



اثر فلزات سنگین مس و سرب بر برخی صفات رشدی، میزان پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی در دو رقم ماش

مهدی کشته‌گر¹، اکبر صفی‌پور افشار^{2*} و فاطمه سعید نعمت‌پور²

چکیده

در زمین‌های زراعی، آلودگی فلزات سنگین به خاطر استفاده از پساب‌های صنعتی آلوده و کاربرد بی‌رویه‌ی کودهای فسفاته به یک مشکل اساسی تبدیل شده است. دوام بلند مدت زیست‌شناختی و باقی ماندن در خاک، سبب انباشته شدن این فلزات در زنجیره غذایی و در نتیجه سبب تأثیرات منفی بالقوه برای سلامت انسان می‌گردد. به‌منظور بررسی تاثیر فلزهای مس و سرب در خاک آلوده بر صفات ریخت‌شناختی، میزان پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی دو رقم ماش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فلز مس در غلظت‌های صفر، 150، 300 و 400 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک و سرب در غلظت صفر، 200، 400 و 600 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک استفاده شد. پس از رشد گیاهان به مدت چهار هفته در خاک آلوده، ارتفاع بخش هوایی، طول ریشه، وزن تر و وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه، میزان پرولین و میزان پراکسیداسیون لیپیدی در برگ سنجیده شد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر، حاکی از تاثیر منفی و سمی فلزات سنگین مس و سرب بر گیاه ماش است، به‌طورکلی با افزایش غلظت مس و سرب در محیط رشد، صفات ریخت‌شناختی تغییر یافته است. رقم سیستان تاثیر پذیری بیشتری از فلزات سنگین داشته و نسبت به رقم گوهر صفات ریخت‌شناختی آن تغییرات منفی بیش‌تری را نمایان ساخت. فلزات مس و سرب بر میزان پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی در گیاه ماش تاثیر زیادی داشت. ضمن این‌که میزان پرولین و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی تحت تنش فلزات مس و سرب در رقم سیستان افزایش بیشتری نشان داد.

واژگان کلیدی: پراکسیداسیون لیپیدی، پرولین، فلزات سنگین، صفات ریخت‌شناختی، ماش.

1- کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور، گروه زیست‌شناسی، نیشابور، ایران

2- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور، گروه زیست‌شناسی، نیشابور، ایران

(* نگارنده‌ی مسئول)

asafshar@iau-neyshabur.ac.ir

تاریخ دریافت: 92/4/8

تاریخ پذیرش: 93/6/30

مقدمه

ماش زراعی گیاهی است یک‌ساله، بوته‌ای یا نیمه رونده به ارتفاع 90-15 سانتی‌متر و حتی بیشتر که دارای ریشه‌های مستقیم با گره‌های درشت و انشعابات زیاد می‌باشد (Tansend, 1974). ماش از حبوبات با ارزش بوده و به لحاظ آنکه منبع سرشاری از پروتئین با کیفیت بالا می‌باشد نقش به‌سزایی در تغذیه‌ی مردم کم درآمد کشورهای در حال توسعه بازی می‌کند (Dodwad, 1998).

ترافیک شهری، دورریزهای خانگی و پساب‌های صنعتی، دفع غبار حاصل از کارخانه‌ها، آژوسول‌ها (هواویز) و خاکستر حاصل از صنایع فرآوری کننده فلزات منجر به آلودگی نواحی مختلف شده است. دوام بلند مدت زیست‌شناختی و باقی ماندن در خاک، سبب انباشته شدن این فلزات در زنجیره غذایی و در نتیجه تأثیرات منفی بالقوه برای تندرستی انسان می‌گردد. تنش‌های محیطی همچون فلزات سنگین بر رشد و نمو، ساختار فیزیولوژیک گیاه، سنتز پروتئین‌ها، فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، تنفس و متابولیسم سلولی تأثیر دارند. قرار گرفتن در معرض تنش، ممکن است سبب افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال و تنش اکسیداتیو شود و در نهایت به تسریع تشکیل انواع اکسیژن فعال، آسیب به غشاها و DNA، القای تغییر در رشد و ساختار فیزیولوژیک سلول و تخریب آنزیم‌ها بینجامد (Syta et al., 2013).

دفاع آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از سلول‌ها در برابر تاثیرهای خطرناک گونه‌های اکسیژن فعال وارد عمل می‌شود، طی تنش اکسیداتیو، وقایعی در گیاهان صورت می‌گیرد که عبارت هستند از افزایش تولید ROS، افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها، افزایش پرولین و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی که منجر به افزایش تحمل گیاه به تنش می‌شوند (Mobin et al., 2007).

پژوهش‌های متعددی نشان داده است که وقتی گیاهان در معرض غلظت‌های بالای فلزات سنگین قرار می‌گیرند، وزن تر و خشک گیاه و طول بخش‌هوایی و ریشه کاهش می‌یابد (Nagajyoti and Srekanth, 2010). فلزات سنگین خسارات قابل رویتی نظیر کلروزیس (زردی) و نکروزیس (قهوه‌ای شدن) در برگ‌های گیاهان به‌وجود می‌آورند و باعث کاهش طول و قهوه‌ای شدن ریشه‌ها می‌گردند (Liu, 2008). زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های

غیرزیستی قرار می‌گیرند میزان پرولین آنها افزایش می‌یابد و ساختارهای سلولی و آنزیمی را در برابر فاکتورهای تنش‌زا حفاظت می‌کند. گزارش شده است که پرولین در غلظت‌های زیاد در بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های غیرزنده همانند فلزات سنگین، شوری، خشکی، سرما، کمبود مواد غذایی، عفونت‌های عامل بیماری در گیاه و اسیدتیه بالا تجمع می‌یابد (Yadav, 2010). پرولین به عنوان یکی از محافظت کننده‌های غشاها است. به نظر می‌رسد افزایش میزان پرولین در کاهش اثرات تنش نقش دارد (Kiyosue et al., 1996). پرولین تحمل گیاهان به تنش را از طریق سازوکارهایی مانند تنظیم اسمزی، حفاظت آنزیم‌ها در برابر دناتوره شدن و تثبیت سنتز پروتئین، افزایش می‌دهد (Verbruggen and Hermans, 2008).

مقدار مالون دی‌آلدئید (MDA) در گیاهان یک شاخص پراکسیداسیون لیپیدی است (Luo, 1999). در غلظت‌های بالای فلزات سنگین، میزان پراکسیداسیون و تجزیه لیپیدهای غشایی به‌خصوص غشای کلروپلاستی تحریک می‌شود (Gill and Tuteja, 2010).

با توجه به فراگیر شدن آلودگی‌های زیست محیطی و همچنین ارزش غذایی گیاه ماش در کشورهای در حال توسعه، در پژوهش حاضر سعی بر این است تا اثرات سمی دو عنصر سرب و مس بر رشد

اسید 20 درصد که حاوی 0/5 درصد تیوباربتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت 30 دقیقه در دمای 95 درجه سلسیوس در حمام آب گرم حرارت داده شده و سپس بلافاصله در یخ قرار داده شد و دوباره مخلوط به مدت 10 دقیقه در 10000 دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. شدت جذب این محلول، در طول موج 532 نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در 600 نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت مالون‌دی‌آلدئید از ضریب خاموشی معادل $155\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ استفاده گردید و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری پرولین روش بیتس (Bates, 1973) مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور 0/02 گرم از بافت فریز شده گیاه (ساقه و برگ) در 10 میلی‌لیتر محلول 3 درصد سولفوسالیسیلیک اسید ساییده و عصاره حاصل به مدت 5 دقیقه در 10000 دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس 2 میلی‌لیتر از مایع رویی با 2 میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و 2 میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط و یک ساعت در دمای 100 درجه سلسیوس در حمام آب گرم قرار گرفت. بلافاصله لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردید. سپس 4 میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و لوله‌ها به خوبی تکان داده شد. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت 15 تا 20 ثانیه دو لایه مجزا تشکیل شد. میزان جذب لایه‌ی رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود، در 520 نانومتر تعیین و برای محاسبه‌ی مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

این گیاه و میزان پرولین و پراکسیداسیون لیپیدها سنجیده شود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از فلز مس به صورت سولفات مس در چهار سطح (صفر، 150، 300 و 400) و از فلز سرب به صورت نیترات سرب در چهار سطح (صفر، 200، 400 و 600) میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک استفاده شد و تاثیر این دو فلز بر برخی صفات ریخت‌شناختی، میزان پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی در دو رقم گیاه ماش مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

نیترات سرب و سولفات مس با غلظت‌های مشخص به خاک اضافه شد و به منظور جذب بهتر فلز توسط خاک به مدت 10 روز در نایلونی سربسته نگهداری شد. بذره‌های دو رقم ماش (گوهر و سیستان) پس از ضدعفونی و شستشو داخل گلدان‌هایی به ارتفاع 20 و قطر دهانه 10 سانتی‌متر کشت شدند، آبیاری گلدان‌ها به صورت یک روز در میان انجام شد، و در نهایت پس از گذشت چهار هفته با مشاهده نشانه‌های سمیت، گیاهان جمع‌آوری شدند.

صفات ریخت‌شناختی همچون طول اندام‌هوایی و عمق ریشه با خط‌کش و برحسب میلی‌متر محاسبه شدند. برای برآورد وزن تر، نمونه‌ها پس از برداشت، شستشو داده شده و با ترازوی با دقت 0/01 گرم بر حسب گرم توزین شدند.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به روش پاکر و هیث (Packer and Heath, 1968) انجام شد. در این روش 0/2 گرم از بافت فریز شده گیاه (ساقه و برگ) با 5 میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) 0/1 درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت 5 دقیقه در 10000 دور در دقیقه سانتریفوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی، 4 میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک

نتایج و بحث

صفات رشدی

در این پژوهش تاثیر تیمارهای مس و سرب و رقم و همچنین اثر متقابل مس و سرب برای وزن تر ریشه، در سطح آماری 1% معنی دار بود (جدول 1). تنش فلزات سنگین سبب کاهش معنی‌دار صفات رشدی گردید و به‌طور کلی افزایش غلظت فلزات مس و سرب در هر دو رقم سیستان و گوهر سبب کاهش طول اندام‌هوایی، عمق ریشه، وزن تر اندام‌هوایی و ریشه شد.

در بین دو رقم گوهر و سیستان، رقم سیستان نسبت به رقم گوهر تاثیرپذیری بیشتری داشته و کاهش صفات رشدی در رقم سیستان محسوس‌تر بود (جدول 2 و 3). در کاربرد همزمان دو فلز مس و سرب بر صفات رشدی بیشترین کاهش در غلظت نهایی هر دو فلز (غلظت 400 میلی‌گرم سولفات مس و 600 میلی‌گرم نیترات سرب) و کمترین اثر در نمونه‌های سولفات مس با افزایش غلظت نیترات سرب از مقدار صفات رشدی کاسته شد (جدول 4).

تحقیقات متعدد نشان داده است که وقتی گیاهان در معرض غلظت‌های بالای فلزات سنگین قرار می‌گیرند وزن تر و خشک و طول بخش‌هوایی و ریشه در آنها کاهش می‌یابد (Cheng and Huang, 2006). فلزات سنگین خسارات قابل‌رویتی نظیر کلروزیس (زردی) و نکروزیس (قهوه‌ای) در برگ‌های گیاهان به‌وجود می‌آورند و باعث کاهش طول و قهوه‌ای شدن ریشه‌ها می‌گردند (Liu, 2008).

اوزونیدو (Ouzounidou, 1995) پیشنهاد کردند که ممانعت فلزات سنگین روی طول ساقه و ریشه و سطح برگ می‌تواند عمدتاً به علت تقسیم غیرمعمول سلول باشد و همچنین ممکن است به ممانعت فلزات از فرایندهای فتوسنتزی و تنفس در

سیستم ساقه و سنتر پروتئین در ریشه بستگی داشته باشد و یا به علت کاهش تقسیم سلول و رشد آن باشد. کاهش رشد ممکن است به دلیل کاهش میزان فتوسنتز باشد، زیرا نشان داده شده است که قرارگیری گیاهان در معرض غلظت‌های بالای فلزات سنگین موجب کاهش میزان فتوسنتز می‌شود. آسیب به فتوسنتز اساساً در اثر کاهش کلروفیل و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها رخ می‌دهد (Ferjani and Chaoui, 2005; Vitoria et al., 2005).

میزان پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر آن است که تاثیر همه تیمارها و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح احتمال 1 درصد بر میزان پرولین معنی‌دار بود به‌جز اثر متقابل سرب و رقم که در سطح 5% معنی‌دار گردید (جدول 1). افزایش فلزات مس و سرب در هر دو رقم سیستان و گوهر سبب افزایش میزان پرولین شد به طوری که در غلظت 400 میلی‌گرم سولفات مس و غلظت 600 میلی‌گرم نیترات سرب، بیشترین میزان پرولین در هر دو رقم مشاهده شد. این افزایش در رقم سیستان نسبت به رقم گوهر در غلظت‌های 300 و 400 میلی‌گرم در گیلوگرم سولفات مس و 600 میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب معنی‌دار بود و در سایر سطوح تفاوتی بین ارقام مشاهده نگردید (شکل 1 و 2). در اثر متقابل مس و سرب بیشترین افزایش پرولین در تیمار 400 سولفات مس و 600 نیترات سرب مشاهده شد (شکل 3).

پرولین یکی از ترکیبات مهم سیستم دفاعی گیاهان در شرایط تنش می‌باشد و به مقدار زیادی در گیاهان آلی دیده می‌شود و به مقدار بسیار بیشتری از سایر آمینو اسیدها در شرایط دارای تنش تجمع پیدا می‌کند. پرولین یک اسید آمینه قابل حل در آب است.

400 میلی گرم سولفات مس و غلظت 600 میلی گرم نیترات سرب بیشترین افزایش پراکسیداسیون لیپیدی مشاهده می شود و این افزایش در رقم سیستان نسبت به رقم گوهر به طور معنی داری بیشتر بود.

مقدار مالون دی آلدئید (MDA) در گیاهان یک شاخص پراکسیداسیون لیپیدها است. ليو (Luo, 1999) گزارش کرد که تحت تیمار با کادمیوم یا سرب، محتوی مالون دی آلدئید در جوانه گندم، دانه رست، برگ ها، اندام هوایی و ریشه ها افزایش یافته و تجمع می یابد.

یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در تنش های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین رخ می دهد، تولید انواع اکسیژن های فعال می باشد که می تواند باعث تخریب عمده غشا، چربی ها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک شود (Garrat et al., 2002). سطح بالای پراکسیداسیون لیپید در مورد گیاهان عالی تحت تنش فلزات سنگین گزارش شده است (Panda and Choudhuty, 2004).

افزایش در مقدار مالون دی آلدئید در دانه رست تربچه طی استرس کادمیوم نیز مشاهده شده است که این نشان دهنده سطح بالای پراکسیداسیون لیپیدی است به عبارتی پراکسیداسیون لیپیدها یک پاسخ غشای سلولی به تنش فلزات است (Halliwell and Gutteridge, 1985). همچنین دیده شده که در غلظت های بالای فلزات سنگین میزان پراکسیداسیون، تجزیه لیپیدهای غشایی، به خصوص غشای کلروپلاستی تحریک می شود (Orcutt et al., 2000).

تجمع پرولین آزاد در پاسخ به فلزات سنگین در میان گیاهان شایع است (Costa and Morel, 1994). گیاه با تجمع پرولین، پلی آمین، ترهالوز، افزایش ذخیره سازی کربوهیدرات ها و پروتئین سازی می تواند در برابر تنش ایجاد شده مقاومت کند (Hong, 2000). پرولین به عنوان یکی از محافظت کننده های غشاها است. به نظر می رسد افزایش میزان پرولین در کاهش اثرات تنش نقش دارد. پرولین تحمل گیاهان به تنش را از طریق مکانیسم هایی مانند تنظیم اسمزی، حفاظت آنزیم ها در برابر دناتورده شدن و تثبیت سنتز پروتئین، افزایش می دهد. تجمع پرولین سبب کاهش اثرات تنش، کاهش اسیدی شدن سلول، در نتیجه تولید $NADP^+$ و حمایت از مسیر اکسیداتیو پنتوز فسفات می شود چون وابسته به $NADP^+$ بوده و توسط NADPH مهار می شود (Kavikishor et al., 2005). همچنین میقاتی و همکاران (Meyghati et al., 2007) طی تحقیقی روی کلزا افزایش میزان پرولین را با افزایش غلظت فلز سنگین مس گزارش نمودند.

نتایج این بررسی نشان داد که اثر سرب و مس و اثر متقابل مس و رقم در سطح احتمال 1% و اثر متقابل سرب و رقم در سطح 5% بر مقدار مالون دی آلدئید معنی دار بود اما اثر رقم و تاثیر متقابل سرب و مس بر این صفت غیر معنی دار گردید (جدول 1). با اندازه گیری مقدار مالون دی آلدئید (شکل 4 و 5) مشخص شد که تنش فلزات مس و سرب سبب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی در هر دو رقم سیستان و گوهر گردیده است. به طوری که در غلظت

جدول 1- تجزیه واریانس دو رقم ماش رشد داده شده تحت فلزات سنگین مس و سرب

Table 1- Analysis of variance for two of mung bean cultivars grown under Cu and Pb heavy metals

منبع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	مجموع مربعات MS					
		وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	طول ریشه Root length	طول اندام هوایی Shoot length	پراکسیداسیون لیپید Lipid peroxidation	پرولین Prolin
Cu مس	3	0.045**	0.22**	5.38**	275.3**	0.00020**	63.04**
Pb سرب	3	0.18**	0.122**	57.82**	115.7**	0.00011**	44.59**
Cultivar رقم	1	0.031**	0.792**	32.08**	981.7**	0.000010n.s	21.68**
مس × رقم Cu × Cultivar	3	0.0076n.s	0.011*	11.42**	58.71**	0.00002**	2.85**
سرب و رقم Pb × Cultivar	3	0.0041n.s	0.0542**	4.72**	58.01**	0.000009*	1.18*
مس × سرب Pb × Cu	9	0.010**	0.027**	4.46**	3.28**	0.0000029n.s	5.38**
Error خطا	64	0.0037	0.0039	1.08	1.121	0.0000027	1.54
C.V (%)		17.90	27.53	25.37	27.30	8.27	16.26

*، ** به ترتیب، معنی‌داری در سطح احتمال 1% و 5%

* and **: Significant at 5 and 1% probability levels

جدول 2- اثر فلز مس و رقم بر برخی صفات رشدی در دو رقم ماش

Table 2- Effect of copper and cultivars on some growth characteristics in two cultivars of mung bean

رقم Cultivar	غلظت فلز مس Cu Concentration (milg/kg soil)	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (g)	طول اندام هوایی Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)
گوهر Gohar	0	0.9±0.019 ^a	0.46 ^a ±28	16.8±0.55 ^a	0.46±0.034 ^a
	150	0.77±0.034 ^b	1.2 ^b ±24.75	16±0.41 ^b	0.47±0.021 ^b
	300	0.72±0.046 ^{bc}	1.32 ^c ±24.16	14.41±0.46 ^{bc}	0.39±0.024 ^{bc}
	400	0.72±0.055 ^c	1.43 ^c ±23.8	14.33±0.39 ^{bc}	0.34±0.031 ^c
سیستان Sistan	0	0.77±0.016 ^a	0.84 ^a ±26.25	14.92±0.81 ^a	0.42±0.046 ^a
	150	0.66±0.014 ^b	0.38 ^b ±16.83	14.20±0.70 ^b	0.38±0.031 ^b
	300	0.54±0.023 ^c	0.41 ^c ±16.75	13.58±0.44 ^c	0.37±0.018 ^c
	400	0.53±0.024 ^d	0.28 ^d ±15.66	13.45±0.39 ^{cd}	0.34±0.016 ^d

جدول 3- اثر فلز سرب و رقم بر برخی صفات رشدی در دو رقم ماش

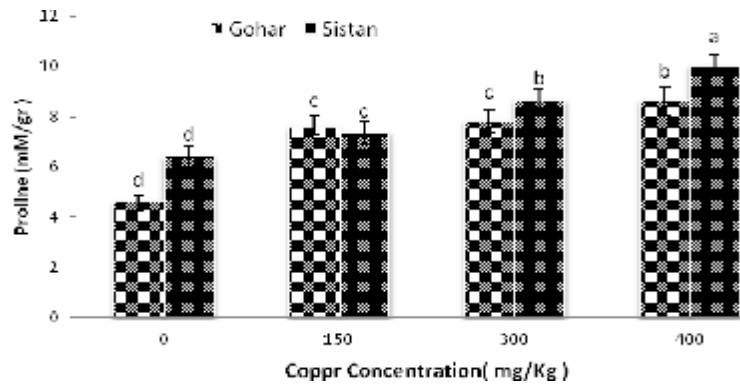
Table 3- Effect of plumbum and cultivars on on some growth characteristics in two cultivars of mung bean

رقم Cultivar	غلظت فلز مس Cu Concentration (milg/kg soil)	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (g)	طول اندام هوایی Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)
گوهر Gohar	0	0.88±0.058 a	28.66±1.58a	16.3±0.56 a	0.49±0.021 a
	200	0.82±0.016 b	26.75±0.33b	16±0.28 b	0.48±0.024 ab
	400	0.79±0.027 b	25.5±0.27 c	15.08±0.28 c	0.38±0.024 c
	600	0.62±0.027 cd	20.16±0.33 d	13.41±0.39 d	0.31±0.024 ab
سیستان Sistan	0	0.69±0.043 a	20.33±0.78 a	16.04±0.37 a	0.49±0.030 a
	200	0.65±0.027 b	19 ± 1.65 b	15.16±0.34 b	0.41±0.016 b
	400	0.60±0.030 c	18.41±1.41 c	13 ±0.56 c	0.34±0.017 c
	600	0.55±0.032 d	17.75±1.44 d	12 ±0.32 cd	0.27±0.014 d

جدول 4- اثر کاربرد همزمان فلز مس و سرب بر برخی صفات رشدی در دو رقم ماش

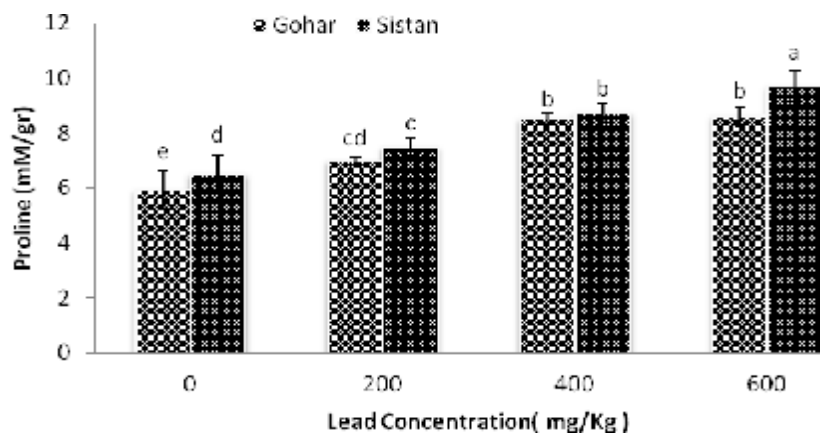
Table 4- Effect of copper and lead on some growth characteristics in two cultivars of mung bean

غلظت فلز مس Cu Concentration (milg/kg soil)	غلظت فلز سرب Pb Concentration (milg/kg soil)	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (g)	طول اندام هوایی Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)
0	0	0.871±0.039 ^a	29.5±1.52 ^a	17.41±0.454 ^a	0.618±0.013 ^a
	200	0.858±0.035 ^{ab}	26±0.619 ^b	15.5±0.71 ^{bc}	0.476±0.031 ^{bc}
	400	0.823±0.035 ^{abc}	25.6±0.33 ^c	13.3±1.3 ^{efgh}	0.38±0.033 ^{defg}
	600	0.795±0.036 ^{bcd}	25.1±0.258 ^c	12.6±0.55 ^{gh}	0.28±0.029 ^h
150	0	0.76±0.023 ^h	23±0.33 ^d	17.08±0.271 ^a	0.511±0.007 ^b
	200	0.71±0.056 ^{de}	22.6±2.54 ^e	16.03±0.42 ^{ab}	0.50±0.024 ^b
	400	0.67±0.057 ^{fgh}	21.5±2.41 ^f	14.16±0.60 ^{def}	0.38±0.033 ^{defg}
	600	0.63±0.056 ^{gh}	18.33±2.18 ^j	13±0.93 ^{fgh}	0.32±0.031 ^{fgh}
300	0	0.741±0.049 ⁱ	22.83±0.47 ^{de}	15.83±0.214 ^b	0.45±0.008 ^{bcd}
	200	0.68±0.030 ^{efg}	21.6±2.38 ^{ef}	15.75±0.401 ^b	0.41±0.027 ^{cde}
	400	0.65±0.063 ^{efg}	21±2.02 ^{fg}	223 ^{cde} ±0.14.5±	0.36±0.028 ^{efg}
	600	0.50±0.065 ^{fgh}	17.16±2.43 ^{jk}	428 ^h ±0.12.5±	0.31±0.024 ^{gh}
400	0	0.72±0.062 ⁱ	20.6±0.51 ^{gh}	15.3±0.307 ^{gh}	0.40±0.019 ^{def}
	200	0.65±0.022 ^{cd}	20.33±2.69 ^h	14.16±0.42 ^{fgh}	0.39±0.032 ^{de}
	400	0.61±0.067 ^{de}	20±2.39 ⁱ	13.8±0.60 ^{gh}	0.32±0.029 ^{fgh}
	600	0.46±0.081 ^h	16±2.42 ^k	12.26±0.42 ^h	0.26±0.027 ^h



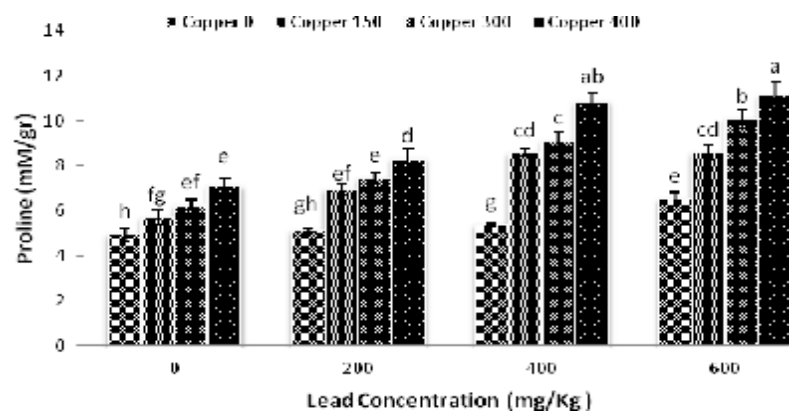
شکل 1- اثر فلز مس و رقم بر میزان پرولین در دو رقم گیاه ماش

Figure 1- Effect of copper and cultivar on proline content in two cultivars of mung bean



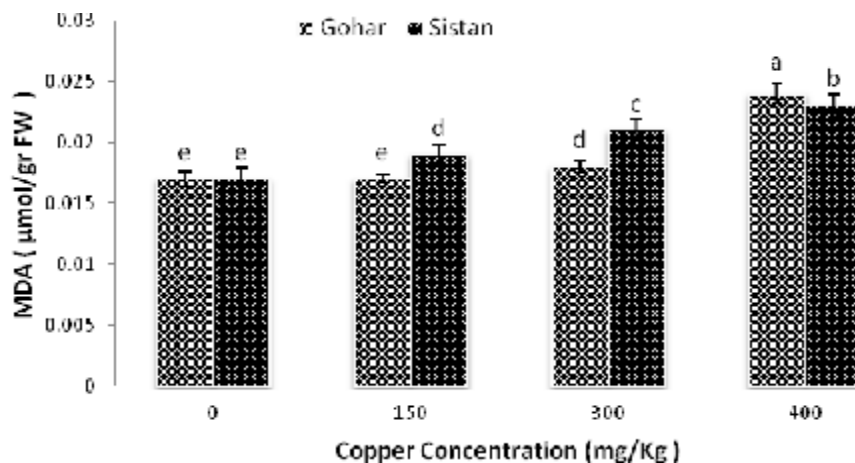
شکل 2- اثر فلز سرب و رقم بر میزان پرولین در دو رقم گیاه ماش

Figure 2- Effect of lead and cultivar on proline content in two cultivars of mung bean



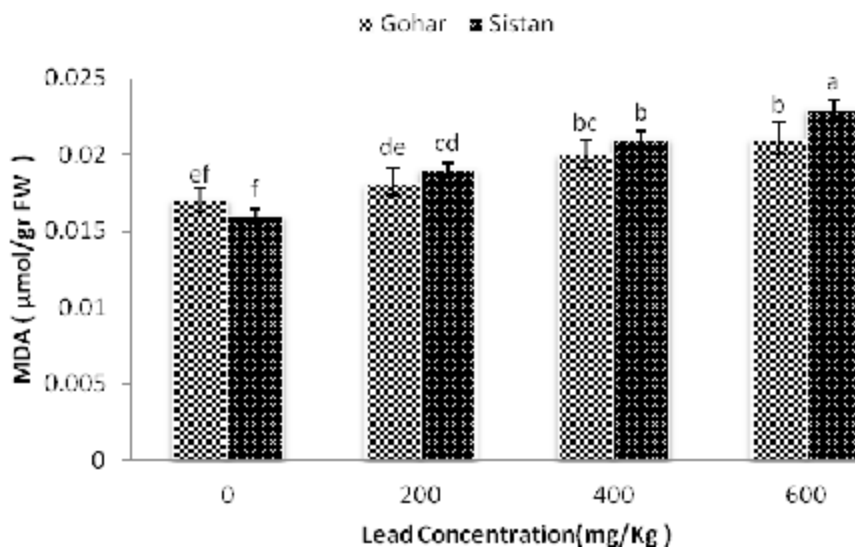
شکل 3- اثر کاربرد همزمان فلز سرب و مس بر میزان پرولین در دو رقم گیاه ماش

Figure 3- Effect of the lead and copper on proline content in two cultivars of mung bean



شکل 4- اثر فلز مس و رقم بر میزان مالون دی آلدئید در دو رقم گیاه ماش

Figure 4- Effect of copper and cultivar on MDA content in two cultivars of mung bean



شکل 5- اثر فلز سرب و رقم بر میزان مالون دی آلدئید در دو رقم گیاه ماش

Figure 5- Effect of lead and cultivar on MDA content in two cultivars of mung bean

References

منابع مورد استفاده

- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39: 205-207.
- Dodwad, I.S., P.M. Salimath, and S.A. Patil. 1998. Evolution of green gram collection for dry matter accumulation and its partitioning. *Legume Research*. 21(3/4): 209-212.
- Ferreira, R.R., R.F. Fornazir, A.P. Vitoria, and P.J. Lea. 2002. Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress. *Journal of Plant Nutrition*. 25: 327-342.
- Gill, S.S., and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48(12): 909-930.
- Halliwell, B., and J.M.C. Gutteridge. 1985. *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press Oxford, pp. 96-98.
- Hare, P., and W. Cress. 1997. Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regul.* 21: 79-102.
- Heath, R.L., and L. Packer. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125(1): 189-98.
- Hong, Z. 2000. Removal of feedback inhibition of delta (1)- pyrroline-5-carboxylate syntheses results in increased peroline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol*. 122: 1129-1136.
- Kiyosue, T., Y. Yoshiba, K. Yamaguchi-Shinozaki, and K. Shinozaki. 1996. Nuclear gene, encoding mitochondrial peroline dehydrogenase, an enzyme involved in peroline metabolism, is upregulated by peroline but down regulated by dehydration in *Arabidopsis*. *Plant cell*. 8: 1323-1335.
- Kuzentsov, V.I., and N.I. Shevykova. 1999. Peroline under stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*. 46: 274-287.
- Liu, D., T.Q. Li, X.F. Jin, X.E. Yang, E. Islam, and Q. Mahmood. 2008. Lead induced changes in the growth and antioxidant metabolism of the lead accumulating and non-accumulating ecotypes. *Sedum Alfredii*. 50(2): 129-140.
- Meyghati, F., M. Ghorbanli, and B. Asadolahi. 2007. The role of inorganic ions and peroline in tolerant two varieties of rape seed (*Brassica napus* L.) copper stress. *Journal of Science Teacher Education*. 7(1):74-83. (In Persian).
- Mobin, M., and N.A. Khan. 2007. Photosynthetic activity pigment composition and antioxidative response of two mustard cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiol*. 164: 601-610.
- Nagajyoti, P.C., K.D. Lee, and T.V.M. Sreekanth. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 8(3): 199-216.

- Orcutt, D.M., and E.T. Nilsen. 2000. The physiology of plant under stress. Soil and biotic factors. Pp. 481-517. Joen Wiley Publishing.
- Ouzounidou, G. 1995. Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion contents in a Cu-tolerant *Koeleriasplendens*. *Biologia Plantarum*. 37: 71-78.
- Paleg, L.G., T.J. Douglas, A. Van Daal, and D.B. Keech. 1981. Peroline, betaine and other organic solutes protect enzymes against heat inactivation. *Australian Journal of Agricultural Research*. 8: 107-114.
- Sytar, O., A. Kumar, D. Latowski, P. Kuczynska, K. Strzałka, and M.N.V. Prasad. 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. 35(4): 985-999.
- Verbruggen, N., and C. Hermans. 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*. 35(4): 753-759.
- Yadav, S.K. 2010. Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany*. 76(2): 167-179.

Archive of SID

Effect of Heavy Metals Cu and Pb on Some Growth Characteristics, Proline Content and Lipid Peroxidation in Two Varieties of Mung Bean (*Vigna radiate*)

Kehstegar, M¹., S.A. Afshar ^{2*}, and S.F. Nematpour²

Received: June 2013, Accepted: 21 September 2014

Abstract

Heavy metal contaminations of agricultural fields, due to use of industrial waste water and excessive application of phosphate fertilizers, has become a major problem. Biological stability in soil for long-term, causes these metals accumulate in food chain and thus potentially affect human health. To investigate the effects of copper and lead on growth parameters, lipid per oxidation, proline content in two cultivars of mung bean, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design. Copper used in three concentrations (0, 150, 300 and 400mg/kg) and Pb in four concentration (0, 200, 400, 600mg/kg). After four weeks, plants grown in contaminated soil were collected and shoot height, root length, fresh weight and dry weight of shoot and root; proline content and lipid per oxidation in leaves were measured. The results showed that copper and lead had negative and toxic effect on the mung bean growth features. Generally with increasing concentrations of Cu and Pb in soil, growth parameters were decreased. Between the two cultivars (Gohar and Sistan), Sistan was affected more than Gohar. Proline content and lipid peroxidation in treated mung bean were increased. Also Sistan cultivar showed more proline content and lipid per oxidation than Gohar.

Key words: Copper, Heavy metals, Lead, Lipid per oxidation, Proline, *Vigna radiate*.

1- MSc of Plant Physiology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.

2- Assistant Professor, Department of biology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.

* Corresponding Author: asafshar@yahoo.com