فصلنامه علمی – پژوهشی گیاه و زیست بوم
سال ۷، شماره ۲۸، پاییز ۱۳۹۰

بررسی تأثیر سمیت روی و سرب بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک گیاه سویا (*Glycine max* L.)

فاطمه نقوی[۱]*، علیرضا ایرانبخش[۲]، احمد مجد[۳]

چکیده

وجود فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی به‌شمار می‌آید، در این تحقیق اثر تیمار های مختلف دو فلز سنگین سرب و روی بر رشد و مقدار کلروفیل و قند و پروتیین بررسی شد. اثر غلظت‌های مختلف ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول روی و ۰/۵، ۲/۵، ۴/۵ و ۶/۵ میلی‌مول سرب بر گیاه سویا مورد مطالعه قرار گرفت. برای این کار ۵ عدد بذر سویا پس از ضدعفونی به گلدان‌های دارای خاک لومی- رسی منتقل شد.درون هر گلدان ۵ عدد بذر کشت داده شد. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد، طول دوره تیمار دهی ۱۴ روز ادامه داشت و نتایج نشان داد که هر دو تنش حاصل از مصرف سرب و روی موجب کاهش وزن زی توده شد. میزان کلروفیل a,b و کلروفیل کل در مقایسه با گیاه شاهد در هر دو تیمار کاهش معنی‌دار را نشان داد. افزایش محتوای قند به جز در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سرب نسبت به گیاه شاهد در سایر غلظت‌ها معنی‌دار بود و در تنش ناشی از مصرف روی این افزایش در همه غلظت ها اثرمعنی‌داری داشت. محتوای پروتیین درگیاهان تحت تیمار با روی و سرب در همه غلظت‌ها افزایش معنی‌دار داشت. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که گیاه سویا مقاومت کمی به تنش روی و مقاومت بیش‌تری نسبت به تنش سرب دارد. به نظر می‌رسد در تنش کوتاه مدت فلز سرب و روی گیاه شدت تنش را با القاء پاسخ‌های سریع کاهش دهد. اما با توجه به تعاریفی که برای گیاهان تحمل کننده فلز سرب و روی وجود دارد به نظر نمی‌رسد بتوان گیاه سویا را از گیاهان تحمل‌کننده به این عناصر سنگین به شمار آورد.

کلمه‌های کلیدی: پروتیین، سرب، روی، قند، کلروفیل، وزن زی توده، *Glycine max*

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی، تهران، ایران
* مسئول مکاتبه. (naghavifm@yahoo.com)
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علی آباد کتول، گروه زیست شناسی، گلستان، ایران
۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه زیست شناسی، تهران، ایران
تاریخ دریافت : زمستان ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: تابستان ۱۳۹۰

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

سویا هم چنین یکی از منابع مهم الیاف گیاهی است. سویا دارای ترکیباتی به نام ایزوفلاون‌ها می‌باشد که از نظر ساختمانی مشابه استروژن‌های طبیعی هستند که به نام فیتواستروژن‌ها نامیده می‌شوند. این ترکیبات دارای اثرات ضد سرطانی بوده و از این نظر دارای اهمیت است. مصرف رژیم دارای سویا در عمل هضم و جذب کمک مؤثر کرده و فیبرهای آن می‌توانند در جلوگیری از یبوست و کاهش عوارض سوءهاضمه نیز مؤثر باشد (Kemin,2007).

روغن سویا غنی از اسیدهای چرب غیر اشباعی و بدون کلسترول است. لوبیای سویا همچنین یک منبع خوب کلسیم، آهن، روی، فسفات، منگنز، ویتامین‌های B و فولات است و بدلیل فراوانی قابلیت دسترسی مشکلی ندارند. هر ۸ اسید آمینه ضروری در لوبیای سویا یافت می‌شود که برای تغذیه انسان‌ها ضروری است و در بدن به صورت طبیعی ساخته نمی‌شود (Kemin,2007).

امروزه افزایش قابل ملاحظه سرب در خاک‌های کشاورزی نزدیک به مناطق صنعتی کاملاً مشهود است. تجمع سرب در سطح خاک بیش‌تر است و غلظت این عنصر با افزایش عمق خاک کاهش می‌یابد و به سهولت توسط گیاه جذب شده و در اندام‌های آن تجمع می‌یابد.

سرب به عنوان یک مسموم کننده پروتوپلاسمی در نظر گرفته می‌شود (Sharma,2005). بازدارندگی نرخ رشد سلول در مرحله طویل شدن، توقف غیر قابل برگشت فعالیت پمپ پروتونی در نتیجه سمیت سرب از عوامل مؤثر در کاهش رشد گیاه ذکر شده است (John,2009). کاهش رشد بخش هوایی و ریشه در پژوهش انجام شده توسط Seyyedi نیز دیده شده است (Seyyedi,1999). افزایش بیوماس گیاه در موارد نادری در نتیجه آلودگی با فلز در برخی مقالات گزارش شده است.

اما این گزارش‌ها حاصل آزمایش غلظت‌های بسیار پائین سرب و سایر فلزات سنگین بوده است (John,2009). روی عنصری حیاتی برای تمامی‌های زنده است. بعضی از عوارض نامطلوب آن عبارتند از مسمومیت، تب، دل آشوبه، تهوع، استفراغ و اسهال متعاقب مصرف نوشیدنی‌های اسیدی یا غذاهایی که در ظروف گالوانیزه تهیه و نگهداری می‌شوند (Laura *et al.*,2010).

روی در غلظت‌های سمی با تأثیر بر آنزیم‌های اصلی درگیر در آسیمیلاسیون آمونیوم و آنزیم نیترات ردوکتاز منجر به کاهش محتوای نیتروژن برگ شده و از آنجا که سنتز کلروفیل به فراهم بودن منابع نیتروژنی وابسته است، درصورت کاهش آسیمیلاسیون نیتروژن در نتیجه سمیت روی، کاهش محتوای کلروفیل رخ می‌دهد (El-Ghamery,2003).

سرب روی محل‌های گیرنده و دهنده الکترون در فتوسیستم II ، کمپلکس سیتوکروم b/f و فتوسیستم I اثر می گذارد. فتوسیستمI نسبت به فتوسیستم II حساسیت کم‌تری به سمیت سرب نشان می‌دهد (Islam *et al.*,2008). سرب همچنین سبب فروپاشی پلی پپتیدهای خارجی کمپلکس آزاد کننده اکسیژن در فتوسیستم II و جابه جایی یون‌های کلسیم، کلر و منگنز از کمپلکس بالا می‌شود. دانشمندان معتقدند کاهش فتوسنتز در اثر استفاده از سرب بیش‌تر درنتیجه بسته شدن روزنه‌هاست تا اثر مستقیم آن بر فرآیند فتوسنتز (Sharma *et al.*, 2004). این احتمال وجود دارد که فلزات سنگین پراکسیداسیون لیپیدها را القاء

www.SID.ir

کرده و قطعه قطعه شدن پروتیین‌ها در نتیجه سمیت رادیکال‌های فعال اکسیژن منجر به کاهش محتوای پروتیین می‌شود (John,2009).

با توجه به مطلب گفته شده و نیز با توجه به اینکه سویا در ایران در سطح بسیار وسیعی کشت می‌شود و به دلیل داشتن پروتیین، لیپید، هیدرات کربن و عناصر معدنی دارای ارزش غذایی بالایی می‌باشد. این مطالعه به بررسی تأثیر فلزات سنگین روی و سرب بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط کشت

در این تحقیق بذرهای گیاه سویا (*Glycine max*) از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج تهیه شد. کلرید روی در ۴ سطح (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌مولار) وکلرید سرب در ۴ سطح (۰/۵، ۲/۵، ۴/۵ و ۶/۵ میلی‌مولار) اعمال شد ۶۰ عدد بذر سالم و یکنواخت، در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد استریل شدند و پس از شستشو شدن به پتری‌های حاوی کاغذ صافی انتقال یافتند در این مرحله تیمارهای مختلف سرب و روی به پتری‌ها اضافه شد (هر تیمار با ۴ تکرار). تعدادی از پتری‌دیش‌ها به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که آب مقطر استریل شده به آنها اضافه شد. برای دستیابی به اهداف مورد نظر در این پژوهش،آزمایش‌ها به طور کلی به ۲ گروه تقسیم‌بندی شدند که عبارتند از:

- بررسی اثر بر برخی از فرآیندهای رشد و تکوین در گیاهانی که درپتری دیش به مدت ۷ روز کشت داده شدند.

- بررسی برخی از فرآیندهای رشد و سنجش‌های بیو شیمیایی در کشت گلدانی.

بذرهای ضدعفونی شده، پس از شستشو شدن به گلدان‌های محتوی خاک لومی- رسی با pH برابر ۶/۸ منتقل شد. گلدان‌ها در روشنایی لامپ‌های فلورسنت و تنگستن (۲۵۰۰۰-۲۰۰۰لوکس) طول دوره روشنایی و تاریکی۸-۱۶ساعت و میزان رطوبت نسبی ۶۰ الی ۷۰ درصد قرار داده شد.و گلدان‌ها با محلول غذایی هو گلند ۱/۲ تغذیه شدند. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد .سپس تیمار دهی شروع شد. طول دوره تیمار دهی ۱۴ روز ادامه داشت. بعد از ۴۵ روزگیاهان برای سنجش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برداشت شدند.

برای سنجش وزن تر،گیاهان بعد از انجام مراحل تیمار دهی برداشت شده و پس از شستشوی بخش زیرزمینی گیاهان با آب مقطر و خشک کردن نمونه‌ها با کاغذ خشک کن به سرعت توزین دانه رست‌ها انجام شد و برای بدست آوردن وزن خشک نمونه‌ها، اندام‌های بالا ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و سپس با ترازو وزن خشک نمونه‌ها توزین شد.

روش سنجش کلروفیل‌ها

برای تعیین غلظت کلروفیل از روش Lichtenthaler & Wellburn (1994) استفاده شد. برای استخراج این رنگیزه، برگ‌ها در استون ۸۰٪ خوب سائیده شد. پس از صاف کردن جذب آن‌ها در طول موج‌های، ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ نانومتر اندازه‌گیری شد و از استون ۸۰٪ نیز به عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری اسپکتروفتومتر استفاده شد. برای انجام محاسبات مربوط به تعیین کلروفیلa، کلروفیلb و کلروفیل کل از روابط زیر استفاده شد:

Archive of SID

www.SID.ir

$Chla=12/25\ A_{663.2} - 2/79\ A_{646.8}$
$Chlb= 21/51\ A_{646.8} - 5/1\ A_{663.2}$
$ChlT = Chla + Chlb$ (کلروفیل کل)

با توجه به حجم عصاره و وزن نمونه‌ها، غلظت کلروفیل‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ($mg\ g^{-1}$ F.W.) قابل اندازه‌گیری است.

روش سنجش پروتیین کل

برای سنجش غلظت پروتیین کل از روش Bradford (1976) استفاده شد.

برای تهیه عصاره پروتیینی ۰/۵ گرم برگ تازه را در۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷/۵) که دارای پلی وینیل پیرولیدین (PVP) ۱٪ و EDTA ۱ میلی‌مولار بود، ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در g ۲۰۰۰۰ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و برای اندازه‌گیری غلظت پروتیین کل،۱۰۰ میکرولیتر از محلول استخراج شده را در یک لوله آزمایش ریخته و به آن۵ میلی‌لیتر معرف براد فورد یا بیوره افزوده و محلول آبی رنگ شد. پس از گذشت حداقل ۲۵ دقیقه از شروع آزمایش جذب نور هر لوله در طول موج ۵۹۵ نانومتر در مقابل شاهد اندازه‌گیری شد. شاهد در این آزمایش با افزودن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر فسفات پتاسیم) به ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد تهیه شد. غلظت پروتیین‌های استخراجی به کمک منحنی استاندارد جذب اندازه‌گیری شد.

سنجش میزان قندهای احیا کننده

در آزمایش انجام شده وجود قندهای احیا کننده در محلول سبب احیاء cu^{2+} بهCu_2O می‌شود. سپس Cu_2O سبب احیاء اسید فسفو مولیبدیک موجود در محیط آز مایش می‌شود که تولید رنگ آبی می‌کند شدت رنگ تولید شده که رابطه مستقیم با مقدار قند احیاءکننده در محلول دارد توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قابل سنجش است.

برای تهیه عصاره گیاهی، ۰/۰۱گرم از بافت خشک برگ و ریشه با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون ساییده شد. سپس مخلوطی از عصاره‌های تهیه شده و ۲ میلی‌لیتر محلول سولفات مس را درلوله آزمایش به مدت ۸ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰درجه سانتی‌گراد حرارت دید و پس از سرد شدن لوله‌ها ۲ میلی‌لیتر اسید فسفو مولیبدیک به آنها افزوده شد. پس از این که رنگ آبی به طور یکنواخت منتشر شود، شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت قند محاسبه شد و برای تنظیم اسپکتروفوتومتر ازمحلولی که به جای عصاره گیاهی شامل آب مقطر و بقیه محلول‌ها بود به عنوان شاهد استفاده شد.

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از جمع آوری و بررسی داده‌های بدست آمده را از راه نرم افزار SPSS مورد بررسی آماری قرار داده تا معنی‌دار بودن اختلاف مشخص شود و نمودارها از راه نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس بدست آمده از آزمایش‌ها نشان داد:

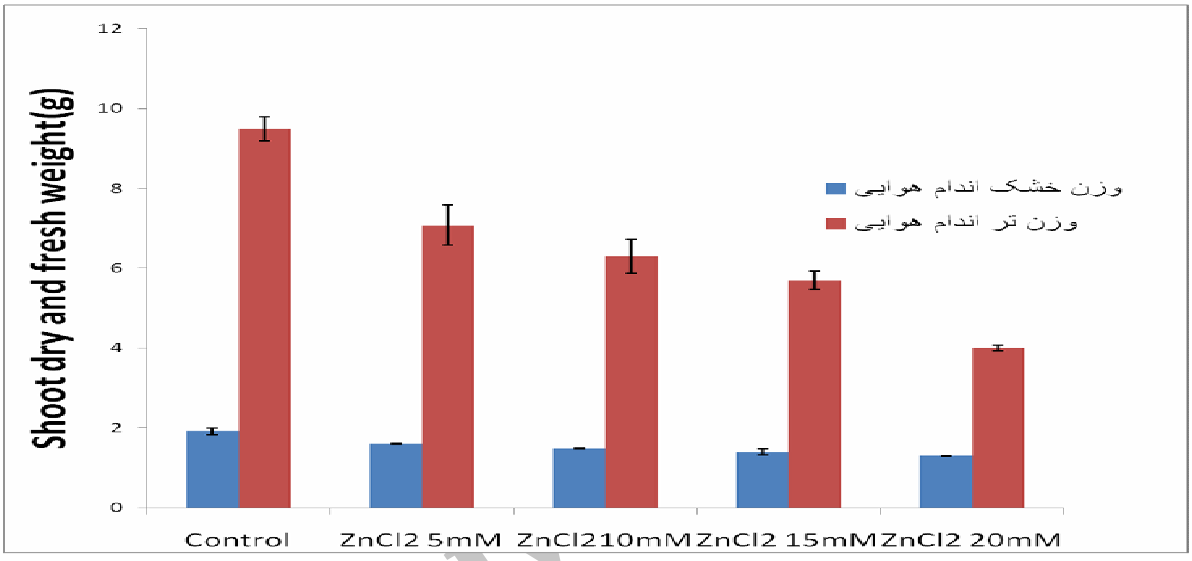
وزن تر اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار کلرید روی در همه غلظت‌ها نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری کاهش معنی‌داری نشان داد و وزن خشک

Archive of SID

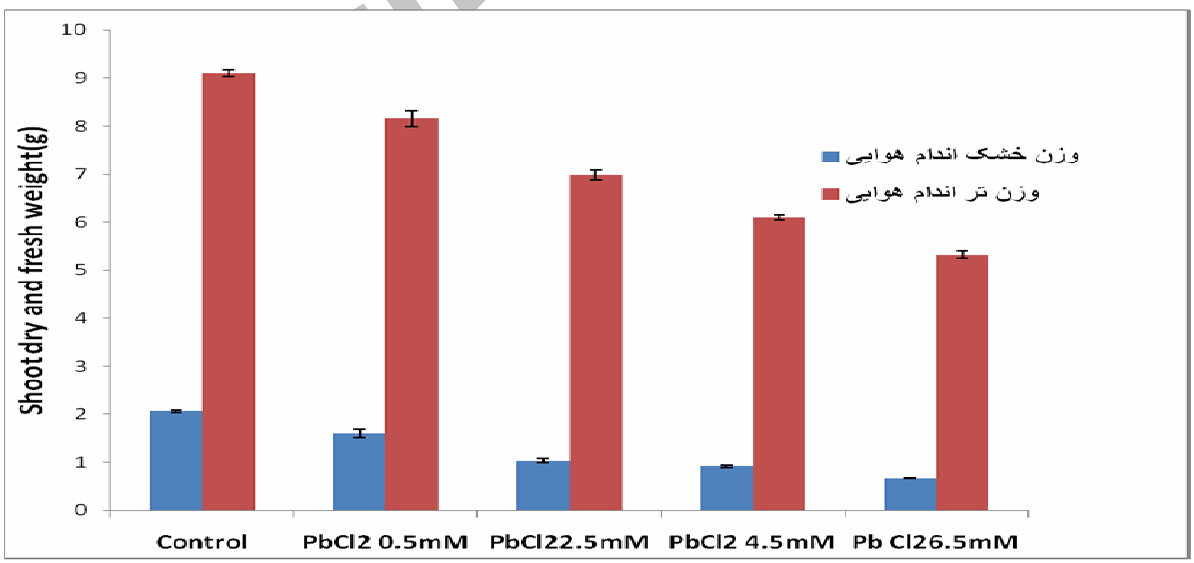
www.SID.ir

اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار با روی کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظت‌ها نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) معنی‌دار بود (نمودار ۱).

وزن تر اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظت‌ها نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) معنی‌دار بود (نمودار۲).



نمودار ۱- اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر وزن خشک و تر اندام هوایی در گیاه سویا

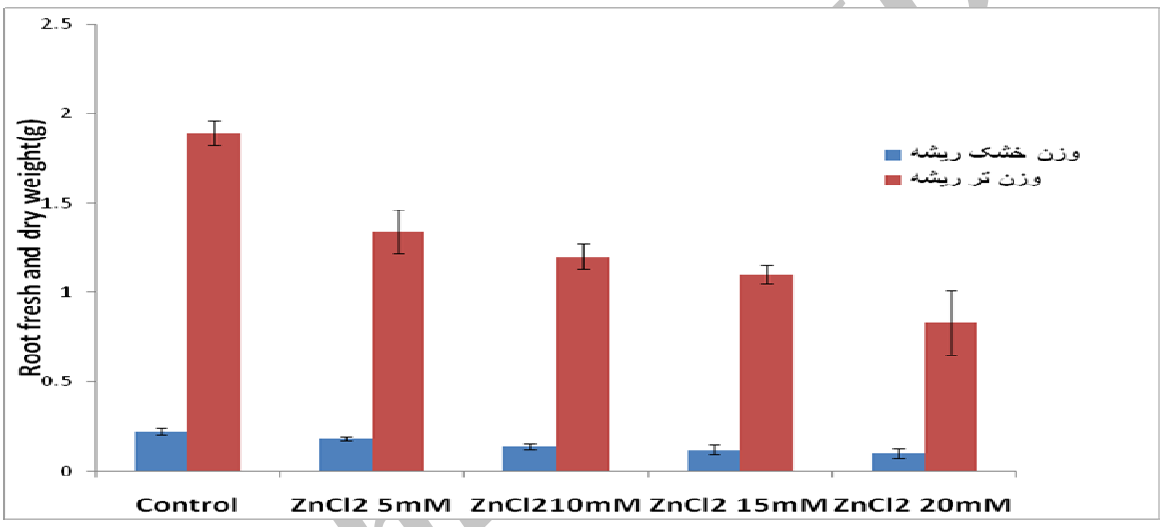


نمودار ۲ - اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بر وزن خشک و تر اندام هوایی در گیاه سویا

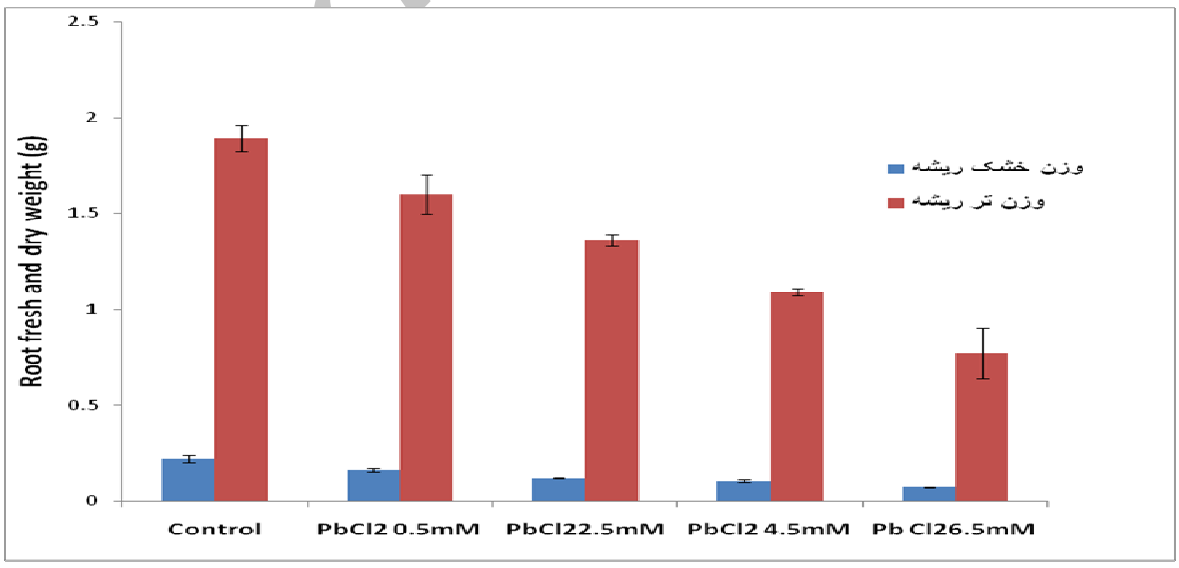
www.SID.ir

همان‌گونه که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود. وزن تر ریشه در گیاهان تحت تیمار با روی در همه غلظت‌ها نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) کاهش معنی‌داری نشان داد. وزن خشک ریشه در گیاهان تحت تیمار با روی نیز کاهش نشان داد که این کاهش در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) معنی‌دار نبود. اما در سایر غلظت‌ها این کاهش معنی‌دار بود (نمودار ۳).

وزن تر ریشه در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کاهش در غلظت ۰/۵میلی‌مولار سرب نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) معنی‌دار نبود. اما در سایر غلظت‌ها این کاهش معنی‌دار بود. وزن خشک ریشه در گیاهان تحت تیمار با سرب در همه غلظت‌ها نسبت به گیاه شاهد کاهش معنی‌دار داشت (نمودار ۴).



نمودار ۳ - اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر وزن خشک و تر ریشه در گیاه سویا



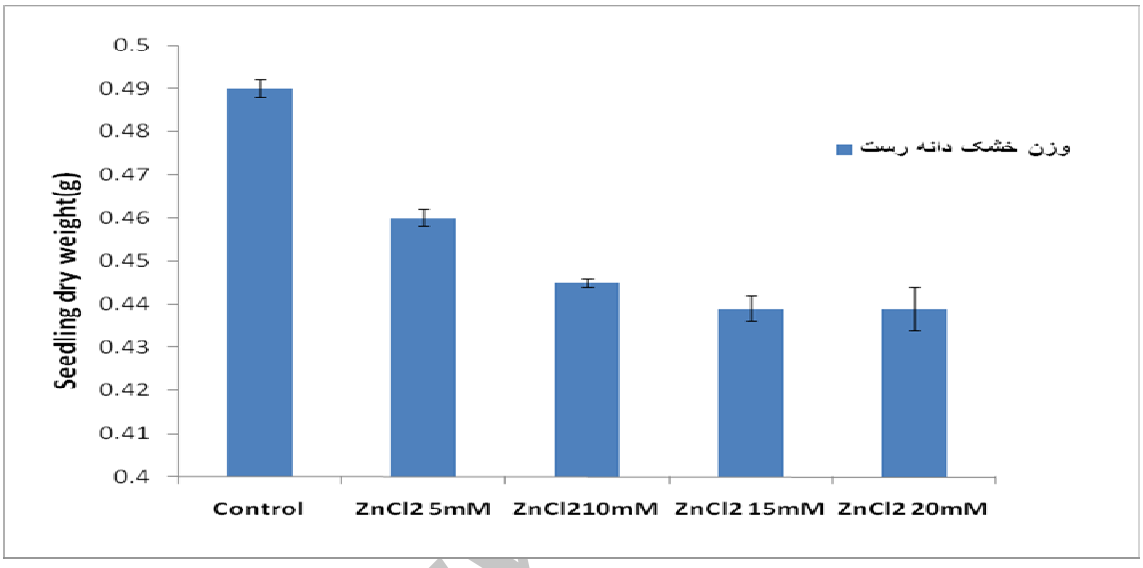
نمودار ٤ - اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بر وزن خشک و تر ریشه در گیاه سویا

www.SID.ir

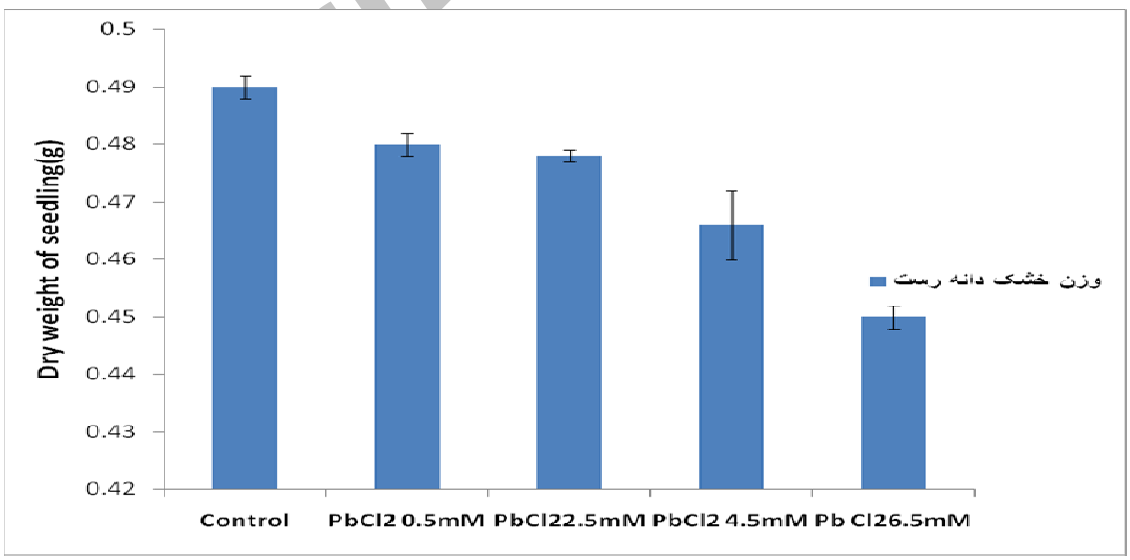
نتایج مربوط به وزن خشک دانه رست‌های ۷ روزه در گیاه سویا در تیمارهای مختلف روی و سرب در (نمودارهای ۵ و ۶) نشان داده شده است.

داده‌ها نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف روی موجب کاهش وزن خشک دانه رست شده است. این کاهش در همه غلظت‌ها نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) معنی‌دار بود (نمودار۵).

وزن خشک دانه رست در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کاهش در غلظت ۰/۵ میلی‌مول نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) معنی‌دار نبود. اما در سایر غلظت‌ها کاهش معنی‌دار بود (نمودار ۶).



نمودار۵ - اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر وزن خشک دانه رست در گیاه سویا



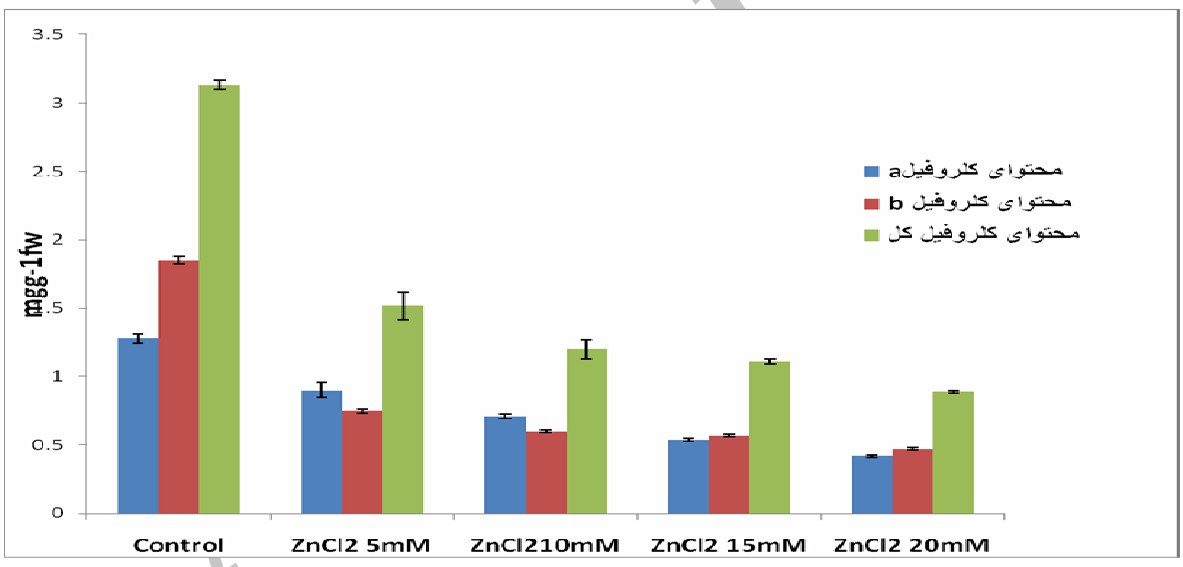
نمودار ٦- اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بر وزن خشک دانه رست در گیاه سویا

www.SID.ir

نتایج مربوط به اثر غلظت‌های مختلف روی و سرب بر کلروفیل a,b و کلروفیل کل در (نمودارهای ۷و ۸) نشان داده شده است. محتوای کلروفیل a در گیاهان تحت تیمار با روی کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود. محتوای کلروفیل b در گیاهان تحت تیمار با روی کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود. محتوای کلروفیل کل در گیاهان تحت تیمار با روی کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود (نمودار ۷).

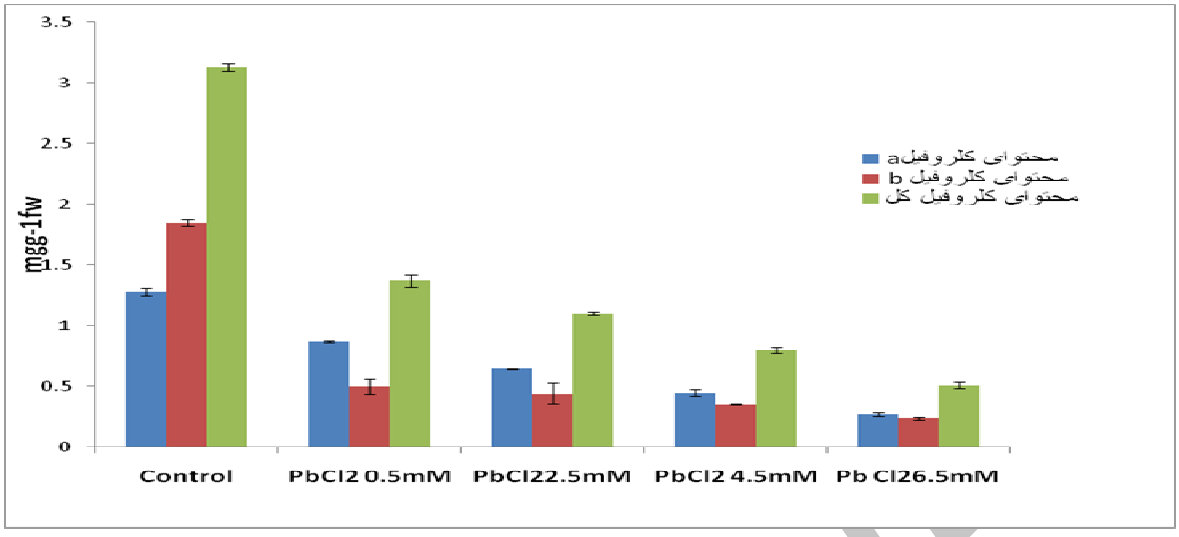
محتوای کلروفیل a در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود. محتوای کلروفیل b در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود. محتوای کلروفیل کل در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود (نمودار ۸).

محتوای کلروفیل کل در گیاهان گیاه شاهد به میزان ۳/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بوده بعد از اعمال تیمار کلرید سرب و کلرید روی به ترتیب ۰/۵۱ و ۰/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کاهش یافت.



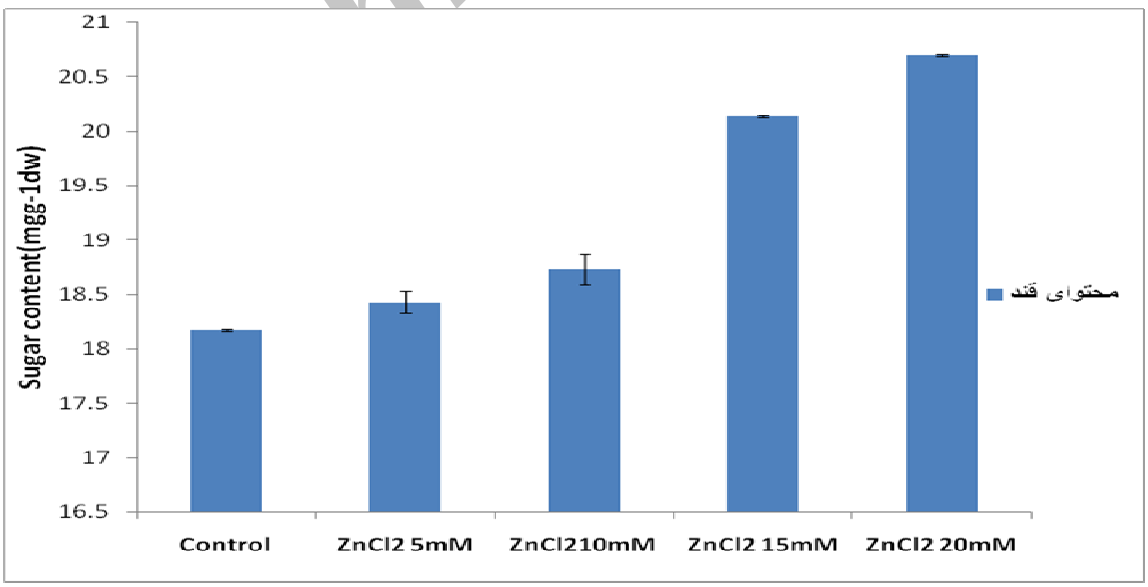
نمودار۷- اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر محتوای کلروفیل a,b و کلروفیل کل در گیاه سویا

www.SID.ir



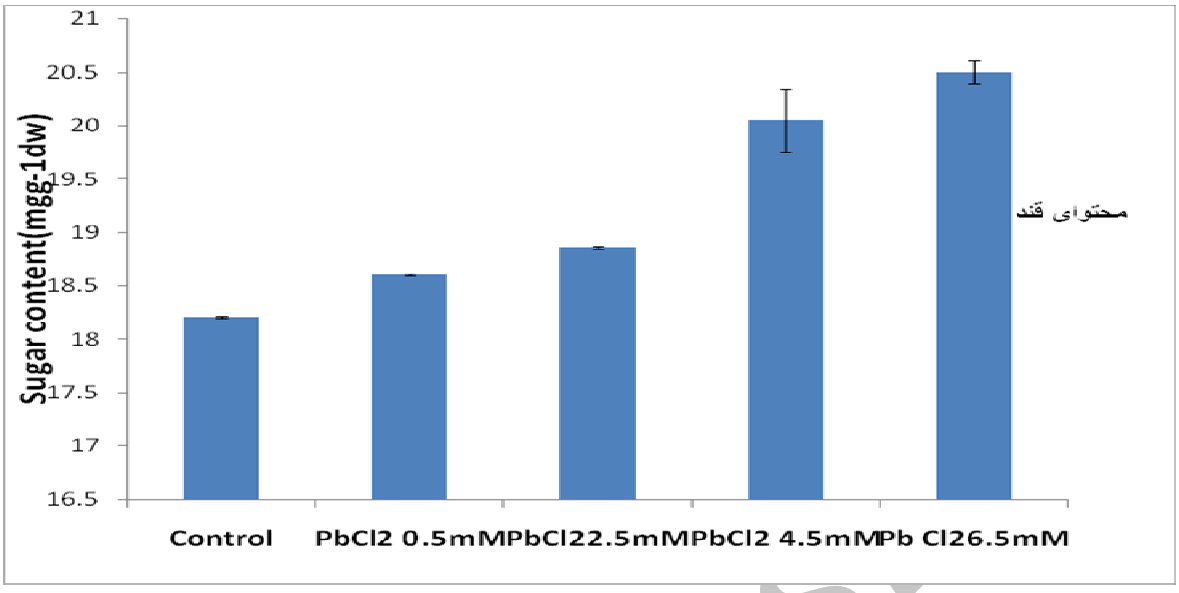
نمودار۸- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر محتوای کلروفیل a,b و کلروفیل کل در گیاه سویا

نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری اثر غلظت‌های مختلف روی و سرب بر محتوای قند در نمودارهای ۹ و ۱۰ نشان داده شده است. محتوای قند در گیاهان تحت تیمار با روی افزایش نشان داد که این افزایش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود. محتوای قند در گیاهان تحت تیمار با سرب افزایش نشان داد که این افزایش در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) معنی‌دار نبود. اما در سایر غلظت‌ها معنی‌دار بود. محتوای قند از ۱۸/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در نمونه گیاه شاهد به ۲۰/۵ و ۲۰/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در تیمار کلرید سرب و روی به ترتیب رسیده است.



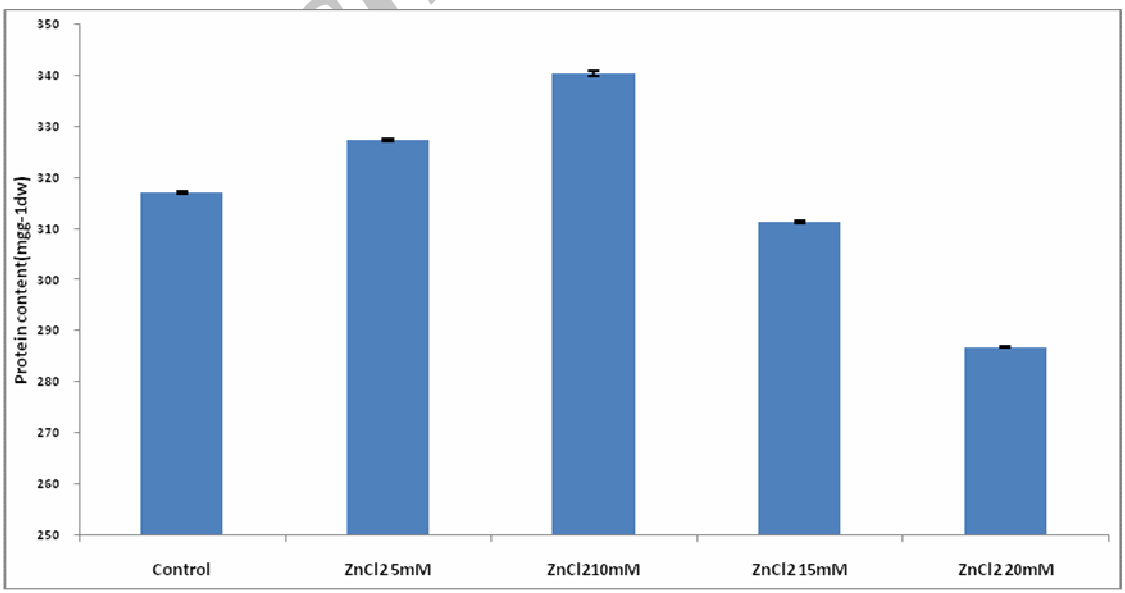
نمودار۹- اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر محتوای قند در گیاه سویا

www.SID.ir



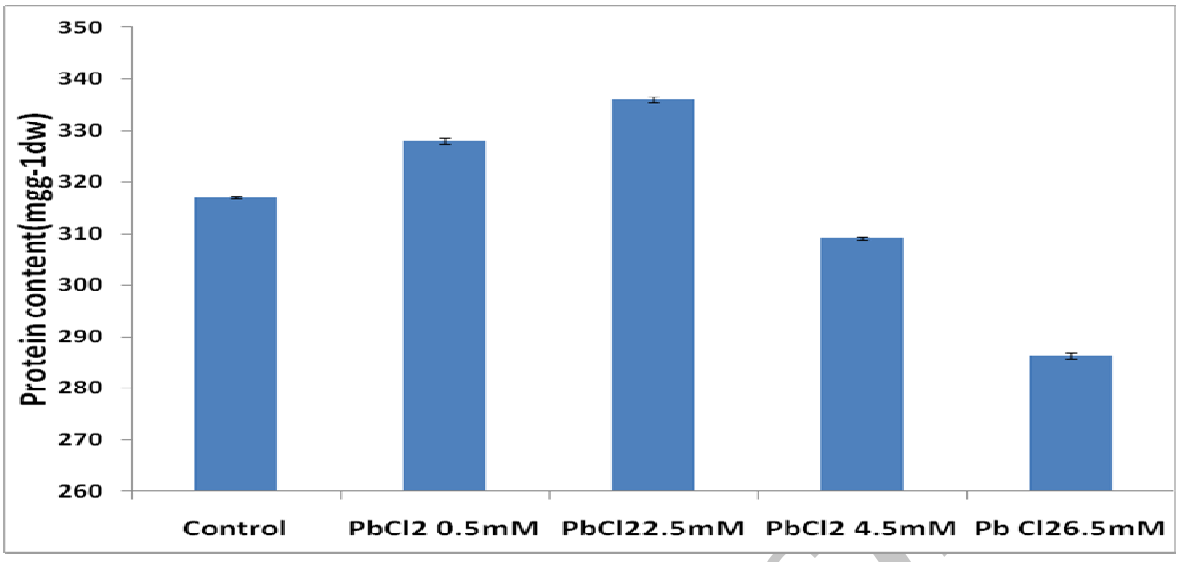
نمودار ۱۰- اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بر محتوای قند در گیاه سویا

نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری اثر غلظت‌های مختلف روی و سرب بر محتوای پروتیین در (نمودارهای ۱۱ و ۱۲) نشان داده شده است. محتوای پروتیین در گیاهان تحت تیمار با روی افزایش نشان داد که این افزایش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود. محتوای پروتیین در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز افزایش نشان داد که این افزایش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود. افزایش میزان بالا در گیاهان تیمار شده با روی بیش از سرب بوده است. محتوای پروتیین در گیاهان شاهد از ۳۱۶/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به ۱۸۶/۳ و ۱۸۶/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به ترتیب در تیمار سرب و روی کاهش نشان داد.



نمودار ۱۱- اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر محتوای پروتیین در گیاه سویا

www.SID.ir



نمودار۱۲- اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بر محتوای پروتیین در گیاه سویا

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش John *et al* (2009) در گیاه کلزا کاهش رشد گیاه را در نتیجه تنش سمیت سرب تأیید می‌کند. کاهش رشد گیاه در نتیجه کاهش پتانسیل آبی، جلوگیری از جذب مواد مغذی و تنش‌های ثانویه‌ای چون تنش اکسیداتیو می‌باشد. علاوه بر آن سرب آرایش میکروتوبول‌ها را در سلول‌های مریستمی به هم می‌ریزد که خود مانعی برای رشد بشمار می‌آید (Eun, 2000). بررسی‌ها نشان داده است که در بخش‌هایی از دیواره که ضخامت کم‌تری دارد مانند محل پلاسمودسماتا حجم بیش‌تری از سرب تجمع می‌یابد. بنابراین پی می‌بریم سرب انباشته شده روی دیواره موجب بروز شکاف در دیواره شده و قدرت ارتجاعی و الاستیکی دیواره را به شدت کاهش می‌دهد و این پدیده موجب توقف رشد سلول و به دنبال آن توقف رشد اندام می‌شود (Ruley, 2006). در برخی موارد علت کاهش رشد به دلیل اثرات فلزات سنگین بر متابولیسم و انتقال اکسین ذکر شده است (Israr, 2008).

در پژوهش حاضر وزن تر و خشک ریشه به دلیل مسمومیت با سرب و توقف رشد کاهش یافت. اثر کاهش بیوماس ریشه و رشد آن در اثر مسمومیت با سرب در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است. البته در مورد خاص ذرت افزایش وزن خشک در نتیجه افزایش سنتز پلی ساکاریدهای دیواره سلولی در اثر سمیت سرب دیده شده است (Sharma, 2005) که مغایر با نتایج این پژوهش است.

باز دارندگی نرخ رشد سلول در مرحله طویل شدن، توقف غیر قابل برگشت فعالیت پمپ پروتونی در نتیجه سمیت سرب از عوامل مؤثر در کاهش رشد گیاه گفته شده است. کاهش رشد بخش هوایی و ریشه در آزمایش‌های انجام شده توسط Seyyedi نیز دیده شده است. افزایش بیوماس گیاه در موارد نادری در نتیجه آلودگی با فلز در برخی مقالات گزارش شده است. اما این گزارش‌ها حاصل آزمایش

Archive of SID
www.SID.ir

غلظت‌های بسیار پایین سرب و سایر فلزات سنگین بوده است (John, 2009).

نتایج (Jiang, 2010) بر روی دانه رست‌های گیاه آبزی لویی (Luffa cylindrical) نشان داد که تا غلظت ۱۰۰µM سرب تغییر معنی‌داری در وزن تر دانه‌رست‌ها نسبت به گیاه شاهد مشهود نبود. اما در غلظت‌های بالاتر (۲۰۰µM و ۳۰۰µM) رشد ریشه و اندام هوایی تا ۴۴/۸٪ کاهش نشان داده است.

مطالعه‌های Stoyanova & Doncheva (2002) بر روی گیاه نخود نشان داد که غلظت کم فلز روی با افزایش میزان نیتروژن در ریشه‌ها و ساقه‌ها موجب افزایش رشد این اندام‌ها می‌شود. علی رغم نقش بسیار مهم روی در ساختار و راه اندازی بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه، مشابه با سایر فلزات سنگین تمرکز بالای این فلز در خاک و در گیاه سبب بروز برخی علایم ناشی از تنش و عدم رشد طبیعی گیاهان می‌شود.

بر اساس گزارش‌ها، مقادیر بالای فلز روی سبب مهار بسیاری از فعالیت‌های متابولیکی در گیاهان می‌شود (Rout,2003).

نتایج Murakami et *al* (2009) در گیاه سویا و ذرت تحت تیمار روی و سرب کاهش وزن تر ریشه و ساقه گیاه را تأیید کرد. در این تحقیق کاهش رشد در ذرت بیش‌تر از سویا بود. کاهش همه پارامترهای رشد در آزمایش‌های انجام شده توسط (Stoyanova ,2002) در گیاه نخود فرنگی نیز در تأیید نتایج این تحقیق است. توقف رشد گیاه و کلروز در برگ‌ها در اثر سمیت روی در گیاه داتوره (Vaillant, 2005)، کلزا (Parasad, 1999) و خردل (Wang, 2009) گزارش شده است.

در پژوهش حاضر افزایش غلظت سرب و روی منجر به کاهش محتوای کلروفیل گیاه سویا شد. که با نتایج (John *etal.*,2009)، (Jiang ,2010) ، (Wang *et al.*, 2009)،(Prassad, 1999) برابری دارد و با نتایج (زارع و همکاران،۱۳۸۶) مغایرت دارد.

محتوای کلروفیل پارامتری است که به سمیت فلزات سنگین حساس است. در گیاه سویا تحت تأثیر تنش سرب و روی محتوای کلروفیل برگ کاهش معنی‌داری نشان داد. ثابت شده است که اثرات شدید فلز سنگین بر فتوسنتز در چند سطح می‌باشد و یکی از این سطوح نقص در بیوسنتز کلروفیل است. به گزارش (John *et al.*, 2009) کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تنش سرب در نتیجه توقف فعالیت آنزیم‌های مهمی چون δ- آمینولوولنیک اسید دهیدراتاز و پروتوکلروفیلید ردوکتاز است که در بیوسنتز کلروفیل نقش دارند. کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان آبزی تحت تنش سرب نیز مشاهده شده است. در آزمایش (Jiang, 2010) بر گیاه لویی کاهش معنی دار کلروفیل تا ۳۶٪ گزارش شده است که با نتایج حاصل از این مطالعه برابری دارد. به گزارش (Prassad,1999) آنزیم‌های کلیدی در بیوسنتز کلروفیل مثل δ آمینو لوولینات دهیدروژناز تحت تاثیر سرب متوقف می‌شود.

سرب سبب توقف سنتز کلروفیل از راه آسیب به جذب عناصر ضروری Mg و Fe توسط گیاه می‌شود. سرب جهاز فتوسنتزی را از راه ترکیب با لیگاندهای S و N پروتیینی تخریب می‌کند. افزایش تجزیه کلروفیل در نتیجه افزایش فعالیت کلروفیلاز در سمیت سرب از دیگر دلائل کاهش محتوای کلروفیل در اثر سمیت سرب است (Sharma,2005).

نتایج زارع و همکاران (۱۳۸۶) نشان داد غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار روی موجب افزایش مختصری در میزان کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

افزایش در محتوای کلروفیل در حضور فلز روی می‌تواند حاکی از نقش عملکردی این فلز در فعال سازی پروتیین سنتتازهای مسیر بیوسنتز کلروفیل و نیز برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در مسیر نگهداری از تخریب کلروفیل توسط رادیکال‌های فعال اکسیژن باشد که در تقابل با نتایج به دست آمده از این تحقیق است (زارع، ۱۳۸۶).

نتایج تحقیقات Wang *et al* (2009) نشان داد روی اضافی (۱/۱ mM) منجر به کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل شد.

گزارش‌های اخیر نشان داده است روی از راه به هم ریختن آرایش کلروپلاست‌ها و کاهش تعداد گرانا و تیلاکوئیدها و جانشینی روی به جای منگنز در غشاء تیلاکوئیدها سبب تغییر نسبت اتم روی به منگنز شده و کاهش محتوای کلروفیل را القاء می‌کند (Jiang, 2010).

نتایج (Artetxe *et al.*, 2002) نیز نتایج این تحقیق را تأیید می‌کند. روی در غلظت‌های سمی با تأثیر بر آنزیم‌های اصلی درگیر در آسیمیلاسیون آمونیوم و آنزیم نیترات ردوکتاز منجر به کاهش محتوای نیتروژن برگ شده و از آنجا که سنتز کلروفیل به فراهم بودن منابع نیتروژنی وابسته است، درصورت کاهش آسیمیلاسیون نیتروژن در نتیجه سمیت روی،کاهش محتوای کلروفیل رخ می‌دهد (El-Ghamery,2003).

در این پژوهش غلظت‌های سرب و روی بر محتوای قند در گیاه سویا اثر قابل توجهی داشته و سبب افزایش آن شده است. سرب با کاهش انتقال آب به برگ‌ها در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیک از جمله متابولیسم قندها می‌شود. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال تجمع فلز سرب در سلول محتوای قند افزایش می‌یابد (Dwived, 2005).

افزایش معنی‌دار قندهای محلول در ریشه ممکن است در اثر تجمع قندهای محلول حاصل از تجزیه نشاسته باشد که بخصوص در مراحل اولیه رشد دانه رست‌ها، نشاسته موجود در دانه بر اثر فعالیت آمیلازها تجزیه شده به ریشه و اندام هوایی رسیده و مصرف می‌شود. بطوری‌که مطالعه حاضر نشان می‌دهد، افزایش قندهای محلول، در شرایط تنش‌زا بعنوان یک مکانیسم تحمل، در برابر تنش است و درواقع سبب تنظیم پتانسیل آب سلول در بخش سیتوزول، برای مقابله با غلظت بالای یون‌های جذب شده و تجمع یافته درواکوئل، می‌شود (Dwived, 2005).

افزایش فعالیت آنزیم‌های اینورتاز و سوکروز سنتاز که دو آنزیم دخیل در شکست ساکارز به قندهای احیا کننده در سیتوزول و واکوئل می‌باشند، سبب کاهش قند غیر احیاء کننده و میزان ساکارز در دسترس سلول‌ها می‌شود. سوکروز سنتاز آنزیمی است که شکست ساکارز را در دیواره سلولی و واکوئل کاتالیز می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها و تجمع قندهای احیاء کننده در شرایط تنش ممکن است در تنظیم اسمولاریته درون سلولی و حفاظت غشاء و مولکول‌های زیستی اهمیت دارد (Dwived,2005). دیده شده که افزایش قند محلول در اندام‌های هوایی به شدت ریشه نبوده است. تغییرات کم‌تر قندهای محلول در اندام هوایی نیز نشانگر مسمومیت بیش‌تر ریشه با سرب نسبت به اندام هوایی است.

Archive of SID

www.SID.ir

عدم افزایش قند در اندام هوایی می‌تواند به این دلیل باشد که مقدار کم‌تری سرب در اندام‌های هوایی تجمع یافته است.

پس ازاعمال تیمار کلرید روی غلظت کربوهیدرات‌ها در گیاه افزایش نشان داد. علت این افزایش ممکن است بسته شدن روزنه‌ها، آسیب به ساختمان کلروپلاست، کاهش غلظت رنگیزه‌ها، اختلالات آنزیمی و عدم تعادل درروابط آبی، آسیب شدید به دستگاه فتوسنتزی گیاهان می‌باشد (Parassad, 1999). تغییر سطح کربوهیدرات‌ها یکی از واکنش‌های گیاه به تنش‌های محیطی ازجمله فلز روی بشمار می‌آید. مشخص شده است که به دنبال کاهش میزان انتقال آب به برگ‌ها و تجمع عنصر روی در سلول، میزان‌ها در برگ‌ها افزایش می‌یابد. در واقع این یک نوع مکانیسم تطابقی و سازگار یافته برای حفظ و نگهداری پتانسیل اسمزی تحت تنش روی می‌باشد (Dwived,2005).

در پژوهش حاضر با افزایش غلظت سرب در محلول غذایی، مقدار پروتیین تا غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سرب نسبت به گیاه شاهد افزایش معنی‌داری یافت اما پس ازآن تا غلظت ۶/۵ میلی‌مولار کاهش نشان می‌دهد.

افزایش محتوای پروتیین کل در تنش فلزات سنگین در آزمایش (John *et al.*, 2009) دیده شده است که برابر با نتایج این تحقیق است. تنش در مرحله اول سبب القاء پروتیین‌های مختلف از جمله آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌شود اما در مراحل بعد و یا در غلظت‌های بالای سرب به دلیل تجزیه پروتیین‌ها در شرایط تنش محتوای پروتیین کاهش می‌یابد. از طرفی برخی دیگر از پروتیین‌ها مانند پروتیین‌های غشایی و دیواره‌ای به دلیل نشت سرب بر دیواره و آسیب کانال‌های یونی غشاءها کاهش می‌یابند. این احتمال وجود دارد که فلزات سنگین پراکسیداسیون لیپیدها را القا کرده و قطعه قطعه شدن پروتیین‌ها در نتیجه سمیت رادیکال‌های فعال اکسیژن منجر به کاهش محتوای پروتئین می‌شود (John,2009). کاهش در محتوای پروتیین در مطالعه Singh & Sinha (2005) در گیاه B. juncea دیده شده است که مغایر با نتایج این تحقیق است.

برخی محققان علت کاهش مقدار پروتیین برگ در غلظت بالای سرب را جلوگیری از فعالیت نیترات ردوکتاز دانسته‌اند. Singh *et al* (1997) کاهش میزان پروتیین را به علت کاهش جذب روی و منیزیوم در حضور سرب عنوان کردند.

محتوای پروتیین در این آزمایش در ابتدا تا غلظت ۱۰ میلی‌مولار روی به شکل معنی‌دار افزایش و بعد از آن به شکل معنی‌دار کاهش می‌یابد. دانشمندان معتقدند که در پاسخ به تنش فلز سنگین سرب پروتیین‌های تنشی از خانواده چاپرون و پروتیین‌های تنش کوچک (small hsp) سنتز شده و سبب افزایش محتوای پروتیین کل می‌شود. پروتیین‌های تنش حرارت برای مهار و جبران خسارت وارده به پروتیین‌های سلولی حاصل از تنش فلز سرب القاء شده و می‌توانند نقش حفاظتی در غشاء سلول داشته باشند. ممکن است سنتز فیتوکلاتین‌ها از دلایل دیگر افزایش محتوای پروتیین کل در تنش سرب و روی باشد (Baralkiewicz, 2002).

روی به عنوان کوفاکتور آنزیم RNA پلیمراز نقش اساسی در سنتز پروتیین‌ها دارد. اثر اصلی روی در افزایش متابولیسم پروتیین‌ها اثر آن در ثبات و عملکرد مواد ژنتیکی می‌باشد. قرار گرفتن گیاه در معرض‌های محیطی مانند حرارت بالا، شوری، خشکی و فلزات سنگین سبب می‌شود که گیاه شروع

Archive of SID

www.SID.ir

به سنتز پروتیین‌هایی بنام پروتیین‌های شوک گرمایی (HSPS) که به آنها پروتیین‌های تنشی نیزگفته می‌شود. (2004) Rion با مطالعه سلول‌های ریشه گیاهان مسموم شده با روی مشخص شده است که در این سلول‌ها سیتوپلاسم ساختار خود را از دست داده، بیش‌تر اندامک‌ها از بین رفته که این موجب سنتز بیش‌تر برخی پروتیین‌های مقاوم در برابر فلزات سنگین در گیاه می‌شود (Stresty,1999). افزایش پروتیین در غشاهای سلولی نقش حفاظتی مهمی را برای گیاه دارد. کاهش مختصر میزان پروتیین‌ها در غلظت‌های بالای یون روی می‌تواند بعلت کاهش در سنتز برخی از پروتیین‌ها و یا افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌های پروتئولیتیک در اثر القای تنش اکسیداتیو در گیاه باشد. رادیکال‌های فعال ناشی از تنش اکسیداتیو نیز ممکن است به پروتیین‌ها حمله برده و در آمینواسیدها تغییراتی ایجاد کند و یا سبب قطعه قطعه شدن زنجیره پپتیدی و اجتماع محصولات واکنش اتصال متقاطع بین قطعات شوند و از این راه بار الکتریکی را تغییر داده و حساسیت به آنزیم‌های پروتئولیز را افزایش دهند (زارع، ۱۳۸۶).

منابع

زارع‌ده آبادی،س.، ز.اسرار، و م.مهربانی. ۱۳۸۶ اثر فلز روی بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه نعناع خوراکی، مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۰، شماره ۳، صفحه‌های ۲۴۱-۲۳۰

Artetxe,U., J.I.García-Plazaola, A.Hernández, and J.Becerril. 2002. Low light grown duckweed plants are more protected against the toxicity induced by Zn and Cd. Plant Physiol. Biochem. 40: 859–863

Baralkiewicz.D.,and A.Malecka. 2002. Accumulation and detoxification of lead ions inlegumes. Phytochemistry. 60:153-162

Bradford,M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annal. Bioch., 72: 225-260

Dwived,P. 2005. Physiology of abiotic stress in plants. Published by AGROBIOS. India

El-Ghamery,A.A., M.A.El-Kholy, and M.A.El-Yousser. 2003. Evaluation of cytological effects of Zn2+ in relation to germination and root growth of Nigella sativa L. and Triticum aestivum L. Mutation Research 537 : 29–41

Eun,S.O., H.S.Youn, and Y.Lee. 2000. Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of Zea mays. Physiol. Plant. 103: 695-702

Israr,M., and V.Shivendra. 2008. Promising role of plant hormones in translocation of lead in Sesbania drummondii shoots Environmental Pollution 153: 29-36

Islam,E., D.Liu, T.Li, X.Yang, and X.Jin. 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of Elsholtzia argyi. Journal of Hazardous Materials. 154: 914–926

Archive of SID

www.SID.ir

Jiang,N., X.Luo, J.Zeng, Z.R.Yang, S.T.ZHENGLH & Wang. 2010. Lead toxicity induced growth and antioxidant responses in Luffa cylindrica seedlings. Int. J. Agric. Biol., 12: 205–210

John,R., P.Ahmad, K.Gadgil, and S.Sharma, 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by Brassica juncea L. International Journal of Plant Production. 3 (3): 65-75

Kemin,LM., M.Guodong, L.Guofeng , W.Wencheng, L.Lihong, Y.Ping, and L.Yanna. 2007. Effects of soybean isoflavone dosage and exercise on the serum Asia Pac J Clin Nutr .16:193-195.

Laura,M., Plum, Lothar Rink and Hajo Haase. 2010. The essential toxin: Impact of Zinc on human health. Int. J. Environ. Res. Public Health, 7, 1342-1365

Lichtenthaler,K.H. 1994. Chlorophyll and carotenoids pigments of photosynthetic biomembrances. Methods in Enzymology. 148: 350–382

Murakami,M., and N.Ae. 2009. Potential for phytoextraction of copper, lead, and zinc by rice (Oryza sativa L.), soybean (Glycine max [L.] Merr.), and maize (Zea mays L.) Journal of Hazardous Materials 162 : 1185–1192

Parassad,K., P.P.Saradhi, and P.Sharmila. 1999. Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in Brassica juncea. Environmental and Experimental Botany. 42: 1-10

Rion,B., and J.Alloway. 2004. Fundamental aspects of Zinc in soils and plants. International Zinc Association 1-128

Rout,G.R., and P.Das. 2003. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism; Zinc. Agronomy and soil science. 23: 3–11

Ruley,A.T., N.C.Sharma, S.V.Sahi, S.R.Singh, and K.S.Sajwan. 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in Sesbania drummondii grown in soil. Environmental Pollution 144, 11e18

Seyyedi,M., M.P.Timko and C.Sundqvist. 1999. Protochlorophyllide, POR and chlorophyll formation in the lip1 mutant of pea. Physiol. Plant 106: 344-354

Sharma,P., and R.S.Dubey. 2004. Ascorbate peroxidase from rice seedlinds: properties of enzyme isoforms, effect of stresses and protective roles of osmolytes. Plant Sci. 167:541-550

Sharma,P., and R.S.Dubey. 2005. Lead toxicity in plants. Braz.J. Plant Physiol.17 (1): 35-52

Singh,S., and S.Sinha. 2005. Accumulation of metals and its effects in Brassica juncea(L.) Czern. (cv. Rohini) grown on various amendments of tannery waste. Ecotoxicol. Environ. Safety 62: 118-127

Singh,R.P., R.D.Tripathi, S.K.Sinha, R.Maheshwari, and H.S.Srivastava. 1997. Response of higher plants to lead contaminated environmentChemosphere 34 2467-2493.

Archive of SID

www.SID.ir

Somogi ,M. 1952. Notes on suger determination.Journal of biological chemistery. 195:19-29

Stoyanova,Z., and S.Doncheva. 2002. The effect of zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in pea plant. Braz. J. Plant Physiol., 14(2):111-116

Stresty,T.V.S., A.Madhava, and K.V.Rao. 1999. Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cells of pigeonpia. Environmental and Experimental Botany. 41: 3–13

Vaillant,N., F.Monnet, A.Hitmi, H.Sallanon, and A.Coudret. 2005. Comparative study of responses in four Datura species to a zinc stress. Chemosphere 59. 1005– 1013

Wang,C., S.Zhang, P.Fang, P.Wang, J.Hou, and W.Zhang. 2009. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. Chemosphere 75: 1468–1476

Archive of SID

www.SID.ir