

تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في بعض الصفات التشريحية لأوراق

نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف البرحي.جبار دهري نعمة¹ محمد حمزة عباس² خير الله موسى عواد الجابري²¹ قسم علوم الحياة-كلية العلوم-جامعة البصرة-العراق² مركز ابحاث النخيل -جامعة البصرة-العراق

الخلاصة

تعد مشكلة تلوث الترب الزراعية بالمعادن الثقيلة من المشاكل الشائعة في جميع انحاء العالم نتيجة زيادة النشاطات البشرية، وتظهر النباتات التي تنمو في هذه الترب المتأثرة استجابات مختلفة نتيجة التأثير المباشر لهذه المعادن، جاءت الدراسة الحالية بهدف معرفة تأثير اضافة الكادميوم بتركيزين (3 و 9 ملغم/كغم) والرصاص (100 و 276 ملغم/كغم) الى تربة فسانل نخيل التمر صنف البرحي المكثرة نسيجياً ويعمر سنتان في بعض الصفات التشريحية لأوراقها. اشارت النتائج الى ان اضافة التراكيز العالية من الكادميوم والرصاص ادت الى تقليل حجم الحزم الوعائية الكبيرة والعناصر الناقلة (الخشب واللحاء) و سمك النسيج المتوسط وحجم الخلايا البارنكيمية. كما اوضحت مقاطع التشريح النسيجي الانتشار الكثيف لمركبات التانين في الانسجة النباتية سيما عند طرف النسيج في الاوراق، وبينت النتائج ايضاً ان الكادميوم والرصاص لم يكن لهما تأثير في سمك البشرة وطبقة الكيوتكل السفلى والعليا، و من الجدير بالذكر ان معاملتي التركيز المنخفض من الكادميوم والرصاص لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة في اغلب الصفات المدروسة. وهنا اثبتت الدراسة حدوث تغيرات تشريحية على مستوى النسيج في اوراق نخيل التمر اثر معاملتها بتركيز مختلفة من الكادميوم والرصاص.

كلمات مفتاحية : المعادن الثقيلة ، تلوث ، تشريح ، حزم وعائية

* البحث مستل من اطروحة الدكتوراه للباحث الثالث

1. المقدمة

تعد مشكلة التلوث بالمعادن الثقيلة Heavy metal pollution في الهواء والتربة الزراعية والمياه إحدى المشاكل البيئية المهمة على مستوى العالم، وعلى الرغم من تواجد هذه المعادن طبيعياً في قشرة الأرض إلا أن زيادة الفعاليات البشرية Anthropogenic activities أدت إلى ارتفاع مستويات التلوث البيئي بهذه المعادن (Rai et al., 2004). وتعرف المعادن الثقيلة على أنها الفلزات أو أشباه الفلزات التي تكون كثافتها أكثر من 5 غم/سم³ (Succiu et al., 2008). وتقسّم المعادن الثقيلة إلى عناصر ضرورية للكائنات الحية والتي تحتاجها بتركيز قليلة وتكون سامة بالتراكيز العالية مثل الحديد والزنك والكروم والنحاس، وإلى عناصر غير ضرورية والتي لا يعرف لها أي دور حيوي إلى الآن وتكون سامة عند أي تركيز مثل الرصاص والكاديوم والزرنيق (McGrath et al., 2001). وتكمن خطورة هذه المعادن في عدم تحللها حيويًا Biodegradation وتراكمها في التربة أو أنسجة الكائنات الحية (Kaewsarn and Yu, 2001)، وبالتالي تشكل خطراً على صحة جميع الكائنات الحية وضمنها النباتات (Appenroth, 2010). أنترام المعادن الثقيلة في التربة وارتفاع تراكيزها في محلولها يؤدي إلى امتصاصها من قبل النباتات بواسطة الجذور كونه مقدرة النبات على امتصاص العناصر الضرورية تساوي مقدرتها على تجنب امتصاص العناصر غير الضرورية (Djingova and Kuleff, 2000)، وبالتالي انتقالها إلى أجزاء النبات الأخرى، ويؤدي ارتفاع تراكيز هذه المعادن داخل الخلايا إلى تأثيرات سامة عديدة منها تحفيز تكوين أنواع الأوكسجين الحرة Reactive Oxygen Species (ROS) والتي ينتج عنها حالة الاجهاد التأكسدي (Noriega et al., 2007). Oxidative Stress وتمتلك النباتات عدة آليات دفاعية لتجنب أو تحمل الآثار السامة لتراكم المعادن الثقيلة وعلى عدة مستويات، منها على المستوى الخلوي مثل حبس المعادن الثقيلة Heavy Metals Sequestration في الفجوات أو جدار الخلية كجزء من ميكانيكية إزالة سموم المعادن الثقيلة سيما النباتات المراكمة للمعادن الثقيلة أو إنتاج بعض المركبات مثل التانين داخل الخلايا (Vollenweider et al., 2006; Rascio and Navari-Izzo., 2011). إلا أن تراكم المعادن الثقيلة سيما بالتراكيز العالية قد يؤدي إلى تغيير في التركيب التشريحي للخلايا النباتية، إذ وجد (Gostin 2010) أن خلايا النسيج المتوسط Mesophyll للأوراق الابرية لشجرة الشوح الابيض *Abies alba* التي جمعت من مناطق ملوثة بالمعادن الثقيلة كانت ممتلئة بالتانين فضلاً عن تأثيرها في سمك طبقة البشرة والحزم الوعائية، وأشار (Kovacevic et al 1999) إلى أن تراكم النيكل في أنسجة أوراق الحنطة *Triticum*

aestivum أدى الى تقليل سمك خلايا النسيج المتوسط وحجم الحزم الوعائية وقطر الاوعية الموجودة في الحزم الرئيسية والجانبية وعرض خلايا البشرة. ولاحظ (Vollenweider et al, 2006) ان سمك جدار الخلايا في عروق اوراق نبات الصفصاف *Salix viminalis* قد ازداد مع زيادة تركيز الكاديوم وكان ذلك واضحاً في خلايا البشرة العليا والسفلى، كذلك إن كثافة التانين ازدادت سيما في الصفحة الوسطى للجدار، وأشار (Gowayed and Almagharbi (2013) الى ان معاملة نبات الذرة الصفراء *Zea mays L.* بالنحاس و الكاديوم أدت الى تقليل سمك البشرة العليا والسفلى والخلايا البارنكيميية والسكرنكيميية والحزم الوعائية في الاوراق وتقليل عرض الحزم الوعائية وقطر اوعية الخشب واللحاء وتقليل المسافة بين الحزم الوعائية الكبيرة والصغيرة.

تعد شجرة نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* من الاشجار الاقتصادية المهمة والتي تنتشر زراعتها في العراق سيما محافظة البصرة، وأشار (Abass et al., 2015) الى ارتفاع مستويات التلوث بالمعادن الثقيلة خاصة الرصاص والكاديوم في الترب الزراعية في محافظة البصرة وامكانية استعمال نخيل التمر كمؤشر حيوي على التلوث بالمعادن الثقيلة.

ان الهدف من هذه الدراسة هو بيان تأثير المعادن الثقيلة (الرصاص والكاديوم) المضاف الى التربة عن طريق السقي في بعض الصفات التشريحية لأوراق نخيل التمر.

2. المواد وطرائق العمل

اجريت هذه التجربة في مركز ابحاث النخيل / جامعة البصرة/ العراق، للفترة من 2016/1/1 الى 2016/7/1 اذ اختيرت خمسة عشر فسيلة من نخيل التمر صنف البرحي مكنة نسيجيا بعمر سنتين متجانسة قدر الامكان مزروعة في سنادين ذات سعة 15كغم، وكانت التربة ذات نسجه طمية (Loamy Soil 45.65 غرين و 32.44 رمل و 21.91 طين) درجة حموضتها 7.62 والتوصيل الكهربائي 5.23 (ds/m) والسعة التبادلية الكاتيونية 9 (cmole) والمادة العضوية 0.81%. وضعت الفسائل في غرفة النمو (درجة حرارة 27 ± 2°C وشدة اضاءة 10000 لوكس ورطوبة نسبية 60-70%).

اضيف المعادن الثقيلة (الكاديوم والرصاص) الى التربة عن طريق السقي باستخدام تركيزين لكل من الكاديوم 3 و 9 ملغم/كغم والرصاص 100 و 276 ملغم، وقد حددت هذه التراكيز بناءً على دراسة سابقة اجريت في محافظة البصرة واختير اعلى واقل تركيز للعنصرين قيد الدراسة (Al-Jabary et al., 2016). واستخدم كلوريد الكاديوم وخلات الرصاص (Sigma Al-drich) كمصدر للعنصرين، اضافة الى معاملة المقارنة التي كانت تسقى بالماء فقط، وكانت درجة حموضته 7.6 و التوصيلية الكهربائية 1.3 (ds/m) وتركيز

الكالسيوم 5.9 جزء بالمليون و المنغنيز 15.8 جزء بالمليون و الصوديوم 19 جزء بالمليون والكلور 15 جزء بالمليون والبوتاسيوم 1.9 جزء بالمليون. جمعت العينات متمثلة بالأوراق بعد ستة اشهر من بداية التجربة لأجراء الدراسات التشريحية عليها.

1-2: الصفات التشريحية لأوراق نخيل التمر

اختيرت ثلاث وريقات (خوص) من وسط السعفلسائل النخيل واعتمدت طريقة (1971) Willey في تحضير المقاطع التشريحية، وضعت العينات في محلول التثبيت Formalin Acetic Acid (F.A.A.) ويحضر 100 مل من هذا المحلول بإضافة 5 مل فورمالين و 5 مل حامض الخليك الثلجي الى 90 مل من الكحول الايثيلي بتركيز 70% لمدة 24 ساعة، غسلت بعدها بالكحول الايثيلي (70%) للتخلص من اثار المحلول المثبت. وضعت بعد ذلك في تراكيز من الحول الايثيلي متصاعدة (70 و 80 و 90 و 95%) لمدة ساعة واحدة في كل تركيز ثم في كحول مطلق لمدة ليلة كاملة ، نقلت بعدها العينات الى خليط من الكحول المطلق والزايلين بنسب (3:1) و (1:1) و (1:3) (كحول:زايلين) والزايلين النقي لمدة نصف ساعة لكل محلول، لتنتقل بعدها الى خليط مكون من (زايلين: شمع البارافين) (حجم: حجم) وتركت لمدة اربع ساعات في فرن على درجة حرارة 60 °م، ثم تركت في شمع البارافين لمدة ليلة كاملة في درجة الحرارة نفسها، صب بارافين نقي في درجة الحرارة نفسها في قوالب بلاستيكية ووضعت فيها العينات بعد ان تم تعليمها وبردت بالماء الجاري ثم تركت 24 ساعة لتصبح جاهزة للتقطيع.

أجريت عملية التقطيع باستخدام جهاز التقطيع الدقيق (Microtome) نوع MSE بسمك 10-15 مايكرومتر للشريحة الواحدة ووضعت في حمام مائي على درجة حرارة من 50-60 °م، ووضعت على الشرائح الزجاجية (السلايدات) بعد وضع قطرات من محلول مايبر المحضر من زلال البيض والكليسيرين بنسبة (1:1) ثم نقلت الى الفرن بدرجة حرارة 50-60 °م لمدة نصف ساعة. ثم نقلت الشرائح الى مخبر كوبلن Coplin Jar المحتوي على الزايلين المطلق لمدة ساعة وكررت العملية ثلاث مرات، ثم نقلت الى مخبر كوبلن المحتوي على تراكيز من الكحول الايثيلي (100 و 95 و 90 و 80 و 70 و 50) من التركيز الاعلى الى الاقل ولمدة 15 دقيقة لكل تركيز. حضرت صبغة السفرانين بإذابة 1 غم منها في 100 مل من 70% كحول ايثيلي، ثم نقلت الشرائح الى مخبر كوبلن المملوء بصبغة السفرانين وتركت لمدة 30-60 دقيقة، وضعت الشرائح في كحول ايثيلي 50% لإزالة الصبغة الزائدة ، وضعت الشرائح بعدها في صبغة Fast Green (المحضرة بإذابة 1 غم من الصبغة في 100 مل كحول ايثيلي مطلق) لمدة 15 ثانية وغسلت بعدها بالكحول المطلق. مررت الشرائح بالزايلين ثلاث

مرات ولمدة خمس دقائق في كل مرة وتركت لتجف مدة خمس دقائق . لتجرى عملية التحميل بإضافة قطرة من مادة DPX (Distrene Plasticize Xylene) على الشريحة ثم وضع غطاء الشريحة برفق ووضع على صفيحة ساخنة لعدة ساعات لتصبح الشرائح جاهزة للفحص المجهرى.

وقد تم فحص وقياس الصفات الآتية:

- 1- قياس حجم الحزم الوعائية (ارتفاع وعرض) والعناصر الناقلة (الخشب واللحاء) (مايكروميتر).
- 2- سمك البشرة وطبقة الكيوتكل (مايكروميتر).
- 3- سمك النسيج المتوسط والخلايا البارنكيميية (مايكروميتر).
- 4- انتشار التانين . وحدد انتشار التانين في خلايا النسيج النباتي وفقا لكثافته في الخلايا الى قليل ومتوسط وكثيف الانتشار.

استخدم مجهر نوع Olympus ياباني المنشأ مزود بكاميرا في فحص المقاطع التشريحية ،

2.2: التحليل الاحصائي

حللت البيانات احصائيا وفقاً لتحليل التباين الاحادي One Way ANOVA باستخدام برنامج التحليل الاحصائي SPSS (V.22) ، وقورنت المتوسطات احصائيا من اجل اختبار المعنوية باستخدام اقل فرق معنوي LSD على مستوى احتمالية 5%.

3. النتائج والمناقشة

3.1: حجم الحزم الوعائية والخشب واللحاء

اوضحت النتائج في جدول (1) تأثير المعاملة بالكاديوم والرصاص في صفات الحزم الوعائية لأوراق نخيل التمر صنف البرحي، اذ لوحظ ان المعاملة بالتراكيز العالية من الكاديوم (9 ملغم/كغم) والرصاص (276 ملغم/كغم) ادت الى تقليل ارتفاع الحزم الوعائية بالمقارنة مع معاملة المقارنة ومعاملي التركيز المنخفض من الكاديوم (3 ملغم/كغم) والرصاص (100 ملغم/كغم)، اذ بلغ ارتفاع الحزمة الوعائية في معاملة التركيز العالي من الكاديوم 230.33 مايكروميتر (لوحة 1، صورة ج)، وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز العالي من الرصاص والتي بلغت 235.33 مايكروميتر (لوحة 1، صورة هـ)، بينما وجد ان اعلى ارتفاع للحزم الوعائية كان في معاملة المقارنة وبلغ 300 مايكروميتر (لوحة 1، صورة أ)، وبفارق غير معنوي عن معاملي التركيز المنخفض من الكاديوم والرصاص. اما عن عرض الحزمة الوعائية فوجد ان التركيز العالي من الكاديوم كان الاكثر تأثيراً، اذ بلغ عرض الحزمة الوعائية فيها 150.33 مايكروميتر وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز

العالي من الرصاص التي بلغ عرض الحزمة الوعائية فيها 154.33 مايكروميتر، التي لم تختلف عن معاملة التركيز المنخفض من المعدن نفسه وبلغ عرض الحزمة الوعائية فيها 160 مايكروميتر. و بينت النتائج ايضا للجدول نفسه ان اعلى عرض للحزم الوعائية سجل في معاملة المقارنة اذ بلغ 164 مايكروميتر وبفارق غير معنوي عن معاملتي التركيز المنخفض من الكاديوم والرصاص.

كما بينت نتائج جدول (1) ان اعلى سمك للحاء سجل في معاملة المقارنة وبفارق غير معنوي عن معاملتي التركيز المنخفض لكلا العنصرين، اذ بلغ 56 مايكروميتر، بينما سجل اقل سمك للحاء في معاملة التركيز العالي من الكاديوم اذ بلغ 42 مايكروميتر وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز العالي من الرصاص والذي بلغ 43.66 مايكروميتر.

اما بالنسبة لسمك الخشب فقد بينت النتائج ان اعلى سمك للخشب ظهر في معاملة المقارنة، اذ بلغ 148.33 مايكروميتر وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، في حين سجل اقل سمك للخشب في معاملة التركيز العالي من الكاديوم، اذ بلغ 103.66 مايكروميتر وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، ولوحظ ان معاملتي التركيز المنخفض من المعدنين لم تختلفا معنويا فيما بينهما وان معاملة التركيز المنخفض من الرصاص لم تختلف معنوياً عن معاملة التركيز العالي من الرصاص والتي بلغ سمك الخشب فيها 127 مايكروميتر.

ولوحظ من خلال الفحص المجهرى ان عدد الحزم الوعائية في كل المعاملات كان ثابتا وان نمط توزيع الحزم تمثل بحزمة وعائية متوسطة تتوسط حزمتين كبيرتين ، وثلاث حزم وعائية صغيرة على كل جانب من الحزمة الوعائية المتوسطة. لقد اثبتت الدراسات السابقة التغيرات التشريحية المتسببة عن المعادن الثقيلة في حجم الحزم الوعائية في اوراق بعض النباتات، مثل نبات الحنطة (*Triticum aestivum*) (Kovaceviet al., 1999) والنوعين *crispus* Potamogeton و *perfoliatus* P. (Al-Saadiet al ., 2013) ، ونبات *Thalassia hemprichii* (Tupan and Azrainingsih , 2016)، ولم تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسات المذكورة أعلاه في تأثير المعادن الثقيلة في عدد الحزم الوعائية، الا انها اتفقت معها في خفض حجم الحزم الوعائية . ان سمية المعادن الثقيلة وتأثيرها يعتمد على عدة عوامل منها نوع المعدن الثقيلة وتركيزه و نوع النبات ومدة التعرض (Nagajyotiet al., 2010) ، وهذا قد يفسر اختلاف النباتات في استجابتها لتأثيرات المعادن الثقيلة وتباين نتائج الدراسات ، وقد يعزى تأثير المعادن الثقيلة في تقليل حجم الحزم الوعائية الى تأثيرها في خفض عدد وسمك العناصر الناقلة (الخشب والحاء) المكونة لهذه الحزم وخاصة الخشب ، اذ يعد نوع من التكيف من قبل النبات لمواجهة التراكيز العالية من المعادن الثقيلة والمحافظة على تدفق الماء (Sandalioet

(al., 2001) ، او الى تدهور العناصر الناقلة سيما الانابيب المنخلية Sieve tubes في اللحاء
(Vollenweideret al., 2006).

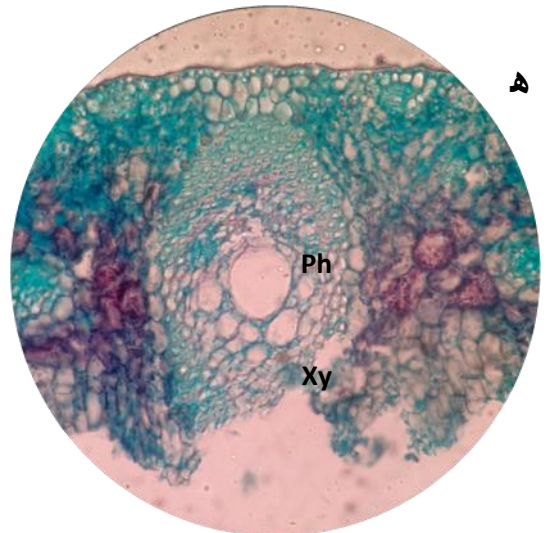
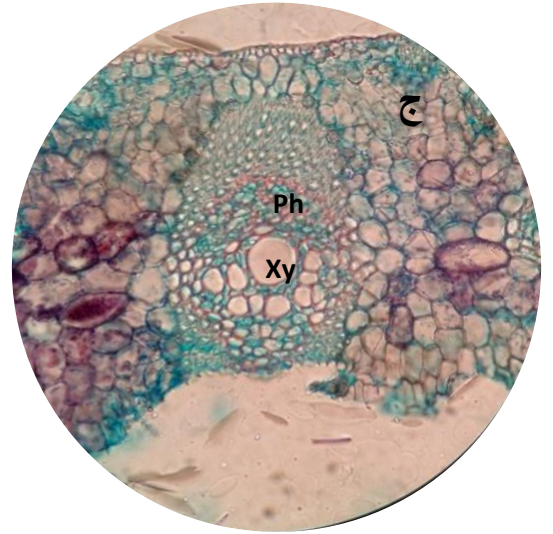
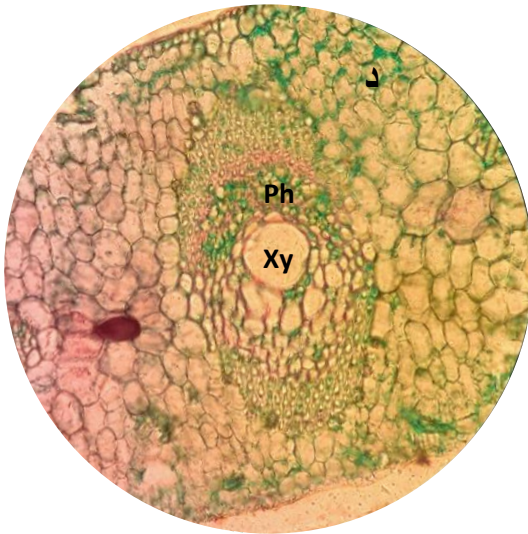
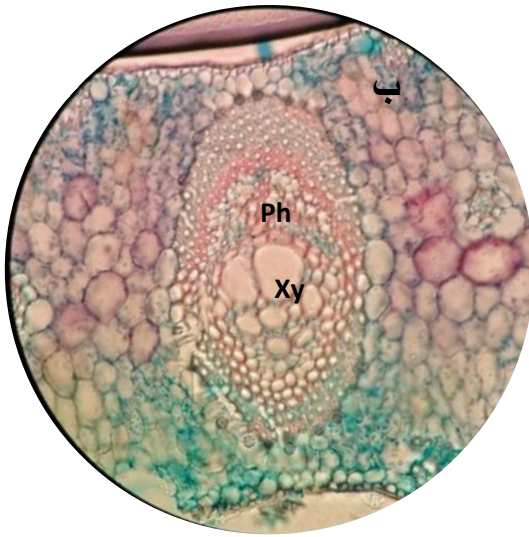
جدول (1) تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في صفات الحزم الوعائية الكبيرة لأوراق فسانل نخيل

التمر صنف البرحي .

المعاملة	ارتفاع الحزمة الوعائية (μ)	عرض الحزمة الوعائية (μ)	سمك اللحاء (μ)	سمك الخشب (μ)
معاملة المقارنة	5.00± 300.00*	4.58± 164.00	3.00± 56.00	3.51± 148.33
كادميوم (3 ملغم/كغم)	7.63± 296.66	3.60± 159.00	2.00± 53.00	4.04± 136.33
كادميوم (9ملغم/كغم)	5.03± 230.33	1.52± 150.33	2.64± 42.00	2.51± 103.66
رصاص (100ملغم/ كغم)	4.04± 291.66	2.00± 160.00	2.08± 51.33	2.51± 132.66
رصاص (276ملغم/ كغم)	4.50± 235.33	6.42± 154.33	1.52± 43.66	2.00± 127.00
LSD	12.23	6.15	5.65	8.40

* تمثل الأرقام في الجدول معدل ثلاث قراءات لكل معاملة ± الانحراف المعياري.

مستوى المعنوية (<0.05).



لوحة (1) تأثير المعاملة بتركيز مختلف من الكاديوم و
الرصاص في حجم الحزم الوعائية لأوراق نخيل التمر صنف
البرحي (X40)

100 μ m

Xy=خشب

Ph=لحاء

أ: معاملة المقارنة

ب: كاديوم (3 ملغم/كغم)

ج: كاديوم (9 ملغم/كغم)

د: رصاص (100 ملغم/كغم)

هـ: رصاص (276 ملغم/كغم)

3. 2: سمك طبقة الكيوتكل والبشرة

بينت نتائج جدول (2) تأثير المعاملة بالكاديوم و الرصاص في سمك البشرة العليا والسفلى وطبقة الكيوتكل، ولوحظ عدم وجود فروق معنوية بين جميع المعاملات في تأثير هافي سمك البشرة العليا و السفلى وطبقة الكيوتكل في كلا البشريتين. وبينت الصور من (لوحة 2، صورة أ-هـ) طبقة البشرة السفلى وطبقة الكيوتكل في معاملات الدراسة.

تلعب البشرة (سيما العليا) دورا مهما في عزل المعادن الثقيلة بعيدا عن خلايا النسيج المتوسط المهمة في عمليات البناء الضوئي (Gomes et al, 2011)، وعلى يعزى السبب في زيادة في سمك البشريتين العليا والسفلى في اوراق النبات عند تعرضه للإجهاد المعادن الثقيلة قد عزت ذلك الى تجمع المعادن الثقيلة في جدران خلايا البشرة كجزء من اليات النبات لتخفيف اضرار المعادن الثقيلة (Vollenweider et al., 2006)، وقد لا تتفق مع العديد من الدراسات الاخرى اثبتت ان تعرض النبات لإجهاد المعادن الثقيلة يؤدي الى تقليل سمك البشرة في الاوراق (Al-Saadi et al., 2013; Lukovic et al., 2012; Qaisar et al., 2005).

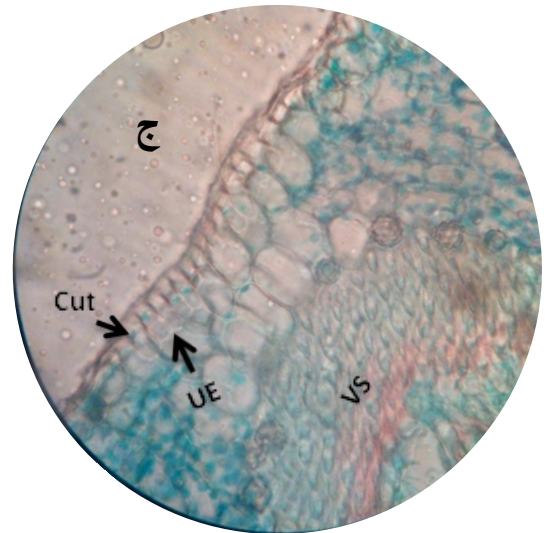
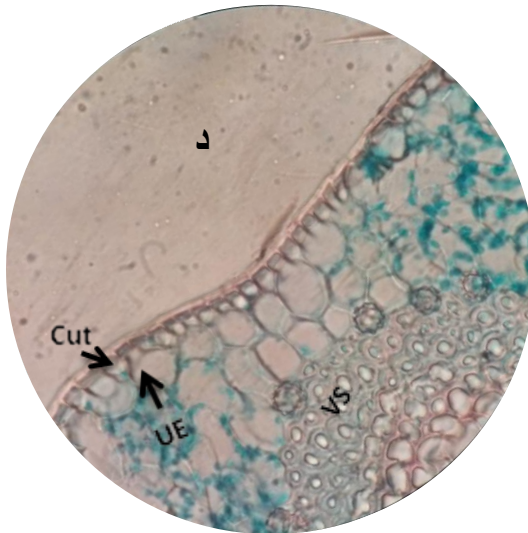
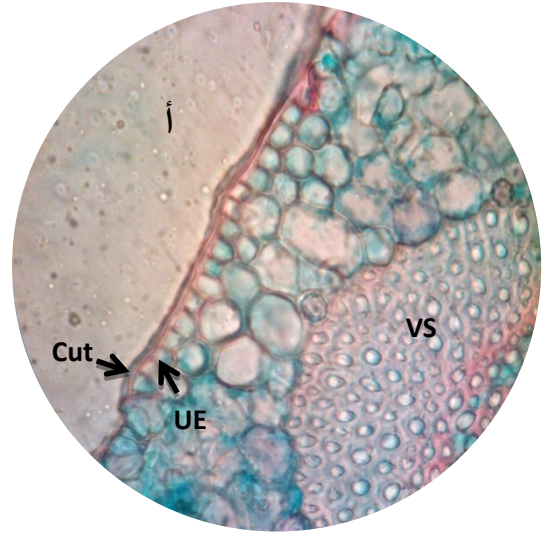
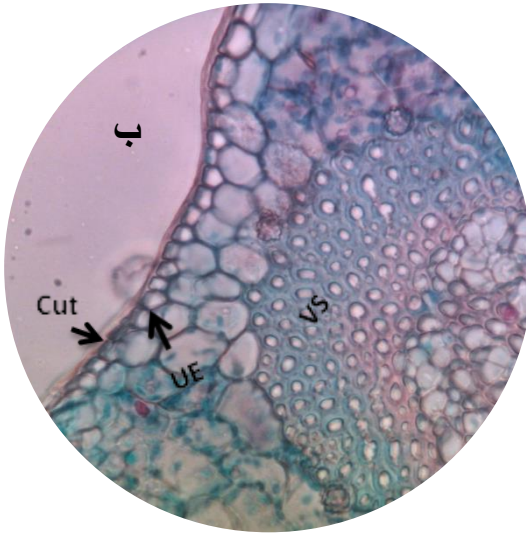
جدول (2) تأثير المعاملة بالكاديوم والرصاص في سمك البشرة وطبقة الكيوتكل لأوراق فسانل نخيل

التمر صنف البرحي .

المعاملة	البشرة السفلى (μ)	كيوتكل البشرة السفلى (μ)	البشرة العليا (μ)	كيوتكل البشرة العليا (μ)
معاملة المقارنة	2.50 ± 10.00*	0.72 ± 3.33	1.25 ± 8.75	0.43 ± 3.50
كاديوم (3 ملغم/كغم)	1.90 ± 9.58	0.72 ± 2.91	1.25 ± 7.50	1.5 ± 2.33
كاديوم (9 ملغم/كغم)	1.90 ± 8.33	0.72 ± 2.91	0.14 ± 7.91	0.14 ± 2.66
رصاص (100 ملغم/كغم)	1.90 ± 10.41	0.72 ± 2.91	1.25 ± 7.08	0.72 ± 2.33
رصاص (276 ملغم/كغم)	1.90 ± 9.58	0.00 ± 2.5	1.25 ± 7.50	0.72 ± 2.91

* تمثل الارقام في الجدول معدل ثلاث قراءات لكل معاملة ± الانحراف المعياري.

مستوى المعنوية (<0.05)



لوحة (2) تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم و الرصاص في خلايا البشرة وطبقة الكيوتكل في اوراق نخيل التمر صنف البرحي (X 100).

VS=غمد الحزمة

UE=البشرة سفلى

Cut=طبقة الكيوتكل

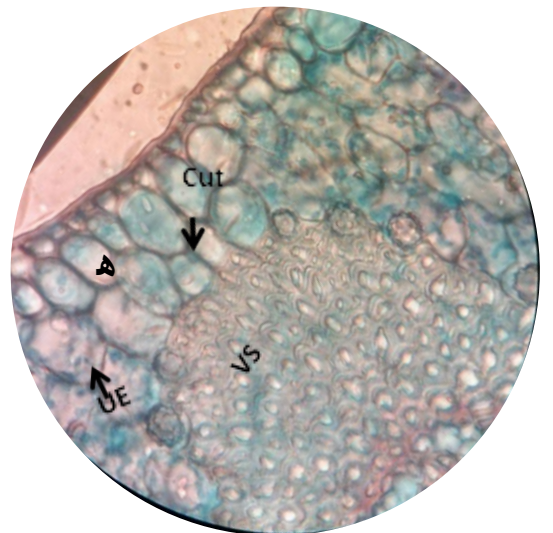
أ: معاملة المقارنة

ب: كاديوم (3 ملغم/كغم)

ج: كاديوم (9 ملغم/كغم)

د: رصاص (100 ملغم/كغم)

هـ: رصاص (276 ملغم/كغم)



3.3: النسيج المتوسط Mesophyll والخلايا البارنكيميّة

اشارت نتائج جدول (3) الى تأثير المعاملة بالكاديوم و الرصاص في سمك النسيج المتوسط لأوراق فسانل نخيل التمر صنف البرحي، اذ لوحظ ان جميع المعاملات قد ادت الى اختزال سمك النسيج المتوسط وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة التي سجلت عيناتها على معدل لسمك النسيج المتوسط اذ بلغ 351.66 مايكروميتر. و بينت النتائج ايضا ان المعاملة بالتركيز العالي من الكاديوم (9 ملغم/كغم) و الرصاص (276 ملغم/كغم) قد تفوقت معنويا في تقليل سمك النسيج المتوسط على معاملتي التركيز المنخفض لكلا المعدنين، اذ بلغ سمك النسيج المتوسط في معاملة التركيز العالي من الرصاص 251.66 مايكروميتر و 261.66 مايكروميتر لمعاملة التركيز العالي من الكاديوم، في حين لم تختلف معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم (3 ملغم/كغم) معنويا عن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص (100 ملغم/كغم)، اذ بلغت 313.33 و 328 مايكروميتر للكاديوم والرصاص، على التوالي.

اما عن تأثير الكاديوم والرصاص في حجم الخلايا البارنكيميّة، فأوضحت النتائج ان اعلى ارتفاع للخلايا البارنكيميّة سجل في معاملة المقارنة وبلغ 45.41 مايكروميتر وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم والتي لم تختلف معنويا عن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص، بينما سجل اقل ارتفاع للخلايا في معاملة الرصاص بالتركيز العالي والذي بلغ 32.91 مايكروميتر وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز العالي من الكاديوم والذي بلغ 34.33 مايكروميتر.

اما عن صفة عرض الخلايا البارنكيميّة فان نتائج الجدول نفسه اوضحت ان اعلى عرض للخلايا سجل في معاملة المقارنة اذ بلغ 38.5 مايكروميتر وبفارق معنوي عن بقية المعاملات، وان اقل عرض لها سجل في عينات المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص، اذ بلغ 22.91 مايكروميتر وبفارق معنوي عن بقية المعاملات، كذلك تبين ان المعاملة بالتركيز العالي من الكاديوم تفوقت على المعاملة بالتركيز المنخفض من المعدن نفسه والرصاص اذ بلغ عرض الخلايا فيها 27.16 مايكروميتر، ولم تلاحظ اي فروق معنوية بين معاملتي التركيز المنخفض من الكاديوم والرصاص، الصورة (لوحة 3، صورة أ-ه).

ان تعرض النبات لإجهاد المعادن الثقيلة يؤدي الى اختزال حجم الخلايا البارنكيميّة في النسيج المتوسط او حتى انهيارها في التراكيز العالية (Sridhar et al., 2005)، و التأثير في انقسام الخلايا (Stevovic et al., 2013)، فضلا عن ذلك فان للتراكيز العالية من الكاديوم والرصاص يؤدي الى اختزال سمك النسيج المتوسط

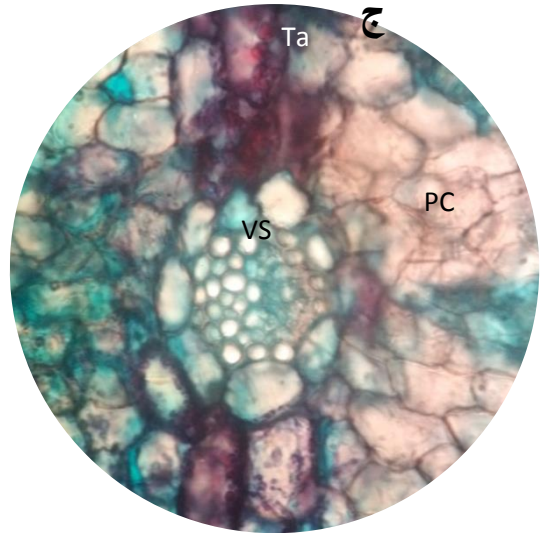
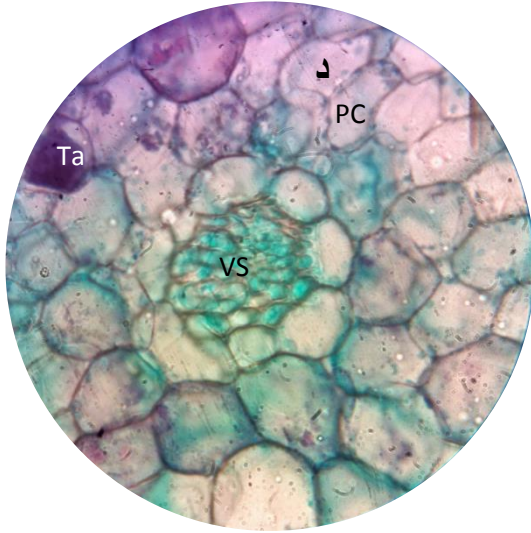
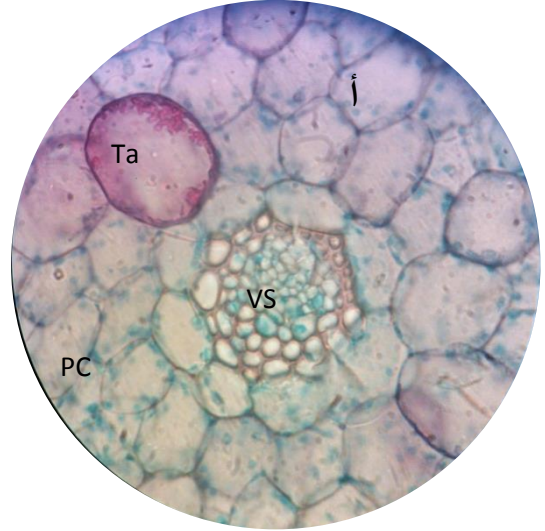
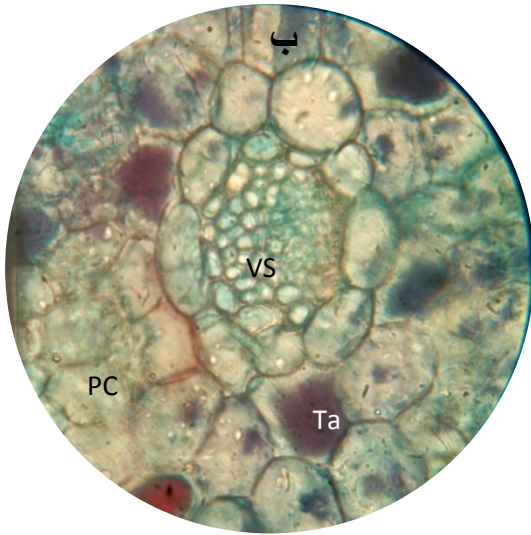
في اوراق النباتات (Kovacevic *et al.*, 1999)، وقد يعود ذلكالى اختزال حجم خلايا النسيج المتوسط فضلاً عن اختزال حجم الفجوات الهوائية (Tran and Popova, 2013). وقد اتفقت النتائج الحالية مع نتائج العديد من الدراسات في تأثير المعادن الثقيلة ومنها الكاديوم والرصاص في اختزال حجم الخلايا البارنكيميا والنسيج المتوسط منها (Al-Saadi *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2015; Tupan and Azrainingisih, 2016).

جدول (3) تأثير المعاملة بالكاديوم والرصاص في سمك النسيج المتوسط وحجم الخلايا البارنكيميا .

عرض الخلايا البارنكيميا (μ)	ارتفاع الخلايا البارنكيميا (μ)	سمك النسيج المتوسط (μ)	المعاملة
1.32± 38.50	1.99± 45.41	12.58± 351.66*	معاملة المقارنة
1.66± 33.91	1.52± 42.83	7.63± 313.33	كاديوم (3 ملغم/كغم)
3.01± 27.16	2.84± 34.33	20.20± 261.66	كاديوم (9 ملغم/كغم)
1.25± 31.33	3.30± 38.75	23.60± 328.33	رصاص (100 ملغم/كغم)
2.67± 22.91	1.90± 32.91	20.20± 251.66	رصاص (276 ملغم/كغم)
3.77	4.37	20.18	LSD

* تمثل الارقام في الجدول معدل ثلاث قراءات لكل معاملة $\pm$ الانحراف المعياري.

مستوى المعنوية (<0.05)



لوحة (3) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم و الرصاص في خلايا النسيج المتوسط التي تحيط بالحزم الوعائية الصغيرة في اوراق نخيل التمر صنف البرحي (40 X).

VS = حزمة وعائية

Ta = تانين

PC = خلايا بارنكيميية

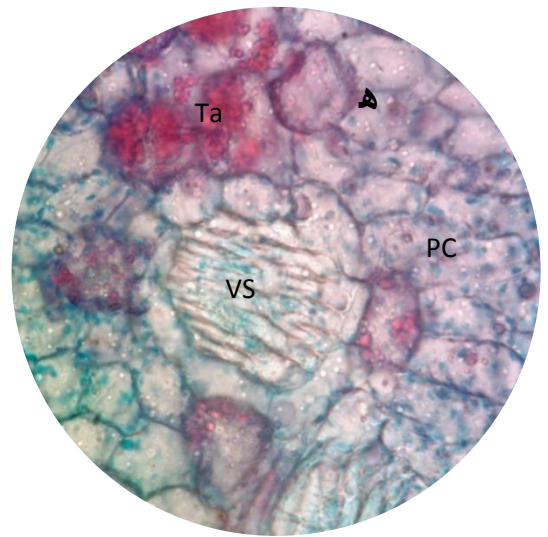
أ: معاملة المقارنة

ب: كاديوم (3 ملغم/كغم)

ج: كاديوم (9 ملغم/كغم)

د: رصاص (100 ملغم/كغم)

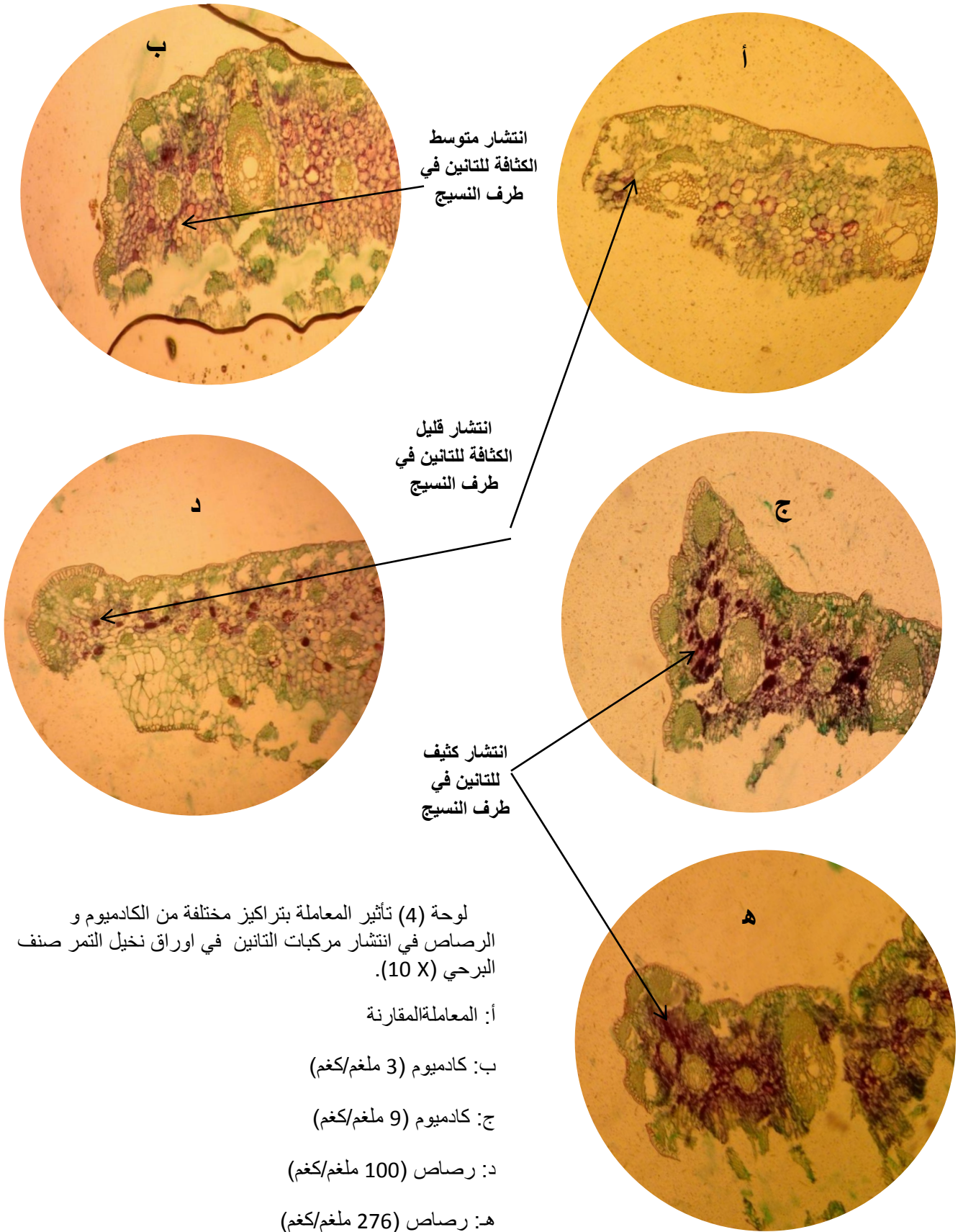
هـ: رصاص (276 ملغم/كغم)



4.3: انتشار التانين

اوضحت الصور (لوحة 4، صورة أ-هـ) انتشار مركبات التانين في خلايا انسجة اوراق نخيل التمر صنف البرحي المعاملة بالكادميوم والرصاص فضلا عن معاملة المقارنة، بينت مقاطع التشريح النسيجي انتشار التانين الكثيف في المعاملة بالتركيز العالي من الكادميوم (9 ملغم/كغم) (لوحة 4، صورة ج)، و المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص (276 ملغم/كغم) (لوحة 4، صورة هـ)، ولوحظ ان مركبات التانين قد تركزت في طرف النسيج وبشكل كبير حول الحزم الوعائية الكبيرة و الصغيرة، كما لوحظ ان انتشار التانين كان اقل كثافة وبشكل واضح في معاملتي التركيز المنخفض من الرصاص (100 ملغم/كغم) و معاملة المقارنة، في حين كان انتشار التانين اقل كثافة في معاملة التركيز المنخفض من الكادميوم (لوحة 4، صورة ب) عند المقارنة بانتشار التانين نسبيا في معاملة المقارنة (لوحة 4، صورة أ). تتواجد مركبات التانين بشكل طبيعي في الانسجة النباتية بكميات قليلة ويزداد انتاج النبات لهذه المركبات عند تعرضه الى الاجهاد التأكسدي Oxidative Stress والذي قد تسببه زيادة تراكيز المعادن الثقيلة (Dalcorsot *et al.*, 2013; Abasset *et al.*, 2016)، وينتج النبات المركبات الفينولية ومنها التانينات كآلية دفاعية غير انزيمية لتخفيف الاثار الضارة او السامة للجذور الحرة Free Radicals وانواع الاوكسجين الفعالة (ROS) التي تتكون بفعل المعادن الثقيلة (Mickalak, 2006)، وتتميز هذه المركبات بقابليتها على الارتباط بالمعادن الثقيلة وتقليل سميتها، فقد اشار McDonald *et al.* (1996) الى احتمالية مشاركة التانين في تقليل سمية الكادميوم من خلال الارتباط معه وترسيبه في مواقع معينة من النسيج . ووجد Vollenweider *et al.* (2006) ان هنالك زيادة متوازية بين مركبات التانين وزيادة تركيز الكادميوم في اوراق نبات *Salix viminalis* L.، كذلك اشار الى ان مركبات التانين اتجهت الى التجمع في حواف الاوراق وتركزت في جدران الخلايا وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية. وبين Appenroth (2010) ان بعض المعادن الثقيلة تكون سامة عندما تتجاوز تركيزا معيناً، وهذا ما قد يفسر تفوق الكادميوم والرصاص بالتراكيز العالية في تأثيراتها على التراكيز المنخفضة من كلا العنصرين.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان تلوث التربة بالكادميوم والرصاص ادى الى حدوث تغيرات تشريحية في اوراق اشجار نخيل التمر سيما التراكيز العالية منها ، والتي قد تكون جزءاً من الاليات الدفاعية للنبات لتخفيف سمية هذه المعادن ، او الى تأثيرها في رفع مستويات انواع الاوكسجين الفعالة ROS ذات التأثيرات السامة على الخلايا النباتية .



المصادر

- Abass, M.H.; J.D. Neama; K.M.A. Al-Jabary, 2016, Biochemical responses to cadmium and lead stress in date palm *Phoenix dactylifera* L. plant. AAB Bioflux 8(3):92-110.
- Abass, M. H.; Z.K. Hassan; K. M. A. Al-Jabary, 2015, Assessment of heavy metals pollution in soil and date palm (*Phoenix dactylifera* L.) leaves sampled from Basra/Iraq Governorate. AES Bioflux 7(1):52-59.
- Al-Jabary, K.M.A.; J.D. Neama; M.H. Abass, 2016, Seasonal variation of heavy metals pollution in soil and date palm *Phoenix dactylifera* L. leaves at Basra governorate/Iraq. IJSRES. 4(6): 186-192.
- Al-Saadi, S. A. A. M.; W. M. Al-Asaadi; A. N. H. Al-Waheeb, 2013, The effect of some heavy metals accumulation on physiological and anatomical characteristic of some *Potamogeton* L. plant. J. Eco. Environ. Sci. 4(1):100-108.
- Appenroth, K.J., 2010, The definition of heavy metals and their role in biological systems. **In:** Soil heavy metals. Edited by Sherameti I., 1st ed., Springer, Berlin, pp. 19-29.
- Dalcorso, G.; A. Manara.; A. Furini, 2013, An overview of heavy metals challenge in plants: from root to shoot. Metallomics, 5(9):1117-1132.
- Djingova, R.; I. Kuleff, 2000, Instrumental techniques for trace analysis. **In:** Trace elements: Their distribution and effects in the environment. Edited by Vernet, J.P., Elsevier Science Ltd., United Kingdom, pp. 146.
- Gomes, M.P.; T.C. Marques; M.O. Nogueira; E.M. Castro; A.M. Soares, 2011, Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. Sci. Agric., 68(5):566-573.

- Gostin, I.,2010, Structural change in silver fir needles in response to air pollution. Analel Univ. Oradea, fascicula. Boil. 17(2):300-305.
- Gowayed, S.M.H.; O.A. Almaghrabi,2013, Effect of copper and cadmium on germination and anatomical structure of leaf and root in Maize *Zea mays* L. Aust. J. Basic & Appl. Sci., 7(1):548-555.
- Kaewsarn, P.; Q. Yu,2001, Cadmium (II) removal from aqueous solution by pretreated biomass of marine padding spp. J. Environ.Poll., 112:209–213.
- Kovacevic, G.; R. Kastori; I.J. Merkulov, 1999, Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead and nickel. Biol. Plant., 42: 119-123.
- Lukovic, J.; L.J. Merkulov; S. Pajevic; L. Zoric; N. Nikolic; M. Boresiv,2012, Quantitative assessment of effect of cadmium on the histological structure of Poplar and Willow leaves. Water Air Soil Pollut., 223:2979-2993.
- McDonald, M.; I. Mile; A. Scalbert,1996, Precipitation of metal ions by plant polyphenols:optimal condition and origin of precipitation. J.Agric. Food Chem., 44:599-606.
- McGrath, S.P.; F.J. Zhao; E. Lombi, 2001, Plant and rhizosphere process involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. Plant and Soil., 232: 207-214.
- Michalak, A., 2006, Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Pol. J. Environ. Stud., 15(4):523–530.
- Nagajyoti, P.C. ; K.D. Lee ; T.V.M. Sreekanth , 2010, Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. Environ. Chem. Lett. 8:199-216.
- Noriega G.O.; K.B. Balestrasse; A. Battle; M.L. Tomaro, 2007, Cadmium induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of α -aminolevulinic acid. Biometals, 20:841-851

- Qaisar, M.; Z.Ping; S.M. Rehan; I.Ejaz; A.M. Rashid; H.Yousaf,2005, Anatomical studies on water hyacinth (*Eichhorniacrassipes* (Mart.) Solms) under the influence of textile wastewater. J. Zhejiang Univ. Sci., 6:991–998.
- Rai, V.; P. Vajpayee; S.N.Singh; S.Mehrotra,2004,Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, proline level and eugenol content of *Ocimumtenuiflorum* L. Plant Sci., 167:1159-1169.
- Rascio, N.; F. Navari-Izzo,2011, Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting?.Plant Sci. 180:169-181.
- Sandalio, L. M.; H. C. Dalurzo; M. Gomez; M.C. Romero-Puertas; A.del Rio,2001,Cadmium induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. Exp. Bot., 52:2115-2126.
- Singh, S.; P.K. Srivastava; D. Kumar; D.K.Tripathi; D.K. Chauhan; S.M. Prasad, 2015,Morpho-anatomical and biochemical adapting strategies of maize (*Zea mays* L.) seedlings against lead and chromium stresses. Biocatal. Agric. Biotechnol., 4(3): 286-295.
- Sridhar, B.B.M.; S.V. Diehl; F.X. Han; D.L. Monts; Y. Su, 2005, Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). Environ. Exp. Bot., 54:131-141.
- Stevovic, S.;N. Devrnja; D.Calic-Dragosavac,2013, Environmental impact quantification and correlation between site location and contents and structure of Tansy. Afr. J. Biotechnol., 10(26): 5075-5083.

- Suciu, I.; C. Cosma; M. Todica; S.D. Bolboaca; L. Jantschi, 2008, Analysis of soil heavy metals pollution and pattern in central Transvania, int. J. Mol. Sci., 9: 434-453.
- Tran, T.A.; L.P. Popova, 2013, Functions and toxicity of cadmium in plant: recent advances and future prospects. Turk. J. Bot., 37:1-13.
- Tupan, I.C.; R. Azrianingsih, 2016, Accumulation and deposition of lead heavy metal in the tissues of roots, rhizomes and leaves of seagrass *Thalassia hemprichii* (Monocotyledoneae, Hydrocharitaceae). AACL Bioflux 9(3):580-589.
- Vollenweider, P.; C. Cosio; M. S. Gunthardt-Goerg; C. Keller, 2006, Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L) Part II Microlocalization and cellular effects of cadmium. Environ. Exp. Bot. 58: 25–40
- Willey, R.L., 1971, Microtechnique: A laboratory guide. McMillan Pub.Co. New York.

The effect of Cadmium and Lead treatments of some anatomical characteristics of Date palm *Phoenix dactylifera* L.cv. Barhi leaves.

Jabbar D.Naema¹ Mohammed H. Abass² Khearallah M.A. Al-Jabary²

¹Biology Department-College of Science –Batra University-Iraq.

² date palm research Centre –Batra University –Iraq.

Abstract

Heavy metals pollution of agricultural soils is considered one of a serious problem around the world; and the affected plants by such soils responded in different ways as a consequence of this exposure to heavy metals.

Present study has been performed to elucidate the effect of Cadmium (Cd) and Lead (Pb) treatments at different concentrations on date palm, Barhi cultivar; and their responses on anatomical levels. Results showed that the highest concentration of Cd (9 mg/kg) and Pb (276 mg/kg) led to a significant reduction in the size of the vascular bundles and conducting elements (Xylem and Phloem), the thickness of mesophyll, as well as, the size of parenchyma cells. Anatomical section of treated date palm leaves with both heavy metals revealed a dense distribution of tannin in leaf tissues resulted by heavy metals treatments at high concentrations, with more Tannins abundance at the edges of examined tissues, Both Cd and Pb treatments had no significant on epidermal and cuticle layers of treated leaves. Its noteworthy, that Cd and Pb treatments at low concentrations (3 and 100 mg/kg) respectively, had no significant effect on most analysed parameters according to LSD analysis at ($P < 0.05$). here in, detained results proved that each of Cd and Pb at high concentrations induced significant change on anatomical levels of treated date palm

Keywords: Anatomy; Heavy metals; pollution; Vascular bundles