مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۸، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۴

شاپای چاپی: ۰۶۳۲ – ۲۷۱۷، شاپای الکترونیکی: ۹۸۰۴ - ۲۷۱۶

تاثیر آلودگی فلزات سنگین در کود آلی فسفاته گرانوله بر تکثیر سلولی و ریخت‌شناسی هستک در سلول‌های مریستمی ریشه‌ی بذر پیاز

نوع مقاله: پژوهشی 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8

زهرا زنده بودی*، فاطمه بهمن نژاد، مریم سوائی، فاطمه السادات معینی، نیلوفر احمدی

بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز

zahrazendehboody@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۱۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۲۶

صفحه ۱۲-۱

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تاثیر آلودگی‌های موجود در کود آلی فسفاته گرانوله بر میزان جوانه‌زنی، تکثیر سلولی و ریخت‌شناسی هستک در سلول‌های مریستمی ریشه بذر پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.) می‌باشد. برای انجام این کار، بذر پیاز در ظروف کشت سلول حاوی آب مقطر (کنترل) یا محلول حاوی کود در دو دوز ۰/۰۸۹ و ۰/۱۷۷ گرم به مدت ۷۲ ساعت کشت داده شدند. سپس شاخص میتوزی و فازی، فراوانی اختلالات میتوزی، مساحت هسته و هستک و تعداد هستک در سلول‌های مریستمی نوک ریشه مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین مقدار سرب، نیکل، کادمیوم و مس در محلول حاوی کود اندازه‌گیری شد که به ترتیب ۰/۴۵۱، ۰/۱۲۰، ۰/۰۴۰ و ۰/۰۰۲ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. به منظور بررسی تفاوت بین گروه‌های مورد مطالعه از نظر شاخص‌های ارزیابی شده، از آزمون کروسکال والیس و جانکهیر ترپسترا استفاده شد. مطابق با نتایج، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه مورد مطالعه از نظر شاخص‌های ذکر شده در بالا مشاهده نشد، اما میانگین درصد جوانه‌زنی و شاخص آنافازی با افزایش غلظت کود کاهش یافت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از این کود می‌تواند باعث کاهش میزان جوانه‌زنی بذر پیاز و شاخص آنافازی در فرایند تقسیم در سلول‌های مریستمی نوک ریشه این گیاه شود.

واژه‌های کلیدی: اختلالات میتوزی، شاخص میتوزی، کود، هستک

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

مقدمه

کود به هر ماده‌ای (طبیعی یا مصنوعی، جامد، مایع یا گاز) گفته می‌شود که سطح مواد مغذی موجود در گیاه را بهبود می‌بخشد و در نتیجه رشد، عملکرد و کیفیت گیاه را افزایش می‌دهد. کودها کشاورزان را قادر می‌سازند تا بهره‌وری خود را به حداکثر برسانند و نیازهای روزافزون به غذا را برآورده کنند. این مواد همچنین می‌توانند حاصلخیزی خاک را افزایش، احتباس آب را بهبود و فرسایش خاک را کاهش دهند. کودهای آلی از موجودات زنده مشتق می‌شوند (مانند کود دامی، فضولات کرم، کمپوست، عصاره جلبک دریایی و غیره) و مواد مغذی را پس از تجزیه میکروبی آزاد می‌کنند (Ahmadipour Sereshkeh and Mohammadi, 2024). کودهای غیر آلی به صورت مصنوعی توسط فرآیندهای شیمیایی و فیزیکی سنتز می‌شوند، یا از مواد غیر زنده مانند سنگ‌ها استخراج می‌شوند. این دسته از کودها ترکیبات ساده‌ای هستند که عمدتاً در آب محلولند و به راحتی توسط گیاهان جذب می‌شوند. این کودها از نظر مواد مغذی بسیار غنی هستند و به دلیل سادگی و ماهیت شیمیایی شناخته شده آنها، عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان را به راحتی می توان با ترکیبی از آنها تأمین کرد. کودهای غیر آلی به دلیل سادگی، دقت، سرعت و اثرات تکرارپذیرشان رایج‌تر هستند اما با این حال، این دسته از کودها فقط مواد مغذی را فراهم می‌کنند، بدون اینکه کیفیت فیزیکی خاک را بهبود بخشند. همچنین به دلیل سهولت انحلال، در معرض بیشترین آسیب به تبخیر و آبشویی قرار می‌گیرند و در صورت استفاده بیش از حد، می‌توانند به راحتی گیاهان را بسوزانند. علاوه بر این، فرآیند تبخیر، گازهای گلخانه‌ای زیادی را آزاد می‌کند، و آبشویی نیز منجر به آلودگی آب‌های زیرزمینی می‌شود. این ترکیبات گاهی به فلزات سنگین آلوده می‌باشند و استفاده طولانی مدت از آنها منجر به اسیدی شدن خاک، افزایش یونیزاسیون فلزات و آزاد شدن آنها در محیط آبی، افزایش انحلال کربنات‌های خاک و متعاقباً آزاد شدن گازهای گلخانه‌ای می‌شود. بنابراین استفاده صحیح از این ترکیبات ضروری است. در غیر این صورت، حدود ۴۰ تا ۷۰ درصد از کودهای شیمیایی اعمال شده از طریق روش‌های مختلف به محیط زیست منتقل شده، که منجر به اتروفیکاسیون و سمیت آب، آلودگی هوا، تخریب کیفیت خاک و تغییرات اکوسیستم می‌شود (Asadu *et al*., 2024). یکی از انواع کودهای غیر آلی، کودهای فسفاته هستند که منبع اصلی تولید اکثر آنها سنگ فسفات است. این سنگ‌ها حاوی فلزات سمی و رادیونوکلئیدهای مختلف هستند که در فرآیندهای تولید، به کودهای فسفاته و در نهایت به خاک منتقل می‌شوند. بسته به منبع سنگ، فلزات سنگین مضر مانند کادمیوم، آرسنیک، کروم، سرب، جیوه و رادیونوکلئیدهایی مانند اورانیوم، رادیوم و توریم ممکن است همراه با کود وارد خاک شوند که سپس توسط گیاهان جذب می‌شوند (Gupta *et al*., 2014). فلزات سنگین می‌توانند از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن، مهار فعالیت‌های آنزیمی و تضعیف سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی باعث سمیت شوند. یون‌های فلزات سنگین با دی‌ان‌ا و پروتئین‌های هسته‌ای تداخل ایجاد کرده که منجر به اختلالات ساختاری و عملکردی دی‌ان‌ا و همچنین تغییراتی می‌شوند که سرطان‌زایی، آپوپتوز و تغییر در چرخه سلولی را آغاز می‌کنند (Ohiagu *et al*., 2022). تاثیر این عناصر بر تعداد و مساحت هستک نیز مشاهده شده است (Lima *et al*., 2019). وجود بیش از حد بعضی از فلزات سنگین نه تنها منجر به ایجاد بیماری در انسان می‌شود بلکه سلامت گیاهان را نیز در معرض خطر قرار می‌دهد. در گیاهان سمیت با فلزات سنگین

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

مانع رشد و عملکرد گیاه شده و به عنوان مانعی برای فرآیندهای متابولیکی عمل می‌کند. به عنوان مثال، باعث اختلال در واحدهای سازنده ساختار پروتئین می‌شود یا به عملکرد فلزات ضروری در مولکول‌های زیستی مانند رنگدانه‌ها یا آنزیم‌ها آسیب می‌رساند. همچنین باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تنش اکسیداتیو شده که منجر به اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها و تخریب غشا می‌شود (Syed *et al*., 2018).

آزمون آلیوم سپا (Allium cepa assay) یک آزمون زیستی کم‌هزینه، کوتاه‌مدت و مطلوب برای بررسی اثرات سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک مواد شیمیایی است. در این آزمون، شاخص میتوزی که نشان دهنده میزان تکثیر سلولی بوده و همچنین انواع اختلالات کروموزومی (شکست کروموزومی، پل آنافازی، میکرونوکلئی، کروموزوم سرگردان، ...) در سلول‌های مریستمی نوک ریشه پیاز قابل ارزیابی می‌باشند. شاخص میتوزی به عنوان معیاری جهت بررسی سیتوتوکسیک بودن و اختلالات کروموزومی به عنوان معیاری جهت بررسی ژنوتوکسیک بودن مواد در نظر گرفته می‌شوند (Leme and Marin-Morales, 2009; Zendehboodi, 2018). همچنین ریخت‌شناسی هسته (تعداد و مساحت) نیز از طریق این آزمون قابل ارزیابی می‌باشد (Zendehboodi and Ekhlasi, 2025). هسته یک ناحیه در هسته است که مسئول ساخت ریبوزوم و سایر عملکردهای حیاتی سلول، مانند کنترل چرخه سلولی، حس کردن تنش سلولی و اصلاح آران‌اهای کوچک است (Ma *et al*., 2016; Corman *et al*., 2023). با توجه به عملکردهای متنوع هسته، تغییرات آن با عوامل تنش‌زا، سرطان و پیری مرتبط است. تغییرات مورفولوژیک هسته در پاسخ به اختلالات سلولی می‌توانند شامل تغییرات در اندازه یا تعداد، تولید ساختارهایی مانند کلاهک‌های هسته‌ای و حرکت اجزای هسته به سیتوزول و نوکلئوپلاسم باشند (Corman *et al*., 2023). اندازه هسته به عنوان یک شاخص حیاتی برای رشد و تقسیم سلولی عمل می‌کند؛ به عنوان مثال، بین اندازه و تعداد هسته و سطح رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی همبستگی مثبتی وجود دارد (Stępiński, 2018). هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر آلودگی‌های موجود در کود آلی فسفاته گرانوله بر میزان جوانه‌زنی، تکثیر سلولی، اختلالات کروموزومی، تعداد هسته و نسبت مساحت هسته به هسته در سلول‌های مریستمی ریشه بذر پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، شاخص میتوزی و فازی، مساحت هسته و هسته و تعداد هسته در سلول‌های مریستمی ریشه پیاز که در معرض کود آلی فسفاته گرانوله قرار گرفته بودند، با استفاده از آزمون آلیوم سپا مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین، انواع مختلف اختلالات فاز تقسیم، شامل کروموزوم‌های چسبنده، میتوز مختل شده، کروموزوم سرگردان و پل آنافازی ارزیابی شدند.

بعد از خیساندن بذر پیاز به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر، ۳۰ عدد بذر بین ۴ لایه کاغذ صافی که توسط آب مقطر یا محلول حاوی کود مرطوب شده بودند، در هر ظرف کشت سلول قرار گرفته و ظروف به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۱±۳۰ قرار گرفتند. کود آلی گرانوله فسفاته (حاوی سوپرفسفات تریپل، سوپرفسفات ساده و ماده آلی) از جهاد کشاورزی تهیه شد. مقدار توصیه شده برای مصرف کود آلی فسفاته گرانوله، طبق اطلاعات درج شده روی بسته کود، بین ۲۰۰ تا ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار است. با توجه به مساحت کاغذ صافی مورد استفاده در این مطالعه (۴۴/۱۶ سانتیمتر مربع)، مقدار معادل کود در مقیاس طبیعی، در دو دوز ۰/۰۸۹ (گروه ۲) و ۰/۱۷۷

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

(گروه ۳) گرم محاسبه گردید. چون کود بطور کامل در آب حل نمی‌شود، جهت افزایش ورود مواد موجود در کود به محلول، ابتدا کود گرانوله را آسیاب کرده و سپس به ازاء هر دوز، ۳/۱ میلی لیتر آب مقطر استفاده گردید. پس از مخلوط کردن کود آسیاب شده و آب، با نسبت مذکور، و ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال (جهت ته نشین شدن بخش غیر محلول کود)، ترکیب حاوی کود بطور مختصر سانتریفیوژ و سپس ۳/۱ میلی لیتر از محلول رویی، به عنوان محلول حاوی کود، برای خیساندن کاغذهای صافی در هر ظرف استفاده شد. در گروه کنترل (گروه ۱) از آب مقطر استفاده گردید. همچنین مقدار سرب، مس، نیکل و کادمیوم در آب مقطر و محلول رویی برای دوز ۰/۱۷۷، با استفاده از طیف سنجی جذب اتمی اندازه‌گیری شد. در پایان تیمار، یک سانتی متر از نوک چندین ریشه جدا و با معرف شیف رنگ‌آمیزی شد (Zendehboodi, 2018). از هر ظرف ۲ ریشه جهت تهیه اسلاید از ناحیه مریستم انتخاب و سلول‌های هر ریشه بصورت مجزا توسط میکروسکوپ الیمپوس مجهز به دوربین، تحت لنز شیئی ۴۰ برابر مشاهده شدند. در مجموع، بیش از ۲۰۰ سلول از هر ریشه برای تعیین شاخص میتوزی، شاخص فازی و فراوانی اختلالات میتوزی با استفاده از فرمول‌های زیر ارزیابی شدند. همچنین، مساحت هسته و هستک در چهل سلول که به طور تصادفی از تصاویر سلولی هر ریشه انتخاب شده بودند، با استفاده از نرم‌افزار Image J مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (شکل ۱). در صورت وجود بیش از یک هستک در هر هسته، مساحت کل هستک‌ها در نظر گرفته شد. تعداد کل هستک‌ها نیز در صد سلول از هر ریشه شمارش شد. از هر ظرف میانگین مربوط به نتایج دو ریشه لحاظ گردید و برای هر گروه آزمایشی سه تکرار انجام شد. به منظور بررسی درصد جوانه‌زنی، بعد از خیساندن بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر، در هر ظرف ۳۰ بذر قرار داده و بعد از ۴۸ ساعت نگهداری در انکوباتور در دمای ۱±۳۰ ، درصد جوانه‌زنی محاسبه گردید. برای هر گروه آزمایشی سه ظرف بررسی گردید.

$$\text{شاخص میتوزی} = \frac{\text{تعداد سلول‌های در حال تقسیم}}{\text{تعداد کل سلول‌های مشاهده شده}} \times ۱۰۰$$

$$\text{شاخص فازی} = \frac{\text{تعداد سلول‌های موجود در یک فاز}}{\text{تعداد کل سلول‌های مشاهده شده}} \times ۱۰۰$$

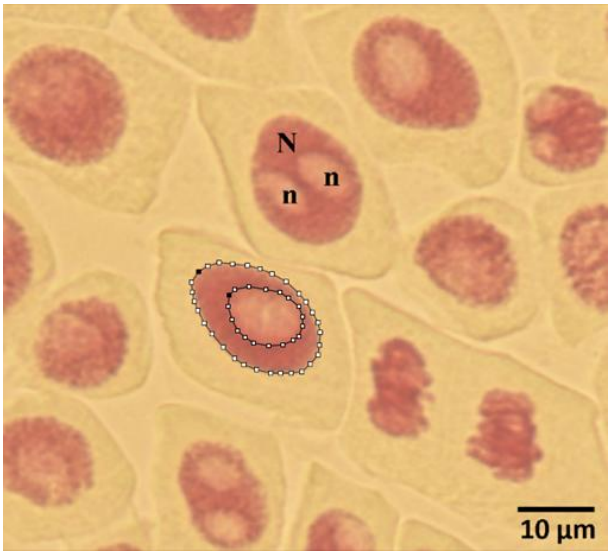
$$\text{اختلالات میتوزی} = \frac{\text{تعداد کل اختلالات در فاز تقسیم}}{\text{تعداد کل سلول‌های در حال تقسیم}} \times ۱۰۰$$

نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه گردید. از آزمون کروسکال والیس جهت بررسی تفاوت بین گروه‌های مورد مطالعه از نظر پارامترهای ارزیابی شده و از آزمون جانکهیر

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

ترپسترا جهت بررسی وجود روند آماری بین مقدار کود و پارامترهای ارزیابی شده استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام و سطح معنی‌داری در $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.



شکل ۱. اندازه‌گیری مساحت هسته و هستک با استفاده از نرم افزار .N Image J: هسته، n: هستک (Zendehboodi and Ekhlasi, 2025)

نتایج

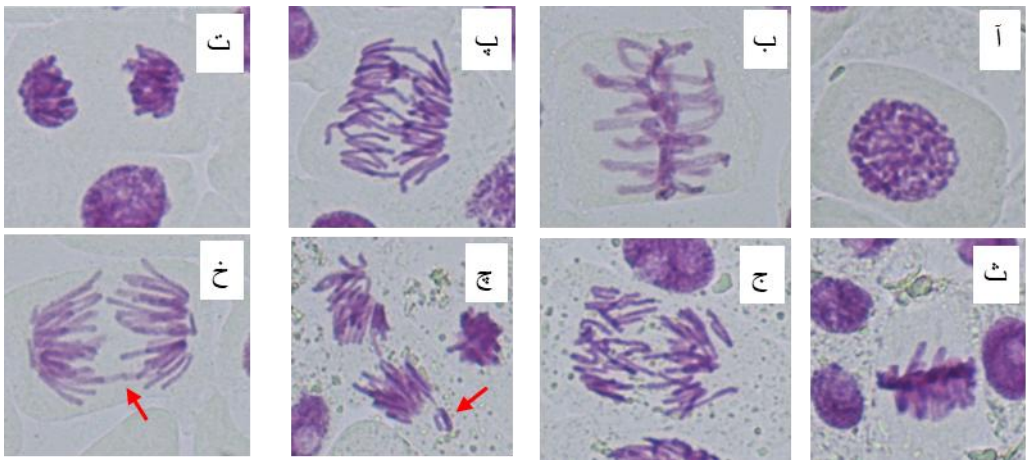
مقادیر عناصر اندازه‌گیری شده در آب مقطر و محلول حاوی کود در جدول ۱ ارائه شده است. مطابق با نتایج به دست آمده از محلول حاوی کود، بیشترین مقدار مربوط به سرب و کمترین مقدار مربوط به مس می‌باشد. انواع اختلالات شناسایی شده در مطالعه حاضر در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج مربوط به درصد جوانه‌زنی، شاخص میتوزی و کل اختلالات فاز تقسیم در سلول‌های نوک ریشه تیمار شده با کود در جدول ۲ نشان داده شده است. مطابق با نتایج آزمون کروس کالوالیس، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه مورد مطالعه از نظر درصد جوانه‌زنی (x^2=۳/۵۲، df=۲، p=۰/۱۷۲)، شاخص میتوزی (x^2=۵/۴۲، df=۲، p=۰/۰۶۶)، شاخص پروفازی (x^2=۱/۱۶، df=۲، p=۰/۵۶۱)، متافازی (x^2=۰/۶۲۲، df=۲، p=۰/۷۳۳)، آنافازی (x^2=۵/۰۷، df=۲، p=۰/۰۷۹) و تلوفازی (x^2=۱/۸۷، df=۲، p=۰/۳۹۳) و کل اختلالات فاز تقسیم (x^2=۲/۴۹، df=۲، p=۰/۲۸۸) مشاهده نشد. در رابطه با وجود روند آماری بین مقدار کود و پارامترهای ارزیابی شده، نتایج حاصل از آزمون جانکهیر ترپسترا نشان داد که میانگین درصد جوانه‌زنی و شاخص آنافازی با افزایش غلظت کود کاهش می‌یابد و این روند از نظر آماری معنی‌دار است (درصد جوانه‌زنی: T_{JT}=۴/۵، p=۰/۰۴۵؛ شاخص آنافازی: T_{JT}=۳/۰۰، p=۰/۰۲۰). شاخص میتوزی نیز الگوی مشابهی را نشان می‌دهد هر چند روند آن از نظر آماری معنی‌دار نبوده اما نزدیک به سطح معنی‌داری می‌باشد (T_{JT}=۵/۰۰، p=۰/۰۵۹).

مقادیر میانگین برای تعداد کل هستک، مساحت هسته و هستک و نسبت مساحت هستک به هسته در سلول‌های نوک ریشه، در جدول ۳ نشان داده شده است. مطابق با نتایج آزمون کروس کالوالیس، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه مورد مطالعه از نظر تعداد کل هستک (p=۰/۸۶۴، df=۲،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

(x^2=۰/۲۹ مساحت هسته (p=۰/۳۲۹، df=۲، x^2=۲/۲۲)، مساحت هستک (p=۰/۱۷۷، df=۲، x^2=۳/۴۷) و نسبت مساحت هستک به هسته (p=۰/۳۰۱، df=۲، x^2=۲/۴۰) مشاهده نشد. همچنین نتایج حاصل از آزمون جانکهیر ترپسترا نشان داد که میانگین مساحت هستک با افزایش غلظت کود کاهش می‌یابد و این روند هر چند از نظر آماری معنی‌دار نبوده اما نزدیک به سطح معنی‌داری می‌باشد (T_{JT}= ۵/۰۰ ،p=۰/۰۵۹)



شکل ۲. مراحل مختلف فاز تقسیم و انواع اختلالات مشاهده شده: آ: پروفاز، ب: متافاز، پ: آنافاز، ت: تلوفاز، ث: کروموزوم چسپنده، ج: اختلال در میتوز، چ: کروموزوم سرگردان، خ: پل آنافازی

جدول ۱. مقادیر عناصر اندازه‌گیری شده در کود فسفاته گرانوله

عناصر(mg/L)	سرب	نیکل	کادمیوم	مس
آب مقطر	۰/۲۶۹	شناسایی نشد	۰/۰۳۰	شناسایی نشد
محلول حاوی کود	۰/۴۵۱	۰/۱۲۰	۰/۰۴۰	۰/۰۰۲

جدول ۲. تأثیر کود فسفاته گرانوله بر شاخص میتوزی و اختلالات فاز تقسیم در سلول‌های مریستمی نوک ریشه پیاز. هر آزمایش ۳ دفعه تکرار شده است.

گروه‌های آزمایشی	درصد شاخص میتوزی	درصد شاخص فازی				درصد کل اختلالات فاز تقسیم	درصد جوانه‌زنی
		پروفاز	متافاز	آنافاز	تلوفاز		
۱	۱۲/۸۵ ±۱/۸۱	۶/۷۵±۱/۳۶	۱/۶۶±۰/۱۱	۱/۹۰±۰/۲۹	۲/۵۴±۰/۳۱	۲۰/۶۳±۴/۳۱	۶۸/۶۷±۹/۷۷
۲	۱۲/۶۰±۱/۵۰	۷/۵۳±۱/۰۸	۲/۲۴±۰/۷۰	۱/۲۲±۰/۳۵	۱/۶۱±۰/۴۸	۱۶/۱۷±۴/۸۴	۵۹/۰۰±۶/۱۱
۳	۹/۸۱± ۰/۳۰	۵/۴۷±۰/۳۳	۱/۶۳±۰/۳۳	۰/۶۴±۰/۲۰	۲/۰۷±۰/۱۸	۱۲/۷۳±۲/۳۸	۴۵/۶۷±۴/۶۷

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

جدول ۳. تأثیر کود فسفاته گرانوله بر ویژگی‌های هسته و هستک در سلول‌های مریستمی نوک ریشه پیاز

گروه‌های آزمایشی	تعداد تکرار	مساحت هسته/مساحت هستک	مساحت هستک	مساحت هسته	تعداد کل هستک در ۱۰۰ سلول
۱	۳	۰/۳۹±۰/۰۲	۸۳/۱۴±۱۰/۵۸	۲۱۲/۴۱±۱۸/۷۶	۱۴۵/۶۷±۰/۹۳
۲	۳	۰/۳۴±۰/۰۲	۶۳/۷۳±۳/۸۸	۱۸۷/۴۳±۲۱/۵۲	۱۴۴/۰۰±۳/۲۵
۳	۳	۰/۳۳±۰/۰۴	۵۷/۳۶±۷/۳۳	۱۷۴/۲۱±۸/۶۱	۱۳۹/۰۰±۵/۳۵

بحث

در سال‌های اخیر بکاربردن کودهای شیمیایی در مناطق تحت کشت باعث ایجاد مشکلات زیست محیطی، از جمله کاهش کیفیت خاک و محصولات کشاورزی و آلودگی منابع آب گردیده است (Zeinvand *et al*., 2019). مطالعات نشان داده اند که کودهای فسفاته حاوی فلزات سنگینی مانند کادمیوم، سرب، نیکل، کبالت، ارسنیک و کروم می‌باشند (Modaihsh *et al*., 2004; Jiao *et al*., 2012; Roberts, 2014). نتایج مطالعه حاضر نیز حضور فلزات سنگین در این نوع کودها را تایید می‌کند. از عناصر اندازه‌گیری شده در این مطالعه، بیشترین مقدار مربوط به سرب و مقادیر دیگر به ترتیب مربوط به نیکل، کادمیوم و مس بود. هرچند با یکبار استفاده، مقدار قابل توجهی از این عناصر به محیط وارد نمی‌شود اما استفاده مکرر از این کودها می‌تواند باعث تجمع آنها در محیط اعم از بخش زنده و غیرزنده شود. فلزات سنگین موادی پایدار بوده و پس از جذب، در بدن، بافت یا سلول باقی مانده و می‌توانند منجر به ایجاد سمیت شوند (Bhargava *et al*., 2017; Hassan *et al*., 2019).

به عنوان مثال، ورود آرسنیک به داخل سلول گیاه، حتی در سطح بسیار کم، اثرات مخربی بر پارامترهای مورفوفیزیولوژیک دارد. این فلز درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و ساقه، محتوای کلروفیل و فعالیت فتوسنتزی، هدایت روزنه‌ای، میزان تعرق، CO_2 بین سلولی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اسیدهای چرب اشباع را کاهش می‌دهد و باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (Bali and Sidhu, 2021). سمیت ایجاد شده از سرب، جوانه‌زنی بذرها را مهار کرده و رشد گیاهچه را به تأخیر می‌اندازد. همچنین، گیاهانی که در معرض یون‌های سرب قرار می‌گیرند، کاهشی در سرعت فتوسنتز نشان می‌دهند که ناشی از اختلال در فراساختار کلروپلاست، مهار سنتز کلروفیل، پلاستوکینون و کاروتنوئیدها، انسداد انتقال الکترون، مهار فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین و همچنین کمبود CO_2 در نتیجه بسته شدن روزنه‌ها است (Sharma and Dubey, 2005). کادمیوم عنصر ضروری برای گیاهان محسوب نمی‌شود و سمیت ایجاد شده از آن باعث مهار رشد در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌شود. کادمیوم باعث مهار تثبیت کربن، کاهش فتوسنتز و محتوای کلروفیل و تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن شده و جذب آهن و روی توسط گیاه را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث کلروز برگ می‌شود (Haider *et al*., 2021). مس به عنوان یک عنصر مهم در نظر گرفته می‌شود که نقش حیاتی در فعالیت‌های مختلف فیزیولوژیک گیاهان مانند فتوسنتز، تنفس، تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی، زنجیره انتقال الکترون، ایفا می‌کند. با این حال، این عنصر به عنوان یکی از سمی‌ترین فلزات سنگین شناخته می‌شود و مقدار بیش از حد آن تأثیر مضری بر رشد و بقای گیاهان دارد. به عنوان مثال، کاهش زیست‌توده گیاهی و رشد ریشه، کلروز، برنزه شدن و نکروز از علائم

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

رایج مرتبط با مس بیش از حد هستند که به دلیل افـزایش تولیـد گونـه‌های فعـال اکسـیژن ایجـاد می‌شـوند (Kumar *et al*., 2021). کبالـت نـه بـه عنوان یک عنصر ضروری بلکه به عنوان یک عنصر مفید که در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک خاصی از گیاهان نقش دارد، شناخته می‌شود، امـا سطوح بالای آن منجـر بـه کمبـود آهـن، کـاهش زیست توده، محتـوای کلروفیـل و فعالیـت کاتـالاز شده و همچنین باعـث ریـزش بـرگ، کـاهش وزن شاخه‌ها، تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Mahey *et al*., 2020). نیکل یک عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاه محسوب می‌شود، اما در غلظت‌های بالا با اثرات نامطلوب زیادی در گیاهان ماننـد کـاهش جوانه‌زنی، رشد گیاه، تقسیم سلولی، تولید زیسـت توده، جذب مواد مغـذی، فتوسـنتز، تعـرق، کلـروز برگ و نکروز همراه است (Hassan *et al*., 2019).

نتایج مطالعه حاضـر نشـان داد کـه کـود گرانولـه فسفاته تاثیری بر شاخص میتوزی و اختلالات فـاز تقسیم ندارد اما باعث کـاهش میـزان جوانـه‌زنی و شـــاخص آنافـــازی می‌شـــود. در بررســـی تـــاثیر غلظت‌های مختلف از کودهـای آمونیوم‌سـولفات و دی‌آمونیوم‌فسفات بر ریشه پیاز نشان داده شد که با افزایش غلظت، طول و وزن خشـک و تـر ریشـه کاهش می‌یابد. همچنـین اسـتفاده از ایـن کودهـا می‌تواند منجـر بـه آسـیب شـدید بـه ژنـوم شـود (Surgun-Acara *et al*., 2019). در مطالعه دیگری تاثیر کود اوره بر روی سلول‌های مریستمی ریشـه پیاز بررسی و نشان داده شد که غلظت‌های مختلف این کود منجر به کاهش فعالیت میتوزی و افزایش مجموع اختلالات کرومـوزومی و هسـته‌ای (سـلول چندهسته‌ای، میکرونوکلئی، کرومـوزوم چسـپنده، کروموزوم سرگردان ...) می‌شـود (Bonciu *et al*., 2018). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد کود گرانوله فسفاته ممکن است تاثیر مخربی بر توانایی جوانه‌زنی و مراحل فاز تقسـیم در چرخـه سـلولی داشته باشد. همچنین فلـزات سـنگین موجـود در کود نیز می‌تواند عامل تغییرات مشاهده شده باشد. مطالعـات نشـان داده‌انـد کـه ترکیبـات شـیمیایی حاوی سرب باعث کاهش جوانه‌زنی بذر گیـاه ذرت و کـاهش شـاخص میتـوزی و افـزایش اخـتلالات کرومــوزومی در یــک گونــه از ســرخس بــاتلاقی می‌شـوند (Pal and Sukul, 2022; Osman and Fadhlallah, 2023). همچنین ترکیبات حاوی مس در غلظت‌های بالا منجر به کاهش جوانه‌زنی گیـاه فلفل برزیلی و افزایش اختلالات کروموزومی در دو گونه از سرخس‌های باتلاقی می‌شوند (Siqueira *et al*., 2020). تیمار بـا ترکیبـات حـاوی کـادمیوم و نیکل نیز منجر به کاهش جوانـه‌زنی بـذر گنـدم و کـاهش شـاخص میتـوزی و افـزایش اخـتلالات کروموزومی در ریشه پیاز می‌شود (Wang *et al*., 2014; de Sauza Guilherme *et al*., 2015; Shweti and Verma, 2018; Pharmawati and Wrasiati, 2023). در مطالعـه حاضـر تغییـر در شاخص میتوزی یا افزایش در اختلالات فاز تقسیم در دو گروه تیمار نسبت به کنترل مشاهده نشد که می‌تواند به علت غلظت کم این عناصـر در محـیط کشت باشد. قابل ذکر است که استفاده مکـرر، بـی رویه و نابجا از کودهای شیمیایی می‌تواند منجربه انباشت این عناصر در محیط زیست و ایجاد اثرات سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک آنها شود.

نتایج این مطالعه نشان داد که کود گرانوله فسفاته تـاثیری بـر مورفولـوژی و تعـداد هسـتک نـدارد. هستک‌ها نقش حیاتی در فرآیندهای سلولی متعدد ایفا می‌کنند. این بخش از هسته، به ویژه در تولید ریبوزوم که برای ساخت پروتئین‌هـای لازم جهـت رشد و تقسیم سلولی ضروری است، نقش مهمی را به عهده دارد (Boulon *et al*., 2010). مورفولـوژی هستک به اختلالات سلولی مختلف، مانند کـاهش عوامـــل هســـتکی، شـــوک حرارتـــی، عوامـــل سیتوتوکسیک، کمبود اکسیژن، کاهش مواد مغذی، عفونت ویروسی و تابش اشعه ماوراء بـنفش بسـیار حساس است (Corman *et al*., 2023). مجموعه‌ای

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

رو به رشد از مطالعات، اثرپذیری هستک‌ها نسبت به فلزات سنگین و عوامل سمی را نشان می‌دهد. به عنوان مثال، مطالعه‌ای که اثرات نوروتوکسیک داروهای مبتنی بر پلاتین را مورد بررسی قرار داد، گزارش داد که کربوپلاتین، آرآر-ارماپلاتین، اگزالیپلاتین، اس‌اس-ارماپلاتین و سیس‌پلاتین قطر هستک را در نورون‌های موش صحرایی کاهش می‌دهند (McKeage *et al*., 2001). علاوه بر این، نشان داده شده که کادمیوم و آترازین تعداد هستک‌ها را در سلول‌های مریستمی ریشه *Allium cepa* افزایش می‌دهند در حالی که مساحت آنها را کاهش می‌دهند (Lima *et al*., 2019). تحت تنش سرب، تغییراتی در سلول‌های ریشه *Allium cepa* مشاهده شده است، به‌طوری که برخی پروتئین‌های هسته‌ای بیش از حد بیان می‌شوند و از هستک‌ها به نوکلئوپلاسم یا سیتوپلاسم منتقل می‌شوند (Jiang *et al*., 2014). مطالعه حاضر اولین مطالعه در رابطه با تاثیر کود گرانوله فسفاته بر شاخص‌های سلولی می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از این کود حتی در محدوده پیشنهاد شده نیز می‌تواند باعث کاهش میزان جوانه‌زنی بذر پیاز و کاهش شاخص آنافازی در سلول‌های مریستمی نوک ریشه این گیاه شود. با توجه به حضور فلزات سنگینی مانند سرب، کادمیوم و امثال آنها در این کود، تغییرات ایجاد شده می‌تواند مربوط به این عناصر باشد. نظر به اینکه کودها و سموم استفاده شده در فعالیت‌های کشاورزی می‌توانند به منابع آب سطحی یا زیرزمینی راه یابند و ممکن است از این طریق به مراتع دیگر نیز منتقل شوند، نتایج این مطالعه و مطالعات انجام شده در این زمینه نشان می‌دهند که مصرف بی‌رویه کودهای غیرآلی، بخصوص اگر آلوده به فلزات سنگین باشند، می‌تواند زیست بوم گیاهان را مورد تهدید قرار دهد. از این جهت، انجام مطالعات وسیعتر، به منظور بررسی بیشتر اثرات زیستی مخرب این کودها ضروری می‌باشد.

منابع

Ahmadipour Sereshkeh S, Mohammadi A. (2024) Recycling agricultural waste using microorganisms: A sustainable approach. ***Journal of Biosafety.*** *17*(3): 58-85. https://dorl.net/dor/20.1001.1.27170632.1403.17.3.4.6. [In Persian]

Asadu CO, Ezema CA, Ekwueme BN, Onu CE, Onoh IM, Adejoh T, Ezeorba TPC, Ogbonna CC, Otuh PI, Okoye JO, Emmanuel UO. (2024) Enhanced efficiency fertilizers: Overview of production methods, materials used, nutrients release mechanisms, benefits and considerations. ***Environmental Pollution and Management***. *1*: 32-48. https://doi.org/10.1016/j.epm.2024.07.002.

Bali AS, Sidhu GPS. (2021) Arsenic acquisition, toxicity and tolerance in plants - from physiology to remediation: A review. ***Chemosphere***. *283*: 131050. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131050.

Bhargava P, Gupta N, Vats S, Goel R. (2017) Health issues and heavy metals. ***Austin Journal of Environmental Toxicology***. *3*: 1018.

Bonciu E, Roşculete E, Olaru AL, Roşculete CA. (2018) Evaluation of the mitodepressive effect, chromosomal aberrations and nuclear abnormalities induced by urea fertilization in the meristematic tissues of *Allium cepa* L. ***Caryologia***. *71*: 350-356. https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1473918.

Boulon S, Westman BJ, Hutten S, Boisvert FM, Lamond AI. (2010) The nucleolus under stress. ***Molecular Cell***. *40*: 216-227. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.024.

Corman A, Sirozh O, Lafarga V, Fernandez-Capetillo O. (2023) Targeting the nucleolus as a therapeutic strategy in human disease. ***Trends in Biochemical Sciences***. *48*: 274-287. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2022.09.006.

de Sauza Guilherme MDF, Oliveira HM, da Silva E. (2015) Cadmium toxicity on seed germination

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

and seedling growth of wheat *Triticum aestivum*. ***Acta Scientiarum. Biological Sciences***. *37*: 499-504. https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v37i4.28148.

Gupta DK, Chatterjee S, Datta S, Veer V, Walther C. (2014) Role of phosphate fertilizers in heavy metal uptake and detoxification of toxic metals. ***Chemosphere***. *108*: 134-144. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.030.

Haider FU, Liqun C, Coulter JA, Cheema SA, Wu J, Zhang R, Wenjun M, Farooq M. (2021) Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***. *211*: 111887. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887.

Hassan MU, Chattha MU, Khan I, Chattha MB, Aamer M, Nawaz M, Ali A, Khan MAU, Khan TA. (2019) Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities-a review. ***Environmental Science and Pollution Research International***. *26*: 12673-12688. https://doi.org/10.1007/s11356-019-04892-x.

Jiang Z, Zhang H, Qin R, Zou J, Wang J, Shi Q, Jiang W, Liu D. (2014) Effects of lead on the morphology and structure of the nucleolus in the root tip meristematic cells of *Allium cepa* L. ***International Journal of Molecular Sciences***. *15*: 13406-13423. https://doi.org/10.3390/ijms150813406.

Jiao W, Chen W, Chang AC, Page AL. (2012) Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: A review. ***Environmental Pollution***. *168*: 44-53. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.03.052.

Kumar V, Pandita S, Singh Sidhu GP, Sharma A, Khanna K, Kaur P, Bali AS, Setia R. (2021) Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review. ***Chemosphere***. *262*: 127810. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127810.

Leme DM, Marin-Morales MA. (2009) Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. ***Mutation Research***. *682*: 71-81. https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002.

Lima MGF, Rocha LC, Silveira GL, Alvarenga IFS, Andrade-Vieria LF. (2019) Nucleolar alterations are reliable parameters to determine the cytogenotoxicity of environmental pollutants. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***. *174*: 630-636. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.033.

Ma TH, Lee LW, Lee CC, Yi YH, Chan SP, Tan BCM, Lo SJ. (2016) Genetic control of nucleolar size: an evolutionary perspective. ***Nucleus***. *7*: 112-120. https://doi.org/10.1080/19491034.2016.1166322.

Mahey S, Kumar R, Sharma M, Kumar V, Bhardwaj R. (2020) A critical review on toxicity of cobalt and its bioremediation strategies. ***SN Applied Sciences***. *2*: 1279. https://doi.org/10.1007/s42452-020-3020-9.

McKeage MJ, Hsu T, Screnci D, Haddad G, Baguley BC (2001). Nucleolar damage correlates with neurotoxicity induced by different platinum drugs. ***British Journal of Cancer***. *85*: 1219-1225. https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.2024.

Modaihsh AS, Al-Swailem MS, Mahjoub MO. (2004) Heavy metals content of commercial inorganic fertilizers used in the Kingdom of Saudi Arabia. ***Agricultural and Marine Sciences.*** 9: 21-25.

Ohiagu FO, Chikezie PC, Ahaneku CC, Chikezie CM. (2022) Human exposure to heavy metals: toxicity mechanisms and health implications. ***Material Science and Engineering International Journal.*** *6*: 78-87. https://doi.org/10.15406/mseij.2022.06.00183.

Osman HE, Fadhlallah RS. (2023) Impact of lead on seed germination, seedling growth, chemical composition, and forage quality of different varieties of Sorghum. ***Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences***. *9*: 77-86. https://doi.org/10.1007/s43994-022-00022-5.

Pal N, Sukul S. (2023) Consequences of copper and lead stress on biochemical properties and mitotic chromosomal behavior of two thelypteroid ferns and their potential in tolerance of those metals. ***South African Journal of Botany***. *147*: 53-62. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.12.028.

Pharmawati M, Wrasiati LP. (2023) Chromosomal and nuclear alteration induced by nickel nitrate in the root tips of *Allium cepa* var. ***Aggregatum.*** ***Pollution***. *9*: 702-711. https://doi.org/10.22059/poll.2022.349167.1634.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

Roberts T. (2014) Cadmium and phosphorous fertilizers: The issues and the science. ***Procedia Engineering***. *83*: 52-59. https://doi.org/10.1016/j.proeng.2014.09.012.

Sharma P, Dubey RS. (2005) Lead toxicity in plants. ***Brazilian Journal of Plant Physiology***. *17*: 35-52. https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004.

Shweti, AK, Verma JS. (2018) Effects of nickel chloride on germination and seedling growth of different wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) cultivars. ***Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry***. *7*: 2227-2234.

Siqueira MC, Tavares AR, Barbosa JM, Santos Junior NA. (2020) Copper stress affect seed germination and seedling establishment of *Schinus terebinthifolia* Raddi. ***Hoehnea***. *47*: e502020. https://doi.org/10.1590/2236-8906-50/2020.

Stępiński D. (2018) The nucleolus, an ally, and an enemy of cancer cells. ***Histochemistry and Cell Biology***. *150*: 607-629. https://doi.org/10.1007/s00418-018-1706-5.

Surgun-Acara Y, Zemheri-Navruzb F, Çatavc SS, İşkild R. (2019) Evaluation of genotoxic effects of commonly used fertilizers in *Allium cepa* root cells by comet assay. ***International Journal of Environmental Research and Technology***. *2*: 192-198.

Syed R, Kapoor D, Bhat AA. (2018) Heavy metal toxicity in plants: a review. ***Plant Archives***. *18*: 1229-1238.

Wang QL, Zhang LT, Zou JH, Liu DH, Yue JY. (2014) Effects of cadmium on root growth, cell division and micronuclei formation in root tip cells of *Allium cep*a var. agrogarum L**.** ***Phyton-international Journal of Experimental Botany***. *83*: 291-298. https://doi.org/10.32604/phyton.2014.83.291.

Zendehboodi Z. (2018) Cytotoxicity and genotoxicity effects of water boiled in aluminum vessels on Allium cepa root tip cells. ***Journal of Environmental Health Science and Engineering***. *16*: 337-341. https://doi.org/10.1007/s40201-018-0313-7.

Zendehboodi Z, Ekhlasi F. (2025) The impact of aluminum utensils on the morphology of the nucleolus in the meristematic cells of onion root. ***Journal of Human Environment and Health Promotion***. *11*: 62-64. https://doi.org/10.61186/jhehp.11.1.62.

Zeinvand M, Alinejadian A, Sohrabi A, Feizian M, Akbarpour O, Zeinvand Z. (2019) Investigation of the undesirable effects of chemical fertilizers and the necessity of sustainable agricultural development. In: 2nd National Conference on Natural Resources Management (Water, Flood and Environment). ***Iran, Gonbad Kavous University***. 11-15. [In Persian]

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]

Effect of Heavy Metal Contamination in Granulated Organic Phosphate Fertilizer on Cell Proliferation and Morphology of the Nucleolus in Root Meristem Cells of Onion Seeds

Zahra Zendehboodi*, Fatemeh Bahmannezhad, Maryam Savaee, Fatemeh Sadat Moini, Niloofar Ahmadi

Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University

zahrazendehboody@yahoo.com

Abstract

Mineral fertilizers are a source of nutrients for crops, but their excessive use can have devastating effects on the environment. The aim of this study was to investigate the effect of granulated organic phosphate fertilizer on the germination rate, cell proliferation, and nucleolus morphology in root meristem cells of edible onion seeds (*Allium cepa* L.). To this aim, onion seeds were cultured in plates containing distilled water (control) or fertilizer solutionat two doses (0.089 and 0.177 g) for 72 hours. Subsequently, mitotic and phase indices, frequency of mitotic abnormalities, nuclear and nucleolar area, and number of nucleoli in root tip meristem cells were evaluated. The concentrations of lead, nickel, cadmium, and copper in the fertilizer solution was also measured which were 0.451, 0.120, 0.040, and 0.002 mg/L respectively. To examine differences between the studied groups in terms of the evaluated indices, the Kruskal-Wallis and Jonckheer-Trepstra test was used. According to the results, no significant differences were observed among the three groups for the indices mentioned above. However, the average germination percentage and anaphase index decreased with increasing fertilizer concentration, and this trend was statistically significant (Germination percentage: $p=0.045$, $T_{JT}=4.5$; Anaphase index: $p=0.020$, $T_{JT}=3.00$). The results of this study showed that the use of this fertilizer can reduce the germination rate of onion seeds and anaphase index during cell division in root tip meristem cells of this plant. Further studies are required to better understand the harmful biological effects of chemical fertilizers.

Keywords: Mitotic disorders, Mitotic index, Fertilizer, Nucleolus

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.2.1.8]