



مجله پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد نوزدهم، شماره اول، ۱۳۹۱

<http://jopp.gau.ac.ir>

## اثرات بیشبود آهن در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و الگوی الکتروفورزی

### پروتئین‌ها در گیاه برنج رقم شفق

پویان مهربان<sup>۱</sup> و \*احمد عبدالزاده<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان

<sup>۲</sup> دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۵

#### چکیده

آهن به‌عنوان یک عنصر ضروری در نمو کلروپلاست، فتوسنتز، ساختار خوشه‌های آهن-گوگرد، نقل و انتقال الکترون‌ها و به‌عنوان کنترل‌کننده سیستم‌های اکسید و احیایی نقش دارد. بیشبود آهن می‌تواند از طریق القاء تنش اکسیداتیو ماکرومولکول‌های زیستی را با خطر مواجه نماید. سمیت آهن تنها ممکن است در مناطق خاصی مانند شالیزارهای برنج به‌وجود آید. هدف از این پژوهش بررسی اثرات سمیت آهن در تنش اکسیداتیو و ارزیابی راه‌های آسیب و مسیرهای تحمل بیشبود آهن در گیاه برنج رقم شفق بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید و آهن در غلظت‌های ۱۰ (شاهد)، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌همراه محلول غذایی یوشیدا به گیاه برنج داده شد. بیشبود آهن سبب کاهش معنی‌دار رشد گیاهان به‌ویژه ریشه شد. همچنین افزایش آهن در محیط ریشه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و مقدار مالون دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید را افزایش داد. همچنین، مقدار فنل‌های محلول و پراکسید هیدروژن نیز افزایش یافت. در تیمارهای بیشبود آهن با وجود کاهش مقدار پروتئین‌های محلول تعدادی، از باندهای پروتئینی جدا شده در الکتروفورز افزایش محسوسی را نشان دادند. الگوی الکتروفورزی آنزیم پراکسیداز در بخش هوایی بیانگر افزایش فعالیت این آنزیم در تیمارهای بیشبود آهن بود. این نتایج آشکار ساخت که بیشبود آهن با افزایش اکسیژن‌های

\*مسئول مکاتبه: [ah\\_ah99@yahoo.com](mailto:ah_ah99@yahoo.com)

فعال و پراکسید هیدروژن سبب کاهش پروتئین و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شده و در نتیجه رشد گیاه را کاهش داد. در مقابل افزایش فعالیت پراکسیدازها و غلظت فنل‌ها به سم‌زدایی اکسیژن‌های فعال و پراکسید هیدروژن کمک کرده و تحمل تنش بیش‌بود آهن را ممکن ساخت.

**واژه‌های کلیدی:** بیش‌بود آهن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل، برنج

### مقدمه

آهن در حدود ۵ درصد وزنی پوسته زمین را تشکیل می‌دهد، اما مقدار آهن محلول در خاک در مقایسه با کل آهن فوق‌العاده کم است. انواع آهن معدنی محلول در خاک شامل یون‌های  $Fe^{+2}$  و  $Fe^{+3}$  است (مارچنر، ۱۹۹۵). میزان در دسترس بودن آهن در خاک و جذب آن توسط ریشه گیاه بستگی زیادی به اسیدیته، شرایط اکسید و احیایی خاک و شکل آهن محلول دارد. هرچند وجود برخی فلزات سنگین از جمله آهن در خاک برای رشد طبیعی گیاه ضروری است، غلظت‌های زیاد این عناصر می‌تواند عامل بازدارندگی رشد و ایجاد سمیت گردد (کلمنس، ۲۰۰۱؛ کامفنکل و مونتگاو، ۱۹۹۵). سمیت آهن به‌عنوان فلز کم مصرف سنگین در گیاهان شایع نیست و تنها در خاک‌های غرقاب مزارع برنج به‌وجود می‌آید که می‌تواند عملکرد برنج را از ۱۲ تا ۱۰۰ درصد کاهش دهد (بیکر و اش، ۲۰۰۵؛ دورلدت و همکاران، ۲۰۰۵؛ ساهراوات، ۲۰۰۴). اگر چه جذب  $Fe^{2+}$  در مقایسه با  $Fe^{3+}$  سریع‌تر است، اما در شرایط معمول مقدار  $Fe^{2+}$  در خاک بسیار کمتر است. تحت شرایط غیرهوازی در خاک‌های غرقاب  $Fe^{3+}$  سریعاً به  $Fe^{2+}$  تبدیل می‌شود و به‌علت فشار جزئی اکسیژن، پتانسیل کاهش پایین و نیز احیاء میکروبی، خاک‌های مزارع برنج  $Fe^{2+}$  بیشتری نسبت به  $Fe^{3+}$  دارند (دورلدت و همکاران، ۲۰۰۵؛ مارچنر، ۱۹۹۵؛ ساهراوات و سیکا، ۲۰۰۲). شدت سمیت آهن وابسته به عوامل محیطی متعددی است، برای مثال خاک‌هایی که ظرفیت تبادل کاتیونی پایین، اسیدیته کمتر از ۵ و میزان پتاسیم، فسفر، روی و منگنز کم دارند، برای سمیت آهن مساعد هستند. سمیت آهن سبب کاهش رشد گیاه شده و برگ‌ها در حالت سمیت شدید قهوه‌ای تا ارغوانی می‌گردند (کوننولی و گرنوت، ۲۰۰۲؛ ساهراوات و سیکا، ۲۰۰۲).

بیش‌بود بسیاری از فلزات سنگین از جمله آهن در داخل سلول ممکن است سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مثل سوپراکسید و هیدروکسیل و نیز ایجاد پراکسید هیدروژن بیشتر شود (آرورا و همکاران، ۲۰۰۲؛ بهاتاچارجی، ۲۰۰۵). افزایش میزان پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بیش‌بود عنصر مس و جیوه به‌ترتیب در گیاهان برنج (چن و همکاران، ۲۰۰۰) و گوجه

فرنگی (چو و پارک، ۲۰۰۰) گزارش شده است. رادیکال‌های آزاد می‌توانند کلروفیل را اکسید نمایند و با ازدیاد سمیت باعث انباشتگی آهن در کلروپلاست و ایجاد اختلال در انتقال الکترون فتوسنتزی شوند. همچنین ممانعت از چرخه کالوین به وسیله آهن اضافی موجود در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی ممکن است باعث کاهش نسبت کربوکسیلاسیون به اکسیژناسیون در واکنش‌های روبیسکو و افزایش تنفس نوری شود (کامفنکل و مونتگاو، ۱۹۹۵). همچنین، رادیکال‌های آزاد می‌توانند به طور برگشت‌ناپذیری به لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برسانند و سبب به هم خوردن توازن بار الکتریکی طرفین غشاهای زیستی شوند. پراکسید هیدروژن ممکن است از تنفس نوری و نیز از دیسموتاسیون رادیکال‌های سوپراکسید در حضور آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تولید شود (سنا و ساکسنا، ۲۰۰۶؛ ژائو و همکاران، ۲۰۰۵؛ آست، ۱۹۸۹). خود این ترکیب آسیب کمی وارد می‌کند، اما برای سلول‌ها بسیار خطرناک است. چون می‌تواند به راحتی از عرض غشاهای سلولی عبور کند و در حضور یون آهن و رادیکال سوپراکسید به اشکال زیان‌بارتر مثل رادیکال هیدروکسیل تبدیل شود. پراکسید هیدروژن موجود در گیاه به وسیله واکنش پراکسیدازی از بین می‌رود. گیاهان دارای دو تیپ اصلی از پراکسیدازها می‌باشند. پراکسیدازهایی که از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کنند و به طور عمده در کلروپلاست، سیتوزول و پراکسی‌زوم تجمع داشته و وظیفه آن‌ها حذف پراکسید هیدروژن تولید شده در این اندامک‌ها می‌باشد. پراکسیدازهای دیگر در تمام بخش‌های گیاه یافت می‌شوند و از فنل‌ها به عنوان دهنده الکترون استفاده کرده و در بیوسنتز لیگنین نقش دارند (دیاز و همکاران، ۲۰۰۱). پراکسیدازهای محلول و اپوپلاستی می‌توانند با مشارکت فنل‌ها و اسید آسکوربیک، پراکسید هیدروژن را حذف کنند (آسادا، ۱۹۹۲؛ ون‌سویت و همکاران، ۱۹۹۷). افزایش فعالیت پراکسیدازها تحت تاثیر بیشبود کروم در پسته گزارش شده است (سنا و ساکسنا، ۲۰۰۶). ترکیبات فنلی مهم‌ترین گروه متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند که با داشتن گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل توانایی آنتی‌اکسیدانی دارند (میچالاک، ۲۰۰۶؛ ساکیهاما و همکاران، ۲۰۰۲؛ ساکیهاما و یاماساکی، ۲۰۰۲). پلی‌فنل‌اکسیداز یا تیروزیناز آنزیمی دارای دو اتم مس در هسته مرکزی خود می‌باشد و اکسیداسیون دی‌فنل‌ها به کینون‌ها را انجام می‌دهد. این آنزیم در این واکنش از اکسیژن مولکولی به عنوان سوپسترا استفاده می‌نماید (مایر، ۲۰۰۶؛ وینکل - شرلی، ۲۰۰۲). افزایش فعالیت فنل‌اکسیدازها تحت تیمار آهن اضافی گزارش شده است (بوگام و همکاران، ۲۰۰۵).

علی‌رغم اهمیت آهن در ایجاد تنش اکسیداتیو و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در حیطه دانش ما گزارشات زیادی در این ارتباط در گیاه برنج وجود ندارد. شمالی و همکاران (۲۰۰۸) افزایش انباشتگی آهن و کاهش چشم‌گیر رشد ریشه برنج در بیشبود آهن را گزارش کردند. مهربان و همکاران (۲۰۰۸) گزارش نمودند که بیشبود آهن به‌طور معنی‌داری باعث کاهش مقدار فندها، کلروفیل و فعالیت آنزیم کاتالاز و افزایش مقدار اسیدهای آمینه در برنج شده است.

با توجه به اهمیت روزافزون برنج به‌عنوان ماده غذایی ارزشمند در جیره غذایی انسان، پژوهش در مورد ناهنجاری‌های تغذیه‌ای مثل سمیت آهن که به‌طور عمده در زمین‌های جلگه‌ای مزارع برنج باعث کاهش عملکرد محصول می‌شود، اهمیت زیادی دارد. هدف از این پژوهش بررسی اثرات سمیت آهن بر رشد، میزان تجمع آهن و تنش اکسیداتیو در گیاه برنج رقم شفق بود. بنابراین سعی شد تا فعالیت آنتی‌اکسیدانتی مرتبط با تنش آهن با سنجش عواملی مانند پراکسیداسیون لیپید، مقدار پروتئین محلول، مقدار فنل‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ارزیابی گردد تا درک بهتری از راه‌های آسیب و مسیرهای تحمل بیشبود آهن فراهم شود.

### مواد و روش‌ها

**شرایط کشت:** گیاه برنج رقم شفق در گل‌خانه در محیط کشت شنی کاشته شد. بذرها با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شد. محلول غذایی مورد استفاده، یوشیدا و همکاران (۱۹۷۶) بود که براساس تیمارهای آهن تعدیل گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. تیمارهای آهن شامل سه سطح ۱۰ (شاهد)، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و به‌صورت Fe-EDTA بود. گیاهچه‌ها پس از چهار هفته تیماردهی برداشت شدند. میانگین درجه حرارت حداقل و حداکثر محیط گل‌خانه در شب و روز در طی دوره آزمایش به‌ترتیب ۲۲ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت نسبی ۷۱ درصد بود. عوامل اندازگیری شده شامل وزن‌تر و خشک، مقدار آهن، پراکسید هیدروژن، فنل‌ها، پروتئین محلول، پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز بود. همچنین الگو الکتروفورزی پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز پس از ۴ هفته تیمار بر روی ژل به‌دست آمد.

اندازه‌گیری عوامل بیوشیمیایی: اندازه‌گیری مقدار آهن توسط دستگاه القا نشر پلاسمایی<sup>۱</sup> در آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشگاه تهران (پردیس کرج) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و مقدار پروتئین‌های محلول، عصاره آنزیمی از بافت تر گیاهان با استفاده از بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ استخراج شد (لیو و هوانگ، ۲۰۰۰). فعالیت آنزیم‌ها از روش اسپکتروفتومتری و با دستگاه شیمادزو<sup>۲</sup> اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش کار و میشر (۱۹۷۶) صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۴۰ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت این آنزیم در حالت سینتیک و در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، پیروگال ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استفاده شد (رزند و همکاران، ۲۰۰۲). اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول به روش برادفورد (۱۹۷۶) انجام شد. استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از بافر فسفات ۲۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ و روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) صورت گرفت. دو میلی‌لیتر مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری آسکوربات پراکسیداز شامل بافر فسفات ۲۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات ۰/۵ مولار و پراکسید هیدروژن ۱/۲ میلی‌مولار بود. عمل اندازه‌گیری در طول موج ۲۹۰ نانومتر انجام گرفت.

اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌الدهید (MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید طبق روش هس و پاکر (۱۹۶۸) صورت گرفت. عصاره گیاهان به‌وسیله دو میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۰/۱ درصد استخراج شد. برای اندازه‌گیری از معرف اسید تیوباربی‌توریک/ اسید تری‌کلرو استیک<sup>۳</sup> شامل TBA ۰/۲۵ درصد در TCA ۱۰ درصد در دما ۹۵ درجه استفاده شد. جذب محلول به‌دست آمده در حالت فتومتریک و در ۳ طول موج ۴۴۰، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد.

استخراج عصاره‌های فنلی به روش فوکودا و همکاران (۲۰۰۳) و با اتانول در سه مرحله و به‌مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت. اندازه‌گیری فنل‌ها به روش لاوید و همکاران (۲۰۰۱) و با معرف پروسین بلو صورت پذیرفت. به ۵۰ میکرولیتر عصاره اتانولی به‌دست آمده مقدار ۳ میلی‌لیتر آب مقطر، ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آهن III حل شده در اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال و ۱۰۰ میکرولیتر هگزوفروسیانید

1- Inductively coupled plasma (ICP) GBC (SDS-27)

2- Shimidzo UV-160

3- TBA/TCA

پتاسیم ۸ میلی‌مولار به‌عنوان معرف اضافه و جذب محلول در طول موج ۷۲۰ نانومتر ثبت شد. به‌عنوان محلول استاندارد فنل از اسید گالیک استفاده گردید.

عمل استخراج پراکسید هیدروژن بر طبق روش چن و همکاران (۲۰۰۰) به‌وسیله بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۵ حاوی هیدروکسیل‌آمین ۱ میلی‌مولار در دما ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن با استفاده از معرف کلرید تیتانیوم (کلرید تیتانیوم ۰/۱ درصد (حجم/حجم) حل شده در اسید سولفوریک ۲۰ درصد)، در طول موج ۴۱۰ نانومتر انجام گرفت. ضریب خاموشی برای محاسبه مقدار کمپلکس تیتانیوم-پراکسید هیدروژن ۰/۲۸ میکرومول بر سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

**الکتروفورز پروتئین‌ها و آنزیم گایاکول پراکسیداز:** برای جداسازی پروتئین‌ها به‌وسیله الکتروفورز سدیم دودسیل سولفات<sup>۱</sup> از روش لاملی (۱۹۷۰) استفاده شد. ژل پلی‌اکریل‌آمید به‌صورت ناپیوسته و شامل دو قسمت ژل متراکم کننده ۵ درصد و ژل جدا کننده ۱۵ درصد بود. برای ساخت بافر تانک الکتروفورز از تریس بازی ۴۸ میلی‌مولار، گلیسین ۱۹۲ میلی‌مولار و SDS ۰/۱ درصد استفاده شد. در رنگ‌آمیزی پروتئین‌ها، کوماسی بلو آر-۲۵۰<sup>۲</sup> ۰/۲ درصد به‌کار برده شد. برای تعیین وزن مولکولی پروتئین‌ها از استاندارد وزن مولکولی سیگما-۳۹۱۳<sup>۳</sup> ام استفاده شد. روش الکتروفورز آنزیم پراکسیداز به روش جوردی و همکاران (۲۰۰۰) و با ژل ناپیوسته ۱۲ درصد ناتیو<sup>۴</sup> انجام گرفت. برای تشخیص آنزیم پراکسیداز بر روی ژل از مخلوط گایاکول و پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار حل شده در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار استفاده شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه غوطه‌ور شدن ژل در این مخلوط، باندهای قرمز رنگ ظاهر و بعد از گذشت ۱۵ دقیقه از ژل عکس‌برداری شد (تورالس و همکاران، ۲۰۰۵).

## نتایج

**رشد و انباشتگی آهن:** جدول تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای آهن بر روی صفات رشد نشان داد که آهن بر کلیه صفات رشد در سطح احتمال ۱ درصد تاثیر معنی‌داری داشته است (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین تیمارهای آهن بر روی صفات رشد نشان داد که بیشبود آهن باعث کاهش معنی‌دار رشد گیاهان شد (جدول ۳)، به‌طوری که مقدار وزن خشک کل گیاه در تیمار آهن ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد در حدود ۲۵ درصد کاهش یافت (شکل ۱). این کاهش در ریشه گیاهان بسیار چشم‌گیرتر از بخش هوایی

- 1- SDS-PAGE
- 2- R-250
- 3- Sigma 3913M
- 4- Native-PAGE

جدول ۱- تأثیر واریانس تاثیر تیمارهای مختلف آهن بر روی صفات رشد و مقدار آهن گیاه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر بخش هوایی	وزن تر بخش ریشه	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک بخش ریشه	آهن بخش هوایی	آهن بخش ریشه
	۲	۸۲/۸۲ <sup>۰۰</sup>	۷/۸ <sup>۰۰</sup>	۱/۵۹ <sup>۰۰</sup>	۰/۰۶۷ <sup>۰۰</sup>	۶۰/۳۴ <sup>۰۰</sup>	۲۳/۲۳ <sup>۰۰</sup>
	۶	۰/۷۲	۰/۰۴۷	۰/۰۳	۰/۰۰۱	۰/۸۳	۰/۵۶
کل	۸						

\*\* درسطح کمتر از ادرصد معنی دار است.

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای مختلف آهن بر روی صفات بیوشیمیایی گیاه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	آسکوربات	آسکوربات	گایاکول پراکسیداز برگ	ریشه	برگ	اکسیداز برگ	پلی فنل	پلی فنل	فنل کل	پراکسیداسیون	لیپید ریشه	لیپید برگ
	۲	۴۰۰/۵۵ <sup>۰۰</sup>	۱۸۷/۰۳ <sup>۰۰</sup>	۰/۰۳ <sup>۰۰</sup>	۰/۰۰۴ <sup>۱۵</sup>	۲۷۶۶/۳ <sup>۰۰</sup>	۷/۰۹ <sup>۰۰</sup>	۱۶۸۶ <sup>۰۰</sup>	۲۷۶۶ <sup>۰۰</sup>	۶/۰۵۹ <sup>۰۰</sup>	۲۴/۸۴۹	۷/۱۸۸۵ <sup>۰۰</sup>	
	۶	۶/۲	۱۸/۹	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۵۳	۰/۳۱	۵/۱۷۵	۲۱۷۵	۳۸/۸۷۴	۲۴/۸۴۹	۳/۳۳۲	
کل	۸												

\*\* در سطح احتمال از ۱ درصد معنی دار است، \* در سطح احتمال از ۵ درصد معنی دار است، NS نشان دهنده معنی دار نبودن داده‌ها می‌باشد.

بود. افزایش معنی‌دار نسبت وزنی بخش هوایی به ریشه نشان‌دهنده تاثیر شدیدتر بیشبود آهن در ریشه نسبت به بخش هوایی است. غلظت آهن بخش هوایی و ریشه تحت تیمارهای بیشبود آهن افزایش معنی‌داری را نشان داد، به طوری که مقدار آهن ریشه در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم آهن در لیتر نسبت به شاهد (تیمار ۱۰ میلی‌گرم آهن در لیتر) در حدود سه برابر بیشتر بود (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین برخی صفات رشد و محتوا آهن گیاه برنج تحت تیمارهای مختلف آهن.

سطوح تیمار آهن (میلی‌گرم در لیتر)			صفات
۲۵۰	۱۵۰	۱۰	
۷/۰۴±۰/۳ <sup>c</sup>	۸/۷۳±۰/۳۸ <sup>b</sup>	۱۴/۰۹±۰/۳ <sup>a</sup>	وزن تر بخش هوایی (گرم)
۱/۲۶±۰/۱۲ <sup>c</sup>	۱/۴۳±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۳/۴۱±۰/۲۱ <sup>a</sup>	وزن تر ریشه (گرم)
۱/۲۱±۰/۰۴ <sup>c</sup>	۱/۵۷±۰/۱۲ <sup>b</sup>	۲/۱۸±۰/۰۴ <sup>a</sup>	وزن خشک بخش هوایی (گرم)
۰/۰۹±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۱۵±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۲۷±۰/۰۲ <sup>a</sup>	وزن خشک ریشه (گرم)
۸/۳۰±۰/۳۳ <sup>c</sup>	۱۰/۱۶±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۱۷/۵±۰/۰۵ <sup>a</sup>	وزن تر کل گیاه (گرم)
۱/۳۱±۰/۰۵ <sup>c</sup>	۱/۷۳±۰/۱۵ <sup>b</sup>	۲/۴۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	وزن خشک کل گیاه (گرم)
۵/۶۷±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۶/۱۱±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۴/۱۵±۰/۰۳ <sup>c</sup>	نسبت وزنی بخش هوایی به ریشه
۲/۷۵±۰/۳ <sup>b</sup>	۱/۳۶±۰/۱۷ <sup>a</sup>	۱/۰۷±۰/۲۱ <sup>a</sup>	میزان آهن بخش هوایی (میلی‌گرم در گرم وزن)
۳/۵۹±۰/۴ <sup>c</sup>	۱/۴۹±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۱/۰۹±۰/۱۷ <sup>a</sup>	میزان آهن بخش ریشه (میلی‌گرم در گرم وزن)

میانگین‌های هر ردیف که در یک حرف مشترک می‌باشند، با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

**فعالیت آنزیم‌ها و میزان پراکسیداسیون لیپید:** جدول تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای آهن بر روی صفات رشد نشان داد که آهن بر فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری شده و میزان پراکسیداسیون لیپید به جز مقدار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در بخش هوایی تاثیر معنی‌داری داشته است (جدول ۲). میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز هم در ریشه و هم در بخش هوایی همراه با افزایش مقدار آهن در محیط کشت به طور معنی‌داری زیادتر شد. به طوری که در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم آهن در محیط کشت فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد در ریشه بیش از پنج برابر افزایش یافت (شکل ۲- الف). میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با وجود تفاوت غیر محسوس در بخش هوایی با افزایش



مقدار آهن تا ۲۵۰ میلی گرم در لیتر در ریشه افزایش معنی داری نشان داد (شکل ۲-ب). میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در بخش هوایی و ریشه دارای دو الگو متفاوت از یکدیگر بود. در بخش هوایی با افزایش مقدار آهن تا ۲۵۰ میلی گرم در لیتر میزان فعالیت آنزیم زیادتر شد، اما در ریشه افزایش مقدار آهن در محیط ریشه به صورت مشابهی کاهش معنی دار فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را باعث گردید (شکل ۲-ج). تیمارهای آهن سبب افزایش مقدار مالون دی آلدهید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید شدند، به طوری که در تیمار ۲۵۰ میلی گرم آهن در لیتر در مقایسه با ۱۰ میلی گرم آهن مقدار مالون دی آلدهید در بخش هوایی بیش از ۵۰ درصد و در ریشه به بیش از چهار برابر افزایش یافت (شکل ۲-د).

میزان پروتئین محلول، پراکسید هیدروژن و فنل های محلول: جدول تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای آهن بر روی صفات رشد نشان داد که آهن بر میزان پروتئین محلول، پراکسید هیدروژن و فنل های محلول تاثیر معنی داری داشته است (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارهای آهن نشان داد که بیشبود آهن سبب کاهش پروتئین های محلول بخش هوایی شد (شکل ۳-الف). همچنین با افزایش مقدار آهن در محیط ریشه مقدار پراکسید هیدروژن (شکل ۳-ب) و فنل های محلول (شکل ۳-ج) در بخش هوایی افزایش یافت.

الگو الکتروفورزی پروتئین ها و آنزیم گایاکول پراکسیداز: الگو کیفی پروتئین های محلول با روش الکتروفورز نشان می دهد که با افزایش مقدار آهن تا ۲۵۰ میلی گرم در لیتر پروتئین های ۶۴ کیلو دالتونی کاهش محسوسی داشتند (شکل ۴). به نظر می رسد علی رغم کاهش در یک باند پروتئینی ۶۴ کیلو دالتونی پروتئین های ۳۴ تا ۴۰ کیلو دالتونی روند افزایشی داشته اند (شکل ۴). الگو کیفی آنزیم گایاکول پراکسیداز بخش هوایی نشان داد که حداقل دو ایزوزیم مشخص برای این آنزیم وجود دارد (شکل ۵). مقدار فعالیت ایزوزیمی که دارای وزن مولکولی بالاتری نسبت به ایزوزیم دیگر است همراه با افزایش تیمار آهن افزایش مشخصی نشان داد.

## بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش آهن در محیط ریشه گیاهان، جذب بیشتر آهن و افزایش غلظت آن در گیاه به ویژه در بافت های ریشه را سبب شد که این امر ایجاد سمیت آهن و کاهش رشد گیاهان مخصوصاً ریشه آنها را باعث گردید. غلظت بالاتر آهن در ریشه ها در مقایسه با برگ ممکن

است به دلیل رسوب آهن در سطح ریشه و یا انباشتگی آهن در سلول‌های ریشه باشد (بیکر و اش، ۲۰۰۵). در ادامه راه‌های آسیب و مسیرهای تحمل بیشبود آهن براساس نتایج به‌دست آمده بحث می‌گردد.

تنش آهن در گیاهان با ایجاد انواع اکسیژن‌های فعال همراه است که تنش اکسیداتیو در گیاه را القاء می‌کند (میتوفر و همکاران، ۲۰۰۴). در شرایط طبیعی پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بخش‌های مختلف سلول‌های گیاهان ایجاد می‌شود (آرورا و همکاران، ۲۰۰۲؛ بهاتاچارجی، ۲۰۰۵). اما در شرایط تنش آهن فرآیندهای سم‌زدایی به‌صورت ناقص انجام می‌گردد. عدم خنثی شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش پراکسید هیدروژن (شکل ۳-ب) در گیاه منجر به افزایش واکنش‌های فنتون و هابروایس می‌گردد که در طی آن رادیکال خطرناک هیدروکسیل تولید می‌شود و می‌تواند به‌صورت پی‌درپی انواع ماکرومولکول‌های زیستی از جمله لیپیدها و پروتئین‌ها را ناپایدار کند. نتایج این پژوهش آشکار ساخت که تنش اکسیداتیو ناشی از بیشبود آهن باعث افزایش پراکسیداسیون لیپید شد به‌طوری که میزان پراکسیداسیون لیپیدها در ریشه از نظر سمیت آهن نسبت به گیاهان شاهد تا چهار برابر افزایش یافت (شکل ۲-د). افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید تحت تاثیر زیادی آهن در گیاه باکوپا<sup>۱</sup> توسط سنا و ساکسنا (۲۰۰۶) نیز گزارش شده است. طبق نتایج آست (۱۹۸۹) در هنگام پراکسیداسیون لیپیدها تشکیل کمپلکس O<sub>2</sub>-Fe با حضور Fe<sup>+2</sup> یا Fe<sup>+3</sup> انجام می‌گیرد. خود آهن به‌طور آزاد هم می‌تواند واکنش‌های کاهش‌ی بین اکسیژن و بیومولکول‌ها که در عدم حضور آهن اتفاق نمی‌افتد را کاتالیز کند. آهن آزاد می‌تواند به رادیکال‌های فریل با واکنش‌پذیری بالا تبدیل شود که میل ترکیبی زیادی با اسیدهای چرب دارد. Fe<sup>+2</sup> با اسیدهای چرب به شکل پروکسی اسید چرب در می‌آید که خود باعث افزایش پراکسیداسیون لیپید می‌شود. همچنین تشدید تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت آهن در کاهش میزان پروتئین‌ها مشهود است (شکل ۳-الف). علی‌رغم کاهش مقدار کلی پروتئین‌ها و باند پروتئین ۶۴ کیلو دالتونی در الگو الکتروفورزی، افزایش مشخصی در باندهای پروتئین‌های ۳۴ تا ۴۰ کیلو دالتونی گیاهان تحت تیمار بیشبود آهن مشاهده شد (شکل ۴). افزایش اسیدهای آمینه تحت تنش بیشبود آهن توسط مهربان و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است که احتمالاً ازدیاد فعالیت پروتئازها را آشکار می‌سازد. این باندها مربوط به باندهای پروتئین‌ها یا آنزیم‌های شرایط تنش یا

1- *Bacopa monnieri*

پروتئین‌های غیرفعال و اکسید شده توسط رادیکال‌های آزاد و یا زیر واحدهای پروتئین‌های تجزیه شده باشند.

با توجه به افزایش مقدار پراکسید هیدروژن (شکل ۳-ب)، افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (شکل ۲-الف) که سم‌زدایی پراکسید هیدروژن در کلروپلاست را برعهده دارد، نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو در کلروپلاست می‌باشد. کامفنکل و مونتگو (۱۹۹۵) به صورت مشابهی گزارش کردند که در کلروپلاست، آسکوربات پراکسیداز در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن در گیاه تنباکو نقش زیادی دارد. همچنین تحقیقات ون‌سویت و همکاران (۱۹۹۷) نشان داد که کوددهی بالا با آهن در جوانه‌زنی کلزا سبب تجمع سریع mRNA آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان پالاینده پراکسید هیدروژن می‌شود.

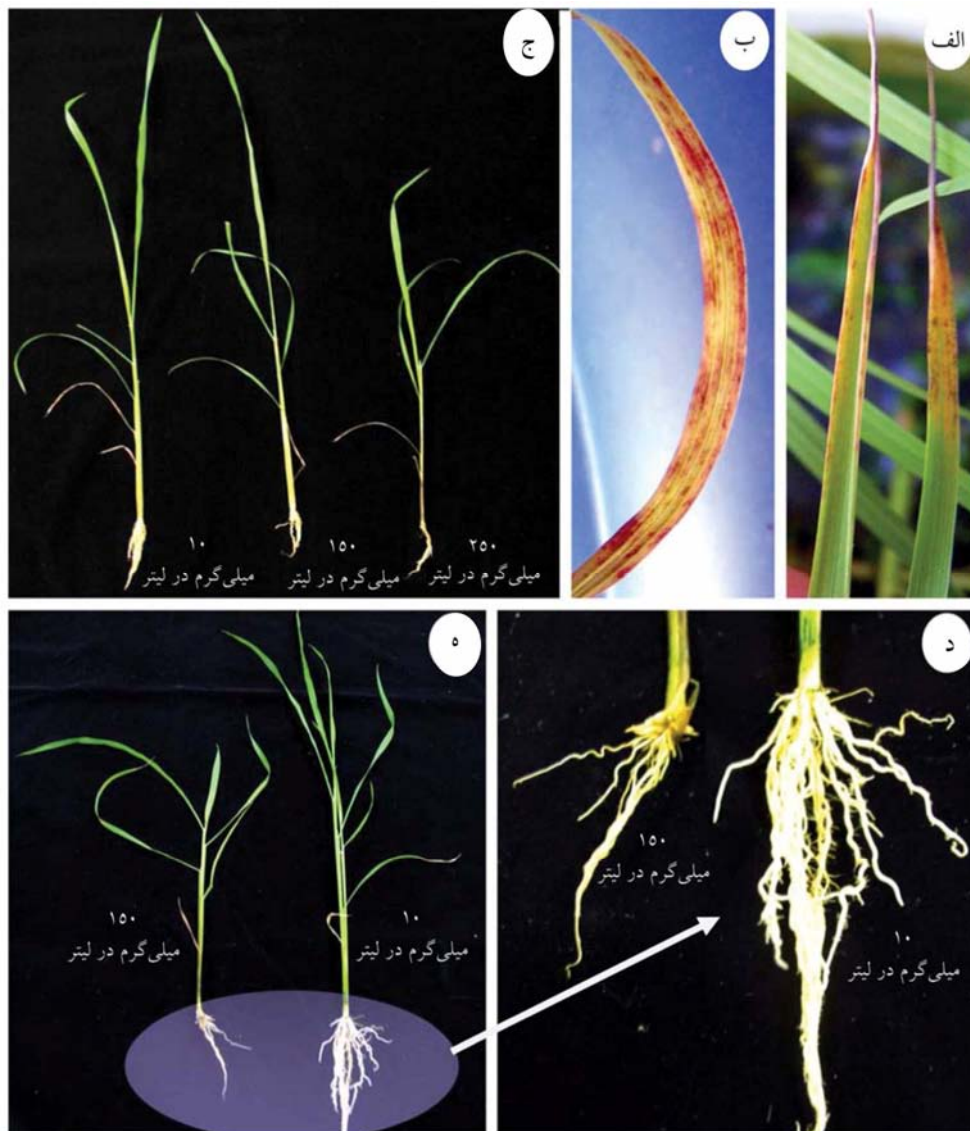
معنی‌دار بودن افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز در ریشه (شکل ۲-ب) که پراکسید هیدروژن را سم‌زدایی می‌نماید نشان‌دهنده بیشتر بودن سمیت آهن در ریشه نسبت به بخش هوایی است. افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز تحت تاثیر سمیت فلزات سنگین مانند کادمیوم و روی و آهن گزارش شده است (سنا و ساکسنا، ۲۰۰۶؛ ژائو و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین با توجه به نتایج الگو الکتروفورزی آنزیم پراکسیداز در گیاه برنج (شکل ۵) افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز سیتوزولی کاملاً مشهود می‌باشد.

افزایش فنل‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت نقش مهمی در تنش اکسیداتیو ایفا می‌کند (شکل ۳-ج). بالا رفتن مقدار ترکیبات فنلی در گندم در پاسخ به سمیت نیکل، در ذرت در پاسخ به سمیت آلومینیوم، در لوبیا در سمیت کادمیوم و همچنین برگ‌های فیلاتنوس که بر روی آن‌ها سولفات مس پاشیده شده بود، گزارش شده است (میچالاک، ۲۰۰۶). افزایش مقدار فنل‌های محلول به‌ویژه پیش‌سازهای بیوستنز لیگنین با افزایش ضخامت دیواره سلولی و ایجاد مانع زیستی جهت ورود فلزات سنگین به یاخته‌ها تحمل آن‌ها را به این فلزات افزایش می‌دهد (دیاز و همکاران، ۲۰۰۱). از آنجایی که مطابق نتایج این پژوهش، مقدار پراکسید هیدروژن در بیش‌بود آهن افزایش پیدا کرد (شکل ۳-ب) فنل‌ها می‌توانند در مقابل آن نقش خنثی‌کننده داشته باشند. پیشنهاد شده که هدف فنل‌های گیاهی خصوصاً فلاونل‌ها و فنیل پروپانویدهای واکوئلی و اپوپلاستی می‌تواند غیرسمی کردن پراکسیدهای هیدروژن به‌عنوان دهنده الکترون برای پراکسیدازهای سیتوزولی باشد و در نتیجه این فرآیند رادیکال‌های فنوکسیل تولید می‌شود (ساکیهاما و همکاران، ۲۰۰۲). فنل‌های گیاهی می‌توانند از رادیکال‌های فنوکسیل به‌وسیله واکنش‌های غیرآنزیمی با آسکوربات تولید شوند. تحت شرایط فیزیولوژیکی معمول این رادیکال‌ها واکنش مضر نداشتند و سریعاً به محصولات غیر رادیکالی تبدیل می‌شوند. توانایی فنل‌ها به‌خاطر

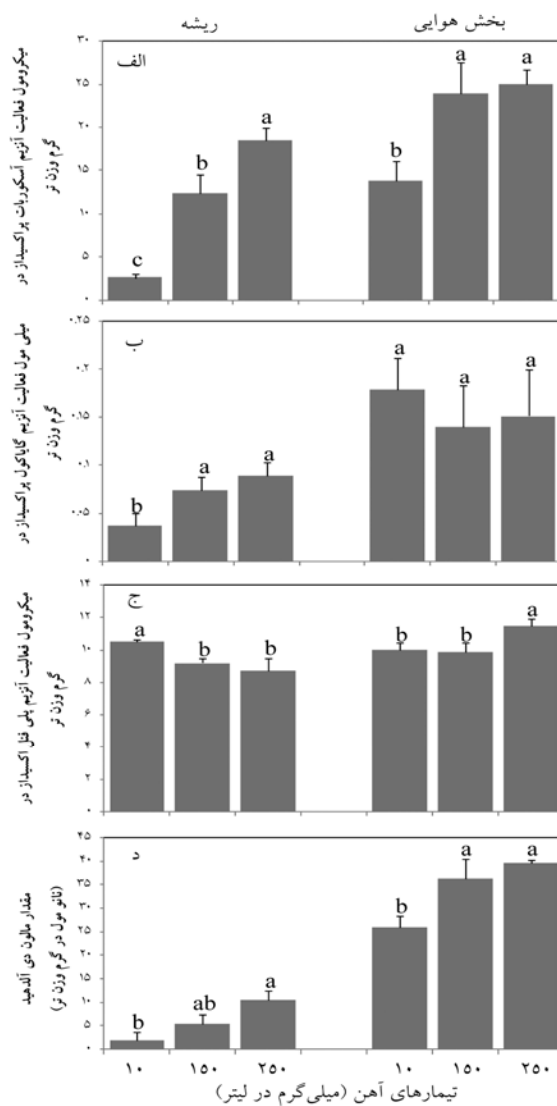
گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل خود می‌باشد که قادر هستند به‌طور ویژه‌ای به مس و آهن متصل شوند (ساکپهاما و یاماساکی، ۲۰۰۲). ریشه بسیاری از گیاهان در معرض فلزات سنگین به مقدار بیش‌بود فنل‌ها را ترشح می‌کنند. آن‌ها ممکن است با شلات کردن یون‌های آهن آن‌ها را غیرفعال کرده و در مجموع غلظت سوپراکسیدهای مشتق شده از واکنش فنتون به‌عنوان منبع اصلی اکسیژن‌های فعال را کاهش دهند (وینکل - شرلی، ۲۰۰۲).

میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در بخش هوایی و ریشه دارای دو الگو متفاوت از یکدیگر بود. در بخش هوایی با افزایش مقدار آهن تا ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر میزان فعالیت آنزیم زیادتر شد. اما در ریشه افزایش مقدار آهن در محیط ریشه به‌صورت مشابهی باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز گردید که ممکن است به‌دلیل انباشتگی بیشتر آهن در ریشه و تشدید سمیت آن باشد (شکل ۱). کاهش فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز در ریشه گیاهان تحت تنش مس و کادمیوم گزارش شده است (بوگام و همکاران، ۲۰۰۵؛ چن و همکاران، ۲۰۰۰؛ ژائو و همکاران، ۲۰۰۵).

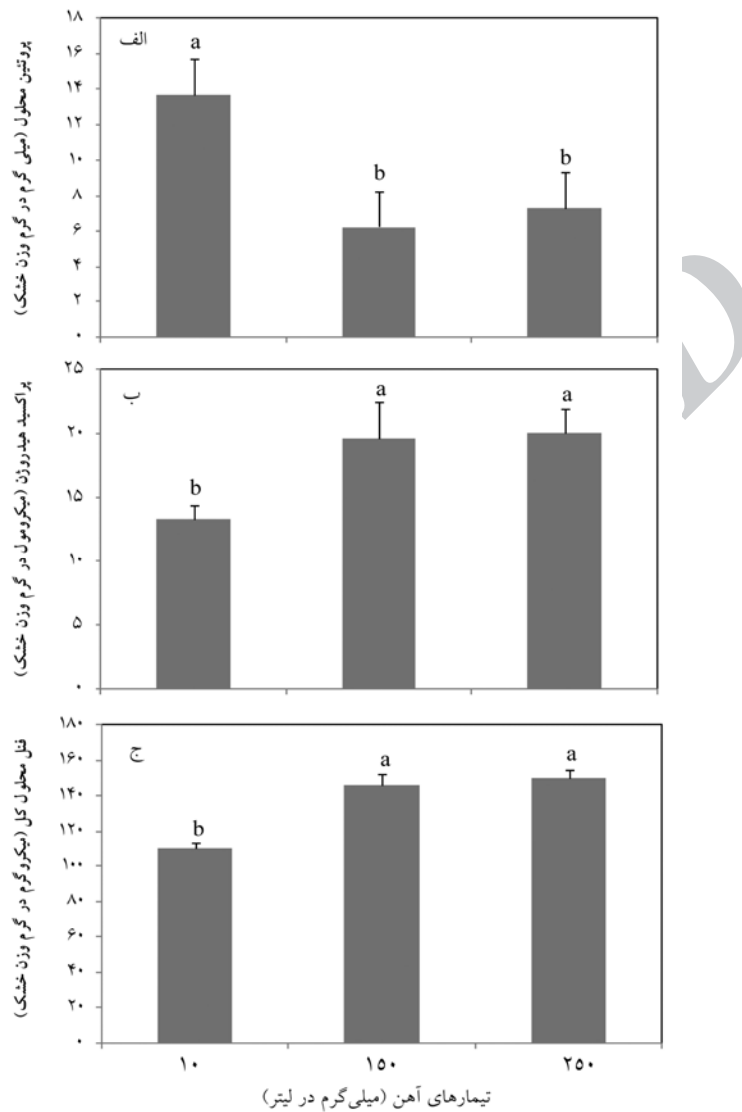
به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که زیادی آهن ممکن است از طریق تسریع مسیرهای تبدیل اکسیژن‌های غیرفعال به رادیکال‌های آزاد اکسیژن به بسیاری از ساختارهای سلولی آسیب می‌رساند. برای مثال تشدید پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی باعث تخریب غشاهای سلولی و یا افزایش اکسید شدن پروتئین و کلروفیل منجر به کاهش آن‌ها (مهربان و همکاران، ۲۰۰۸) می‌شود که سبب کاهش رشد گیاه می‌شود. با این وجود گیاه با افزایش تجمع فنل‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند پراکسیداز به مبارزه با شرایط تنش آهن اضافی می‌پردازد. هرچند افزایش این ترکیبات سبب انحراف کربن از مسیرهای متابولیسمی اصلی شده که خود ممکن است کاهش رشد گیاه را تشدید کند (شکل ۶). آزمایشات بیشتر برای شناسایی کمی و کیفی پروتئین‌های تغییر یافته تحت تنش سمیت آهن پیشنهاد می‌گردد.



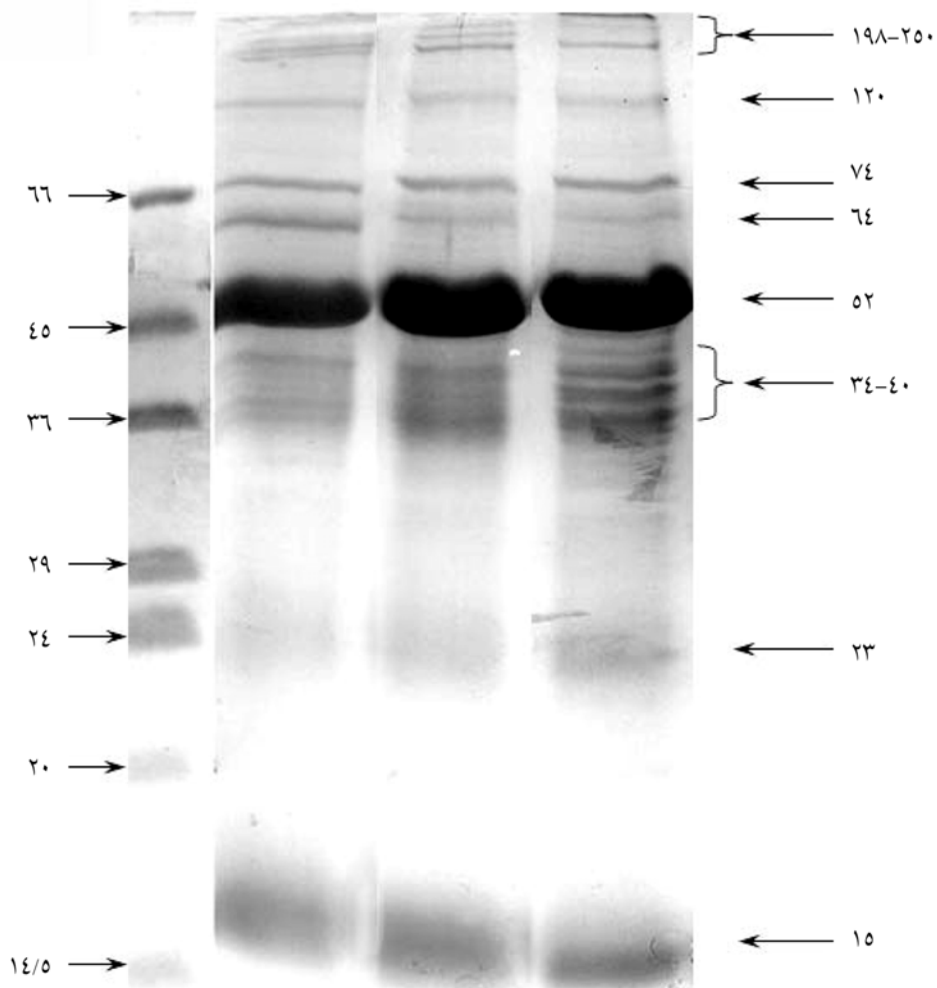
شکل ۱- تاثیر تیمارهای مختلف آهن (میلی گرم در لیتر محلول تیمار) بر روی برگ‌های جوان (الف) و مسن (ب) تیمار  
 ۲۵۰ میلی گرم در لیتر، رشد گیاه دو هفته پس از تیمار (ج) و تغییرات بخش هوایی و ریشه چهار هفته پس از تیمار (د، ه).



شکل ۲- تاثیر تیمارهای مختلف آهن (میلی گرم در لیتر محلول تیمار) بر روی فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (الف)، گایاکول پراکسیداز (ب) پلی فنل اکسیداز (ج) و مقدار مالون‌دی‌آلدهید (د) در بخش هوایی و ریشه گیاه برنج در محیط کشت شنی. خط‌های عمودی روی هر یک از ستون‌ها نشان‌دهنده خطا استاندارد می‌باشد. ستون‌هایی که دارای یک حرف مشترک باشند در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.



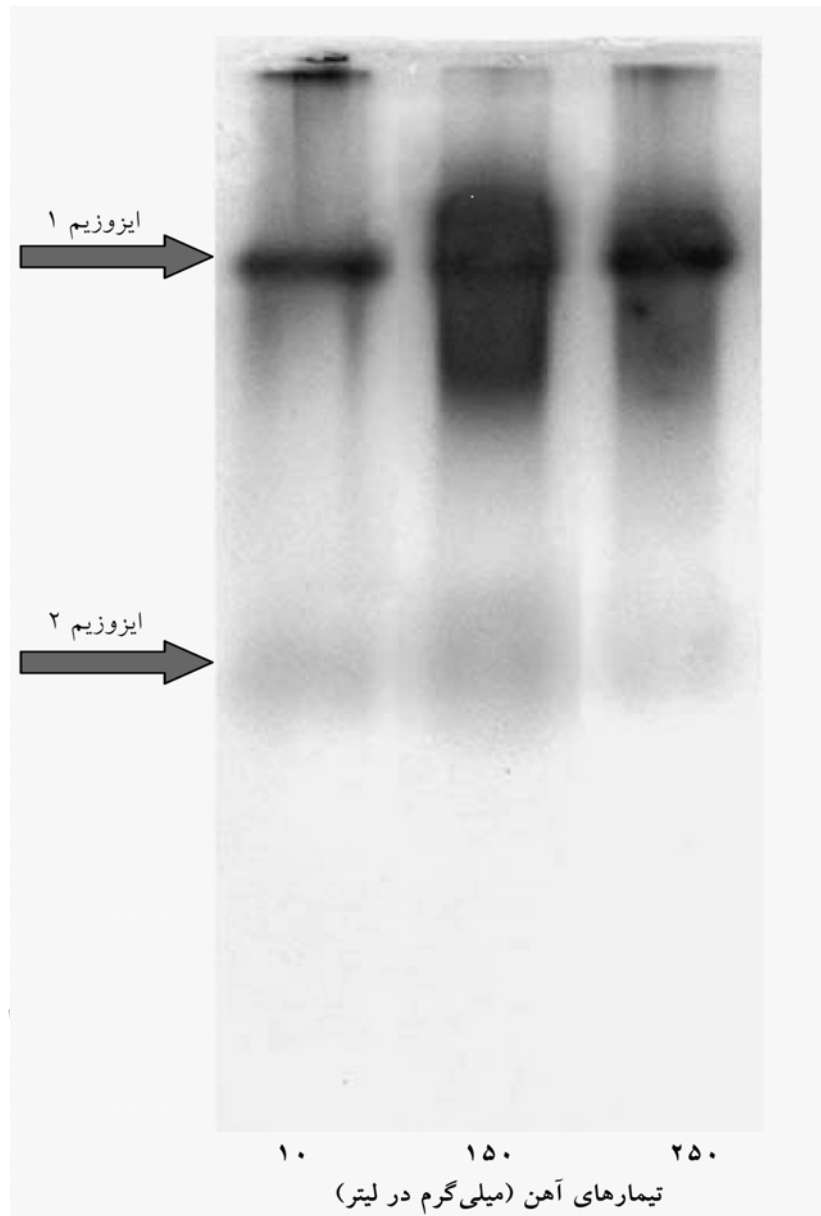
شکل ۳- تاثیر تیمارهای مختلف آهن (میلی‌گرم در لیتر محلول تیمار) در بخش هوایی بر روی مقدار پروتئین‌های محلول (الف)، پراکسید هیدروژن بخش هوایی (ب) و مقدار فنل‌های محلول در بخش هوایی (ج). خط‌های عمودی روی هر یک از ستون‌ها نشان‌دهنده خطا استاندارد می‌باشد.  
 ستون‌هایی که دارای یک حرف مشترک باشند در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.



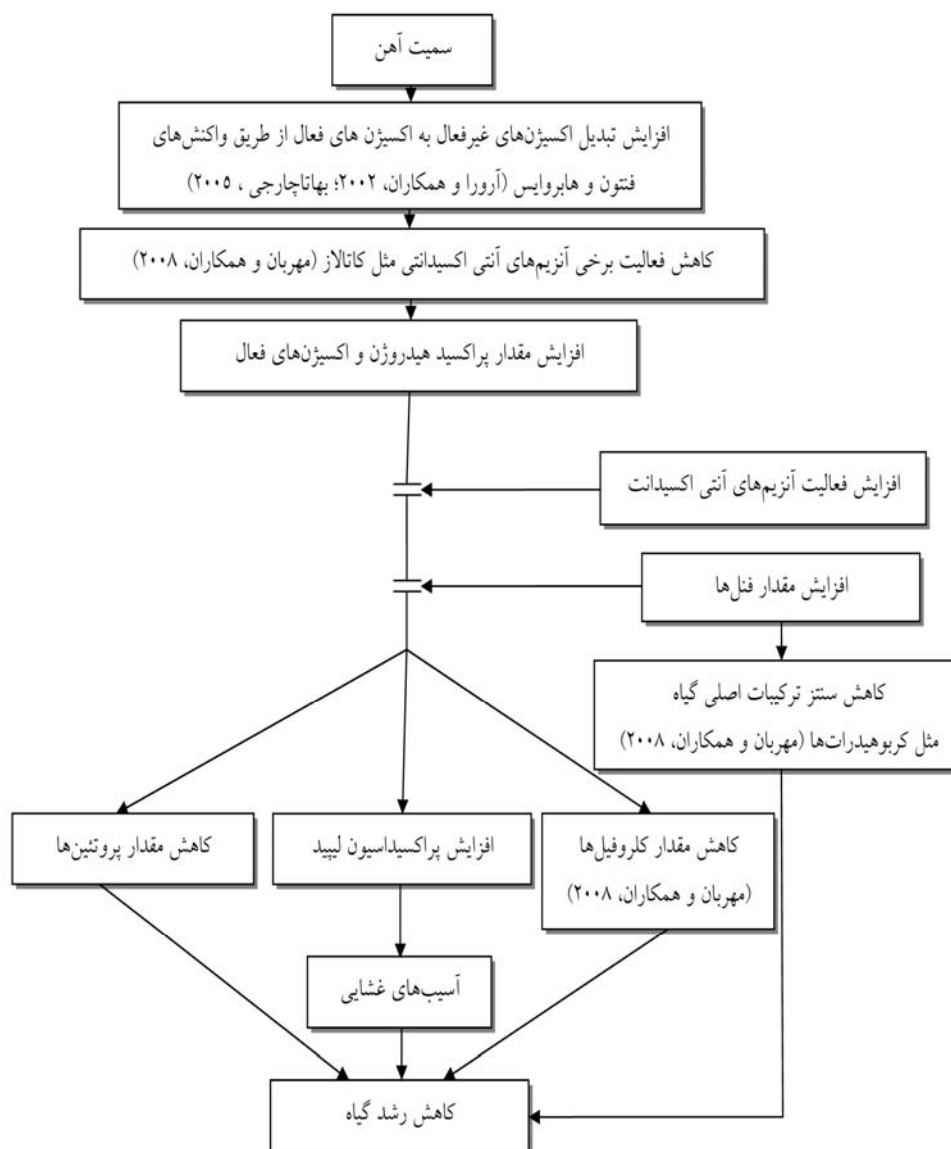
استاندارد وزن مولکولی  
(کیلودالتن)      ۱۰      ۱۵۰      ۲۵۰  
تیمار های آهن (میلی گرم در لیتر)

شکل ۴- مقایسه تاثیر تیمارهای مختلف آهن بر روی الگو الکتروفورزی پروتئین‌های بخش هوایی. مقدار پروتئین‌های بارگیری شده در هر چاهک ۵۰ میکروگرم می‌باشد.





شکل ۵- مقایسه تاثیر تیمارهای مختلف آهن بر روی الگو الکتروفورزی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در بخش هوایی. ژل آنزیم native می باشد و مقدار پروتئین های بارگیری شده در هر چاهک ۲۰ میکروگرم می باشد.



شکل ۶- الگو پیشنهادی تغییرات گیاه در طی تنش بیش‌بود آهن در گیاه برنج.

منابع

1. Arora, A., Sairam, R.K., and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Curr. Sci.* 82: 1227-1338.
2. Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiol Plant.* 85: 235-241.
3. Aust, S.D. 1989. Metal ions, oxygen radicals and tissue damage. *Bibl. Nutr. Diet.* 43: 266-277.
4. Becker, M., and Asch, F. 2005. Iron toxicity in rice-condition and management concepts. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168: 558-573.
5. Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative stress, senescence and signal transduction in plants. *Curr. Sci.* 89: 1113-1121.
6. Bodgom, P.M.V., Broekman, R., Dijk, J.V., Bakker, C., and Aerts, R. 2005. Ferrous iron stimulates phenol oxidase activity and organic matter decomposition in waterlogged wetlands. *Biogeochem.* 76: 69-83.
7. Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254
8. Chen, Li-Men., Lin, C.C., and Kao, C.H. 2000. Copper toxicity in rice seedlings: changes in antioxidative enzyme activities, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> level, and cell wall peroxidase activity in roots. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 41: 99-103.
9. Cho, U., and Park, J. 2000. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Sci.* 156: 1-9.
10. Clemens, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta.* 212: 475-485.
11. Connolly, E.L., and Guerinot, M.L. 2002. Iron stress in plants. *Gen. Biol.* 3: 1-4.
12. Diaz J., Bernal A., Pomar F., and Merino, F. 2001. Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. *Plant Sci.* 161: 179-189.
13. Dorlodot, S.D., Lutts, S., and Bertin, P. 2005. Effects of iron toxicity on the growth and mineral composition of interspecific rice. *J. Plant Nutr.* 28: 1-20.
14. Fukuda, T., Ito, H., and Yoshida, T. 2003. Antioxidative polyphenols from Walnuts (*Juglans regia* L.). *Phytochem.* 63: 795-801.
15. Heath, R.L., and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I., kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125: 189-198.
16. Jordy, M.N., Danti, J., Favre, M., and Racchi, M.L. 2000. Histological and biochemical changes in *Pinus spp.* seeds during germination and post-germinative growth: triacylglycerol distribution and catalase activity. *Aus. J. Plant Physiol.* 27: 1109-1117.

17. Kampfenkel, K., and Montagu, V. 1995. Effects of iron Excess on *Nicotiana Plumbaginifolia* plants (implications to oxidative stress). *Plant Physiol.* 107: 725-735.
18. Kar, M., and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiol.* 57: 315-319.
19. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227: 680-685.
20. Lavid, N., Schwrtz, A., Yarden, O., and Tel-Or, E. 2001. The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of waterlily (Nymphaeaceae). *Planta.* 212: 323-331.
21. Liu, X., and Huang, B. 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping. *Crop Sci.* 40: 503-510.
22. Marchner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second Edition Academic Press. 890 pp. New York. 313-323.
23. Mayer, A.M. 2006. Polyphenol oxidase in plants and fungi: going place? A review. *Phytochem.* 67: 2318-2331.
24. Mehraban, P., Abdolzade, A., and Sadeghipour, H.R. 2008. Iron toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) under different potassium nutrition. *AJPS.* 1682-3974: 1-9.
25. Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J. Environ. Stud.* 15: 523-530.
26. Mithofer, A., Sculze, B., and Boland, W. 2004. Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. *FEBS.* 566: 1-5.
27. Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol.* 22: 867-880.
28. Resende, M.L.V., Nojosa, G.B.A., Cavalcanti, L.S., Aguilar, M.A.G., Silva, L.H.C.P., Perez, J.O., Andrade, G.C.G., Carvalho, G.A., and Castro, R.M. 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). *Plant Pathol.* 51: 621-628.
29. Sahrawat, K.L. 2004. Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. *J. Plant Nutr.* 27: 1471-1504.
30. Sahrawat, K.L., and Sika, M. 2002. Comparative tolerance of *Oryza sativa* and *O. glaberrima* rice cultivars for iron toxicity in West Africa. *Inter. Rice Res. Note.* 27:30-31
31. Sakihama, Y., and Yamasaki, H. 2002. Lipid peroxidation induces by phenolics in conjunction with aluminium ions. *Biol. Plantarum.* 45: 249-254.
32. Sakihama, Y., Cohen, M.F., Grace, S.C., and Yamasaki, H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolisc-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicol.* 177: 67-76.
33. Shomali, R., Abdolzadeh, A., Hadadchi, G.H.R., and Sadeghipoor, H.R. 2008. Effect of different potassium and iron concentration on growth, ion contents and some biochemical parameters in rice (var. tarem). *J. Agric. Sci. Natur. Resour.* 14 (5): 71-85

34. Sinha, S., and Saxena, R. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. Chemosphere. 62: 1340-1350.
35. Toralles, R.P., Venderuscicolo, J.L., Venderuscicolo, C.T., Pino, F.A. B., and Antunes, P.L. 2005. Properties of polyphenoloxidase and peroxidase from Granada clingstone peaches. Brazilian J. Food Technol. 8: 233-242.
36. Vansuyt, G., Lopezb, F., Inzeèc, D., Briata, J.F., and Fourcroy, P. 1997. Iron triggers a rapid induction of ascorbate peroxidase gene expression in *Brassica napus*. FEBS Letters. 410: 195-200.
37. Winkel-Shirley, B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Curr. Opin. Plant Biol. 5: 218-223.
38. Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H., and Gomez, K.A. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. Los Baños (Philippines) International Rice Research Institute. 371 pp
39. Zhao, Z.Q., Zhu, Y.G., Kneer, R., and Smith, S.E. 2005. Effect of Zinc on Cadmium Toxicity-Induced Oxidative Stress in Winter Wheat Seedlings. J., Plant Nutr. 28: 1947-1959.



## Effects of iron excess on the antioxidant activity and patterns of protein electrophoresis in *Oryza sativa* var. Shafagh

P. Mehraban<sup>1</sup> and \*A. Abdolzadeh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ph.D. Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Golstan University, Gorgan, Iran,

<sup>2</sup>Associate Prof. Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Golstan University, Gorgan, Iran

Received: 2010-7-24 ; Accepted: 2011-12-26

### Abstract

Iron as an essential element has important roles in chloroplast development, photosynthesis, Fe-S clusters structure, electron transfer and control of redox systems. Excess iron could impair biomacromolecules due to induction of oxidative stress. Iron toxicity is not common and only possible in specific regions such as the Rice fields. The purpose of this investigations were the evaluation of the effects of iron toxicity, consequent oxidative stress and damage routes and tolerate pathways under excess iron in rice (*Oryza sativa*. L) Shafagh Cultivar. The experiments were carried out in completely randomized design and iron treatment was included 10 (control), 150 and 250 mg L<sup>-1</sup> accompanied by Yoshida nutrient solution. Iron excess (250 mg L<sup>-1</sup>) caused significant reduction in plant growth specially roots. Also, antioxidant enzymes activity malondialdehyde (MDA) concentrations as a lipid peroxidation index were increased. In addition to, phenolica and hydrogen peroxide concentration increased under excess iron. In spite of decrease in total soluble protein content, some protein bands, identified in electrophoresis, enhanced under high levels of iron treatments. The electrophoresis pattern of peroxidase enzyme indicated higher activity of this enzyme under excess iron treatments. The results indicated that excess iron increased ROS production and lipid peroxidation and decreased protein content and plants growth. On the contrary, increase of peroxidase activity, phenols content reduced ROS and increased iron toxicity resistance.

**Keywords:** Excess iron; Antioxidant activity; Phenol; Rice

---

\*Corresponding author; Email: ah\_ah99@yahoo.com