاک همبستگی مثبت نشان داد (شکل 1).



شکل 1- نمودارهای رگرسیون بین سطوح مختلف غلظتی کروم با پارامترهای مورفولوژیک گیاه خرفه

این نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کروم در خاک طول ریشه‌ها افزایش و طول اندام هوایی کاهش می‌یابد. نتایج عزیزی و همکاران (عزیزی و همکاران 2016) در تحقیق روی تحمل گیاه خرفه به تنش کروم، نشان داد که ریشه‌های گیاه خرفه قادر به تجمع مقادیر بالای کروم هستند و گیاه خرفه به عنوان یک گیاه بیش

اندوز برای فلز کروم معرفی شده است. نتایج این تحقیق در افزایش طول ریشه‌ها نسبت به اندام هوایی می‌تواند به دلیل سازگاری گیاه نسبت به شرایط تنش باشد، بدین صورت که گیاه خرفه با افزایش طول ریشه، توانایی خود را برای جذب فلز افزایش داده است. مک فارلن و بارچیت (2001) گزارش کردند که در انتقال فلز کروم از ریشه به اندام هوایی محدودیت وجود دارد که دلیل این امر، اتصال یون کروم در جایگاه های تبادلی کاتیونی در ریشه و در نتیجه غیر متحرک شدن آن می‌باشد. در نتیجه بیشترین مقدار کروم جذب شده توسط گیاه در ریشه‌ها باقیمی‌ماند.ضرایب همبستگی بین فعالیت‌های آنزیمی خاک و شاخص بیولوژیکی حاصلخیزی خاک با شاخص‌های رشد گیاه خرفه در جدول 6 نشان داده شده است. در بین آنزیم‌های خاک، اوره آز بالاترین ضرایب همبستگیرا با شاخص‌های رشد گیاه نشان داد و می‌تواندبه‌عنوان شاخص مناسبی برای ارزیابی میزان تأثیر آلودگی بر رشد گیاه خرفه به کار رود. شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک بالاترین ضریب همبستگی را در بین پارامترهای رشد خرفه، با وزن خشک اندام هواییشان داد. ویسکوزکا و همکاران(2001) بالاترین ضریب همبستگی را بین فعالیت آنزیم دهیدروژناز و شاخص حاصلخیزی خاک با وزن خشک اندام هوایی گیاه لوبیا مشاهده کردند. مطالعات دیگری، همبستگی معنی‌داری را بین میزان کربن آلی و فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک‌ها گزارش نموده‌اند (آلووی و جکسون 1991، لیتینسکی و همکاران 1976). طباطبائی و برمنر (1969) نیز *pH* را به‌عنوان یک شاخص مناسب برای ارزیابی فعالیت‌های آنزیمی در حضور فلزات سنگین در خاک‌ها معرفی کرد. با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد که در بین پارامترهای رشد گیاه، وزن خشک اندام هوایی، طول ریشه‌ها و درصد بقا برای ارزیابی تأثیر آلودگی در گیاه خرفه مناسب‌تر هستند.

جدول 6- ضرایب همبستگی بین فعالیت‌های آنزیمی خاک و شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک با پارمترهای مورفولوژیک گیاه خرفه در شرایط تنش کروم

متغیر	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک‌ریشه	طول اندام هوایی	طول ریشه	طول ریشه به اندام هوایی	درصد بقا
دهیدروژناز	-0/893**	-0/790*	-0/447*	-0/857**	0/420*	-0/674*
اوره آز	-0/666*	-0/825**	-0/850**	-0/931**	0/324^{ns}	-0/957**
فسفاتاز اسیدی	-0/883**	-0/860**	-0/458*	-0/968**	0/133^{ns}	-0/831**
فسفاتاز قلیایی	-0/192^{ns}	-0/091^{ns}	-0/035^{ns}	-0/298^{ns}	0/615*	-0/073^{ns}
شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک	-0/631*	-0/379^{ns}	-0/102^{ns}	-0/368^{ns}	0/686*	-0/176^{ns}

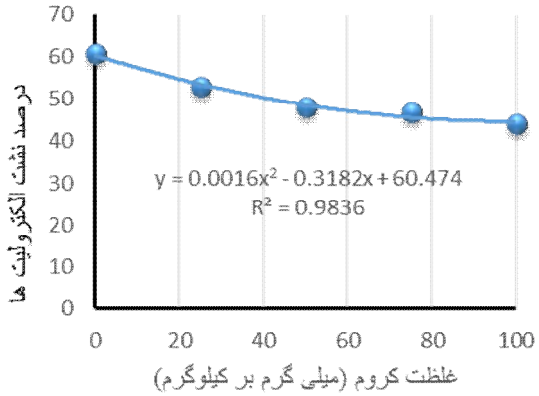
**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و *ns*: غیر معنی‌دار

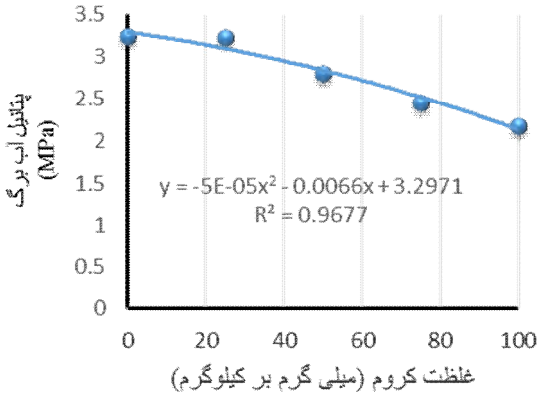
به‌منظوریافتن شاخص‌هایمناسب‌تر در ارزیابی بهتر تأثیر فلز سنگین کروم بر گیاه خرفه و ارتباط آن با فعالیت‌های آنزیمی خاک، چندین پارامتر فیزیولوژیکی گیاهی نیز در گیاه خرفه اندازه‌گیری و بررسیشدند. شکل2 معادله رگرسیونی و ضرایب همبستگیبین غلظت‌های مختلف کروم در خاک و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه خرفه را نشان می‌دهد. کلیه پارامترهای فیزیولوژیکی اندازه گیری شده ضرایب همبستگی بالای 90 درصد را با افزایش غلظت کروم در خاک نشان دادند. درصد نشت الکترولیت‌ها با $R^2=0.98$ بیشترین تأثیر منفی را با افزایش غلظت کروم در خاک متحمل شده است. نتایج نشان می‌دهد که این پارامترها بسیار حساس نسبت به افزایش غلظت کروم در خاک می‌باشند. در واقع با اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌ها می‌توان برآوردی از مقدار آسیب غشاء در تنش فلزات سنگین به دست آورد. فلزات سنگین با غیر فعال کردن آنزیم‌های غشای، تخریب آنزیم

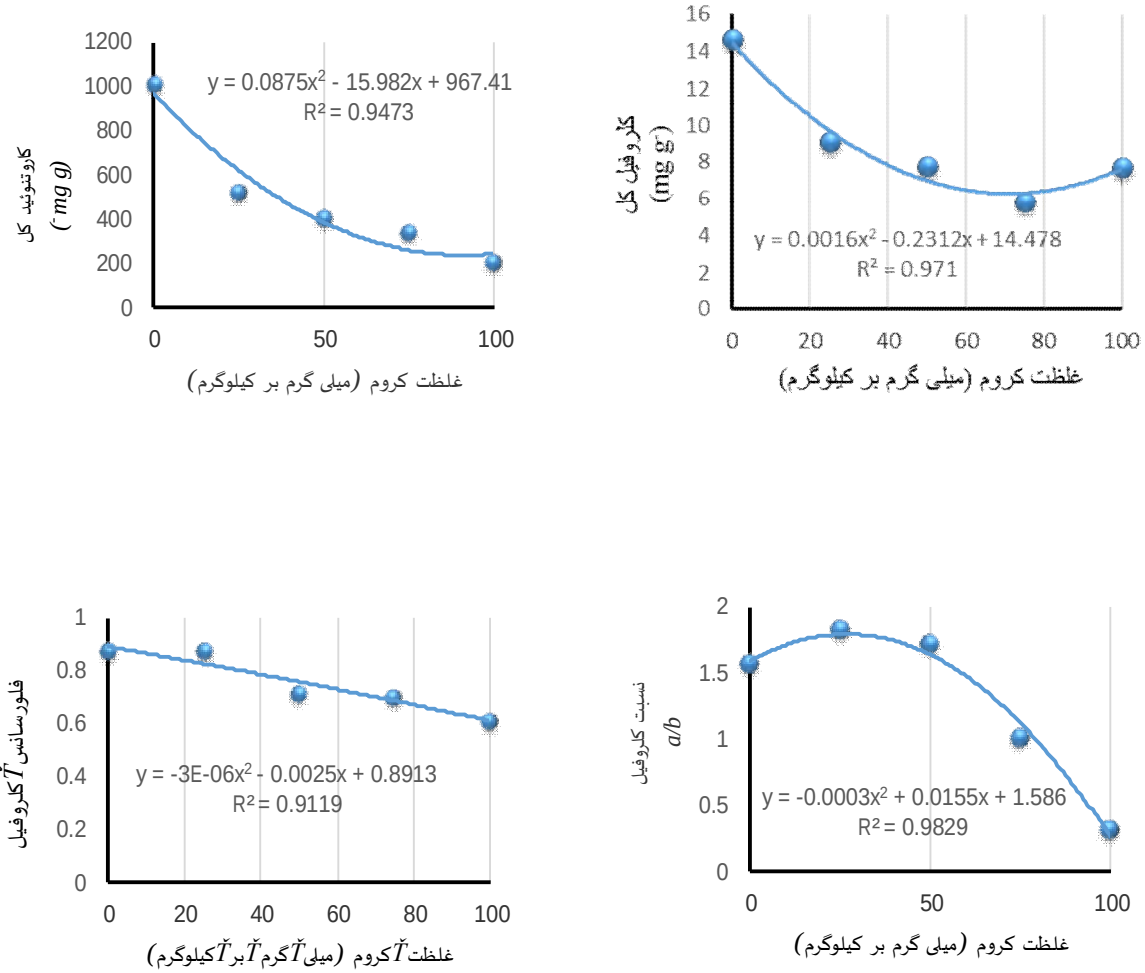
های آنتی اکسیدانی و تخریب چربی‌های غشاء سلولی سبب افزایش آسیب غشایی در گیاه می‌شود. این چنین آسیب‌هایی به دلیل مکانیسم‌های متنوعی مانند اکسیداسیون و مهار پروتئین‌های غشایی می‌باشد.

افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک می‌تواند سبب جذب بیشتر این فلزات با گیاه گردد که درنتیجه آن، جانشینی فلزات سنگین با فلزات ضروری در سلول‌های گیاهی رخ می‌دهد. از آنجائی که فلزات ضروری در تشکیل رنگیزه‌ها و آنزیم‌ها نقش مهمی دارند بنابراین در حضور فلزات سنگین تشکیل رنگیزه‌ها دچار اختلال می‌شود (بارسلو و پوسچنریدر 2004).

داویس و همکاران (2002) کروم را به‌عنوان بازدارنده فتوسنتز و فتوسیستم *II*معرفیکرده‌اند که این بازدارندگی به تنش اکسیداتیو ناشی از تولید گونه‌های اکسیژن فعال (*ROS*) نسبت داده می‌شود. عملکرد فتوسیستم*II* از دیگر جایگاه‌هایی است که به‌شدت تحت تأثیر تنش غیر زیستی قرار می‌گیرد، لذا میزان پلاستیدهای جدید، کلروفیل *a* و *b* و همچنین کاروتنوئید کاهش می‌یابد (زرافشار و همکاران 2015). در واقع با ورود فلزات سنگین به داخل کلروپلاست و تجمع آن‌ها در بین اندامک ها ممکن است تنش های اکسیداتیو اتفاق بیفتد که موجب پروکسیداسیون کلروپلاست ها می‌شود (سینگ 1995). همچنین فلزات سنگین به طور مستقیم ساختار و عملکرد کلروپلاست‌ها را با اتصال به گروه‌های سولفیدریل آنزیم‌ها از هم گسیخته می‌کنند و روی بیوسنتز کلروفیل تاثیر می‌گذارند. با توجه به افزایش میزان کلروفیل*b* در سطح *ppm* 100 نسبت به سطوح پایین‌تر کروم، می‌توانایین‌گونه‌نتیجه‌گیری نمود که احتمالاً گیاه خرفه از طریق افزایش میزان کلروفیل *b*، مکانیسم‌هایی را جهت تحمل سطوح بالای تنش فعال می‌کند و درنتیجه در سطوح بالای تنش با افزایش میزان کل کلروفیل تا حدودی اثرات تخریبی ناشی از تنش جبران می‌شود.







شکل2- نمودارهای رگرسیون بین سطوح مختلف غلظتی کروم با پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه خرفه

ضرایب همبستگی بین فعالیت آنزیم‌های خاک و پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه خرفه در جدول 7 نشان داده شده است. نتایج نشان می دهند که آنزیم‌های دهیدروژناز و فسفاتاز اسیدی همبستگی بالایی را با پتانسیل آب برگ و نسبت کروفیل *a/b* نشان دادند. آنزیم اوره آز بالاترین همبستگی را با درصد نشت الکترولیت‌ها نشان داد و آنزیم فسفاتاز قلیایی با نسبت کلروفیل *a/b* همبستگی بالایی را نشان داد. شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک نیز بالاترین همبستگی را با نسبت کلروفیل *a/b* داشت. درنتیجه نسبت کلروفیل *a/b* شاخص مناسبی است که بالاترین همبستگی را با اکثر آنزیم‌های خاک نشان داد. شاید بتوان از این نسبت به‌عنوان شاخص مناسب در سنجش تأثیرآلاینده‌ها بر گیاه استفاده نمود. کاهش میزان رنگدانه ها در گیاهان به دلیل تنش فلزات سنگین به علت آسیب شدید اکسیداتیو است و بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل است.

جدول 7- ضرایب همبستگی بین فعالیت‌های آنزیمی خاک و شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک با پارمترهای فیزیولوژیکی گیاه خرفه در شرایط تنش کروم

متغیر	پتانسیل آب برگ (مگا پاسکال)	درصد نشت الکترولیت‌ها (%)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر)	کاروتینوئید کل (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر)	فلورسانس کلروفیل	نسبت کلروفیل a/b
دهیدروژناز	0/928**	0/565*	0/433*	0/480*	0/810**	0/921**
اوره آز	0/633*	0/904**	0/814**	0/845**	0/773*	0/319^{ns}
فسفاتاز اسیدی	0/977**	0/711*	0/505*	0/578*	0/975**	0/889**
فسفاتاز قلیایی	0/335^{ns}	0/303^{ns}	0/031^{ns}	0/042^{ns}	0/280^{ns}	0/690*
شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک	0/680*	0/608*	0/650*	0/297^{ns}	0/721*	0/905**

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و *ns*: غیر معنی‌دار

نتیجه‌گیری

با افزایش غلظت فلز سنگین کروم در خاک، فعالیت های آنزیمی خاک به طور معنی‌داری کاهش یافتند. شاخص بیوشیمیایی حاصلخیزی خاک که از مجموع فعالیت‌های آنزیمی قابل محاسبه است، همبستگی بالایی را با شاخص‌های رشد گیاه خرفه مخصوصاً وزن خشک اندام هوایی نشان داد. افزایش غلظت کروم در خاک منجر به کاهش پارامترهای فیزیولوژیک خاک مثل درصد نشت الکترولیت‌ها، پتانسیل آب برگ و شاخص‌های فتوسنتز شد. نتایج نشان دادند که شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه خرفه نسبت به شاخص‌های موفولوژیک آن حساسیت بالاتری را نسبت به تنش فلز سنگین کروم دارند. بررسی شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه به همراه شاخص‌های بیوشیمیایی خاک یکی از بهترین راه‌ها برای ارزیابی وضعیت آلاینده در خاک و گیاه می‌باشد.

فهرست منابع:

1. احمدی ا.، اردکانی سهیل.، 1396، بررسی تجمع کروم و نیکل در خاک اطراف شهرک صنعتی شماره 3 اراک. علوم و تکنولوژی محیط زیست، 22، 5: 87-97.
2. اله بخش ا.، سیروس مهرع.، ابراهیمی ا.، شهرکی ن.، 1397. اندوزش و تحمل آلودگی کادمیومی و تأثیر تیمار سیلسیوم بر برخی شاخص های فیزیولوژیک در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*). مجله پژوهشهای گیاهی. 31. 2: 235-247.
3. سلامت دوست ر.، قربانی ا.، 1396، بررسی تأثیر کروم بر آسیب پذیری منطقه ترانزیستی تبریز-صوفیان. فصلنامه اکوسیستم های طبیعی ایران، 8، 2: 31-40.
4. *Aja, P. M., Okaka, A. N. C., Onu, P. N., Ibiam, U., and A. J. Urako. 2010. Phytochemical composition of Talinum triangulare (water leaf) leaves. Pakistan Journal of Nutrition. 9(6): 527-530.*
5. *Al-Khafaji, A. A., and M. A. Tabatabai. 1979. Effects of trace elements on arylsulfatase activity in soils. Soil Science. 127(3): 129-133.*
6. *Alloway, B. J., and A. P. Jackson. 1991. The behaviour of heavy metals in sewage sludge-amended soils. Science of the Total Environment. 100: 151-176.*

7. *Alyazouri, A. H., Jewsbury, R. A., Tayim, H. A., Humphreys, P. N., and M. H. Al-Sayah. 2013. Phytoextraction of Cr (VI) from soil using Portulaca oleracea. Toxicological & Environmental Chemistry. 95(8): 1338-1347.*
8. *Azizi, E., Rahbarian, R., and A. Mirbolook 2016. Phytoremediation of Cr^{+6} in Contaminated Soil using portulaca oleracea. Journal of Soil Research (Soil and Water Sciences). 30 (2): 161-172.*
9. *Banerjee, M., Mishra, S., and J. Chatterjee. 2004. Scavenging of nickel and chromium toxicity in Aulosirafertilissima by immobilization Effect on nitrogen assimilating enzymes. Electronic Journal of Biotechnology. 7(3): 13-14.*
10. *Barabasz, W., Chmiel, M., Galus, A., and I. Paśmionka. 1998. Ekotoksykologiachromu. ChemiaiInżynieriaEkologiczna. 5(8-9): 665-674.*
11. *Barcelo, J., and C. Poschenrieder. 2004. Structural and ultrastructural changes in heavy metal exposed plants. In Heavy metal stress in plants (pp. 223-248). Springer, Berlin, Heidelberg.*
12. *Barrs, H. D., and P. E. Weatherley. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. Australian journal of biological sciences. 15(3): 413-428.*
13. *Belyaeva, O. N., Haynes, R. J., and O. A. Birukova 2005. Barley yield and soil microbial and enzyme activities as affected by contamination of two soils with lead, zinc or copper. Biology and Fertility of Soils. 41(2): 85-94.*
14. *Bremner. J.M. and Mu Lvaney. R.G. (1982) Nitrogen total.*
15. *Davies Jr, F. T., Puryear, J. D., Newton, R. J., Egilla, J. N., and J. A. Saraiva Grossi. 2002. Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange. Journal of Plant Nutrition. 25(11): 2389-2407.*
16. *Diaz-Ravina, M., and E. Baath. 1996. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increase metal levels. Applied and Environmental Microbiology. 62(8): 2970-2977.*
17. *Dick, W. A., Cheng, L., and P.Wang. 2000. Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. Soil Biology and Biochemistry. 32(13): 1915-1919.*
18. *Di Toppi, L. S., and R. Gabbrielli. 1999. Response to cadmium in higher plants. Environmental and experimental botany. 41(2): 105-130.*
19. *Ezekwe, M. O., Omara-Alwala, T. R., and T. Membrahtu. 1999. Nutritive characterization of purslane accessions as influenced by planting date. Plant Foods for Human Nutrition. 54(3): 183-191.*
20. *Frankenberger Jr, W. T., Johanson, J. B., and C. O. Nelson. 1983. Urease activity in sewage sludge-amended soils. Soil Biology and Biochemistry. 15(5): 543-549.*
21. *Hiroyuki, O., and H. Tsutomu. 1983. Oligotrophic bacteria on organic debris and plant roots in a paddy field soil. Soil Biology and Biochemistry. 15(1): 1-8.*
22. *Huang, Q., and H.Shindo. 2001. Contparison of the influence of Cu, Zn, and Cd on the activity and kinetics of free and intntobilized acid phosphatase. Soil Science and Plant Nutrition. 47(4): 767-772.*
23. *Juma, N. G., and M. A. Tabatabai. 1978. Distribution of phosphomonoesterases in soils. Soil Science. 126(2): 101-108.*
24. *Kobus, J. 1995. Biologicznеprocesy a ksztaltowaniezyznoscigleby. ZeszytyProblemowePostępówNaukRolniczych. 421: 209-219.*
25. *Kucharski, J. 1997. Relacjemiędzyaktywnościąenzymów a żyznościągleby. W: Drobnoustroje w środowisku. Występowanie, aktywnośćiznaczenie. Pr. zbior. Red. W. Barabasz. Kraków. AR. 327-347.*

26. *Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in enzymology. 148: 350-382.*
27. *Lityński T. Jurkowska H and Gorlach E.; 1976. Analizachemiczno-rolnicza [Chemical and agricultural analysis]. PWN Warszawa: 129-132; [in Polish].*
28. *MacFarlane, G. R., and M. D. Burchett. 2001. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, Avicennia marina (Forsk.) Vierh. Marine pollution bulletin. 42(3): 233-240.*
29. *Manivasagaperumal, R., Vijayarengan, P., Balamurugan, S., and G.Thiyagarajan2011. Effect of copper on growth, dry matter yield and nutrient content of Vigna radiata (L.) Wilczek. Journal of Phytology. 3(3): 53-62.*
30. *Marchiori, M., DeMelo, W. J., Chelli, R. A., and S. A. S. Leite 1998. Total soil nitrogen, nitrogen in the microbial biomass and enzyme activity in a soil under different types of use. In Proc. 16th World Congress of Soil Science, Montpellier, France, CD ROM.*
31. *Marzadori, C., Ciavatta, C., Montecchio, D., and Gessa, C. 1996. Effects of lead pollution on different soil enzyme activities. Biology and Fertility of Soils. 22(1): 53-58.*
32. *Olsen. S.R., cole. C.V., Watanabe. F.S. and Dean. L.A. (1954). Estimation22) of available phasphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Cire. U.S.Dep. Agric. 939.*
33. *Otabbong, E. 1989. Chemistry of Cr in Some Swedish Soils: 1. Chromium Speciation in Soil Extracts: A Comparison of Different Methods. Acta AgriculturaeScandinavica. 39(2): 119-129.*
34. *Parry, O., Okwuasaba, F. K., and C. Ejike. 1987. Skeletal muscle relaxant action of an aqueous extract of Portulaca oleracea in the rat. Journal of ethnopharmacology, 19(3): 247-253.*
35. *Premachandra, G. S., Saneoka, H., Fujita, K., and S. Ogata. 1993. Water stress and potassium fertilization in field grown maize (Zea mays L.): effects on leaf water relations and leaf rolling. Journal of Agronomy and Crop Science. 170(3): 195-201.*
36. *Rath, M., Mishra, C. S. K., and R. C. Mohanty. 2010. Microbial population and some soil enzyme activities in iron and chromite mine spoil. International journal of Ecology and Environmental sciences. 36(2/3): 187-193.*
37. *Runowska-Hrynczuk, B. 1992. Przydatnoscwskaznikowaktywnoscibiologicznejgleby do ocenystanujejzyznosci. PamiętnikPuławski. 100: 187-200.*
38. *Salazar, S., Sánchez, L. E., Alvarez, J., Valverde, A., Galindo, P., Igual, J. M., and I. Santa-Regina. 2011. Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. Ecological Engineering. 37(8): 1123-1131.*
39. *Sikora, L.J.,Yakovchenko, V., and D.D. Kaufman. 1995. A proposed soil-quality indicator. In: Cook, H.F., and Lee, H.C. (Eds.): Soil Management in Sustainable Agriculture. Wye College Press: 312 – 318.*
40. *Simard. R.R. (1993) Ammonium acetate expectable elements. In: Martin, R., Carter, S. (Eds), soil sampling and method of Analysis. Lewis publisher, Florida,USA, pp.39-43.*
41. *Singh, V. P. 1995. Toxic metal cadmium: phytotoxicity and tolerance in plants. Advances in environmental science technology. New Delhi: Ashish Publication House. 225-256.*
42. *Stephan, J. M., 1994. Purslane. Fact sheet HS-651. Florida Cooperative Extension Service Institute of Food and Agriculture Science. University of Florida. 7 pp.*
43. *Stêpniewska, Z., A. and Wolinska. 2005. Soil dehydrogenase activity in the presence of chromium [III] and [VI]. International Agrophysics. 19(1).*
44. *Unnikannan P and Baskaran L. 2010. Chromium stress in paddy; (i) Nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) Phytoremidiation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. ComptesRenddusBiologies. 333(8)597-607.*
45. *Tabatabai, M. A., and J. M. Bremner. .1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil biology and biochemistry. 1(4): 301-307.*

46. *Tabatabai M.A. Page AL. Miller RH and Keeney DR. 1982. Methods of soil analysis. Part 2: chemical and microbiological properties. Soil enzymes. Soil Science of America, Madison. 907-943.*
47. *Thalmann, A. 1968. ZurMethodik der Bestimmung der DehydrogenaseaktivitAtim Boden mittelstriphenytetrazoliumchlorid (TTC). LandwirtschForsch. 21: 249-258.*
48. *Vernay, P., Gauthier-Moussard, C., and A. Hitmi. 2007. Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of Loliumperenne L. Chemosphere. 68(8): 1563-1575.*
49. *Walkley, A. 1947. Organic carbon by the Walkley-Black oxidation procedure. Soil science. 63: 251-264.*
50. *Watanabe, H., 1984. Accumulation of chromium from fertilizers in cultivated soils. Soil Science and Plant Nutrition, 30(4), pp.543-554.*
51. *Wyszkowska, J., Kucharski, J., Jastrzebska, E., and A. Hlasko. 2001. The biological properties of soil as influenced by chromium contamination. Polish Journal of Environmental Studies. 10(1): 37-42.*
52. *Zarafshar, M.,Akbarnia. M.,Asgari. H., Hosseini. M., and M. Rahaie. 2015. Physiological and biochemical changes in wild pear (Pyrus boisseriana) seedlings in response to irrigation changes. Applied Biology. 28 (1): 59-78.*

Effect of Cr (VI) on Some Soil Enzymatic Activities and Physiological and Morphological Indices of Portulaca Oleracea L.

E. Azizi, A. Mirbolook[1], R. Rahbarian, and A. Behdad

Associate Professor, Department of Agronomy, Payame Noor University, Iran; E-mail: azizi40760@gmail.com
PhD in Soil Chemistry, Urmia University, Urmia, Iran; E-mail: atena.mirbolook@yahoo.com
Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Iran; E-mail: ra_ rahbarian@yahoo.com
PhD in plant physiology, Shiraz University, Shiraz, Iran; E-mail: Behdad_a@yahoo.com

Received: September, 2021, and Accepted: February; 2023

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of chromium heavy metal on soil enzymatic activities and some physiological and morphological indices of portulaca oleracea L., with the local name of Khorfeh. The study was carried out based on a completely randomized design with three replications. Soil samples were infected with different concentrations of chromium (0, 25, 50, 75, and 100 mg kg^{-1} soil). After reaching equilibrium in the soil, Khorfeh plants were grown. The activity of dehydrogenase, phosphatase, and urease, and some physiological and morphological characteristics of plants was determined under chromium stress, then, the correlation between them was determined. The results showed that soil enzyme activities decreased with increasing chromium concentration in the soil. Root and shoot dry weights had the most negative correlation with chromium concentration. The role of soil enzyme activity in the evaluation of chromium contamination status was determined by the biochemical index of soil fertility, which showed the most negative correlation with shoot dry weight. The correlations between Cr concentration in soil and all the physiological indices of plants were above 0.9%. The dehydrogenase activity in relation to plant physiological indices showed similar behavior to the biochemical index of soil fertility. In general, according to the results of this study, the physiological indices of the plant with higher sensitivity than its morphological indices could indicate Cr contamination in the plant.

Keywords: *Biochemical index of soil fertility, Cr contamination, Dehydrogenase*

[1]. *Corresponding author: atena.mirbolook@yahoo.com*