



اثرات سمیت آهن بر رشد چهار رقم برنج ایرانی با ناکید بر برخی جنبه‌های بیوشیمایی در متحمل‌ترین رقم

پویان مهربان^۱ و *احمد عبدالزاده^۲

^۱ دانشجوی دکتری گروه زیست‌شناسی دانشگاه گلستان، ^۲ دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه گلستان

چکیده

در این پژوهش اثرات سه تیمار آهن (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر روی چهار رقم برنج شامل ارقام شفق، خزر، هاشمی و صدری در شرایط گلدانی مطالعه شد. پس از شناسایی رقم شفق به‌عنوان متحمل‌ترین رقم، تغییرات برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمایی در محیط کشت شنی و با محلول غذایی یوشیدا، بر روی این رقم و با تیمارهای ۱۰ (شاهد) و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن انجام شد. این آزمایشات به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه انجام شد. نتایج آزمایشات کشت در خاک مزرعه نشان داد که در تیمارهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در همه ارقام، رشد رویشی به‌ویژه رشد ریشه گیاهان و مقدار آب نسبی گیاه به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین کاهش رشد رویشی در رقم خزر و کم‌ترین کاهش در رقم شفق بود. انباشتگی آهن در شرایط سمیت آهن نسبت به شاهد در ریشه بیشتر از بخش هوایی بود. غلظت پتاسیم در همه ارقام کاهش یافت، اما کم‌ترین میزان کاهش پتاسیم تحت تیمار سمیت آهن در رقم شفق دیده شد. نتایج آزمایشات کشت در محیط شنی در رقم شفق نشان داد که تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن احتمالاً از طریق تنش اکسیداتیو مقدار کلروفیل را کاهش داده و در نتیجه با کاهش فتوسنتز مقدار پروتئین و قندهای محلول کم شد. افزایش اسیدهای آمینه کل در تیمار سمیت آهن نتیجه تجزیه و یا کاهش سنتز پروتئین‌ها است.

واژه‌های کلیدی: ارقام برنج، تنش اکسیداتیو، سمیت آهن، ویژگی‌های بیوشیمایی

برنج گیاهی است که امروزه در تغذیه صدها میلیون انسان در سرتاسر جهان نقش داشته و کشت آن در چین و هندوستان سابقه ۷۰۰۰ ساله دارد (فائو، ۲۰۰۵). گیاه برنج برای رشد و بقا به برخی از عناصر فلزی به مقادیر کم نیاز دارد، اما مقادیر زیاد آن ممکن است با ایجاد سمیت سبب کاهش رشد و نمو و حتی خشکیدگی شود. آهن چهارمین عنصر فراوان بعد از اکسیژن، سیلیکون و آلومینیوم در پوسته زمین است (بیکر و اش، ۲۰۰۵). حداکثر جذب آهن از خاک در محدوده اسیدیته ۵/۵ تا ۶/۵ است و اسیدی شدن خاک آهن در دسترس را افزایش می‌دهد. سمیت آهن ممکن است در محدوده وسیعی از خاک‌ها اتفاق بیفتد. از خصوصیات این گونه خاک‌ها داشتن مقادیر بالایی آهن احیا شده و اسیدیته پایین می‌باشد (مانش و اتو، ۱۹۸۰) و ممکن است همراه با کمبود روی و فسفر و سمیت سولفید هیدروژن باشد (کرک، ۱۹۹۵). عامل بسیار مهم در سمیت آهن وجود شرایط غرقابی است که حالت غیر هوازی برای خاک بوجود می‌آورد. از آنجایی که انتشار اکسیژن در خاک بیشتر از آب یا خاک اشباع از آب می‌باشد، اکسیژن موجود در خاک سریعاً به وسیله تنفس میکروارگانیسم‌های خاک و ریشه گیاه در خاک اشباع مصرف می‌شود. با مصرف اکسیژن، NO_3^- ، SO_4^{2-} ، Fe^{3+} و Mn^{4+} می‌توانند به عنوان پذیرنده الکترون برای تنفس میکروبی عمل کنند و به صورت مداوم در زمین‌های غرقاب برنج احیا می‌شوند. اکسیژن و نیترات در همان ساعات و یا روز اول غرقابی مصرف می‌شوند و بعد از این، احیا Mn^{4+} سریعاً اتفاق می‌افتد. چند روز بعد از شرایط غرقابی زمانی که پتانسیل کاهش به کمتر از ۱۵۰-۱۸۰ می‌رسد احیا Fe^{3+} آغاز می‌شود (پاتریک و ردی، ۱۹۷۸).

سمیت آهن یکی از عوامل محدود کننده اصلی تولید برنج در زمین‌های جلگه‌ای می‌باشد (درلودت، ۲۰۰۵). غلظت بحرانی سمیت آهن به کل مواد تغذیه‌ای گیاه بستگی دارد. اگر چه آهن یکی از عناصر ضروری زندگی گیاه می‌باشد اما فراوانی آن در بافت‌های گیاهی با بالا رفتن واکنش‌های فتون که منجر به تولید مقادیر بالایی از رادیکال سمی هیدروکسیل و دیگر اشکال اکسیژن آزاد می‌شود همراه است (کامپفنگل و ون موتاگو، ۱۹۹۵). بروز سمیت آهن در برنج به جذب مقادیر بالای Fe^{2+} توسط ریشه و انتقال آن از طریق آوند چوبی به بخش هوایی بستگی دارد. در داخل برگ مقادیر اضافی Fe^{2+} سبب افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود که به طور برگشت ناپذیری به ساختارهای سلولی آسیب می‌رسانند و در نهایت باعث افزایش مقدار اتیلن در برگ می‌شود (یاماوچی و پنگ، ۱۹۹۵). ساهراوات (۲۰۰۴) گزارش نموده است که مقدار آهنی که در محیط کشت برنج باعث سمیت می‌شود

از کمتر از ۱۰ میلی‌گرم در هر لیتر تا بیش از ۵۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر متغیر است. مقاومت ارقام مختلف، غلظت دیگر عناصر معدنی، دما، تابش خورشید در حد بحرانی سمیت آهن تاثیرگذار است. علائم مشخص سمیت آهن با فرآیندهای تولید رادیکال‌های آزاد، اکسیدشدن کلروفیل و به خصوص تجمع پلی‌فنل‌های اکسید شده مرتبط می‌باشد. این نشانه‌ها معمولاً می‌توانند در مراحل مختلف رشد مانند جوانه‌زنی، رشد رویشی و حتی در مرحله زایشی در برنج بروز کنند (بیکر و اش، ۲۰۰۴). نشانه‌های مشخص سمیت آهن معمولاً به صورت لکه‌های قهوه‌ای ریزی است که از نوک برگ به طرف پایه برگ‌ها گسترش پیدا می‌کند و در نهایت منجر به خشک شدن آن می‌شود. به علاوه در سمیت آهن ریشه کم، کوتاه، کلفت و خشن می‌شود (ساهرآوات، ۲۰۰۴؛ بیکر و اش، ۲۰۰۴). کم شدن محصول مرتبط با سمیت آهن از ۱۲ تا ۳۵ درصد گزارش شده است (ساهرآوات، ۲۰۰۴). اگرچه سمیت در جوانه‌زنی و یا مراحل ابتدایی رویش می‌تواند شدیداً بر رشد تاثیرگذار باشد و در نتیجه محصول کاملاً از بین برود. در بعضی مواقع نیز کاهش محصول تا ۳۰ درصد بدون آنکه نشانه‌های برگ‌گی دیده شود.

با توجه به اهمیت کشت برنج در کشور و اینکه احتمالاً مطالعات اندکی در ارتباط با سمیت آهن بر روی ارقام ایرانی صورت گرفته شده است، هدف از این پژوهش بررسی میزان تحمل سمیت آهن در چهار رقم برنج ایرانی (صدری، هاشمی، شفق و خزر) بر اساس تغییرات رشد و انباشتگی آهن در سطوح زیاد آهن بود. به علاوه برای ارزیابی اثرات سمیت در متحمل‌ترین رقم (شفق) تغییرات برخی صفات فیزیولوژیک در این رقم ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

شرایط کشت گلدانی برنج در خاک: بذره‌های برنج با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد استریل و سپس برای جوانه‌زنی در داخل کاغذ صافی نمدار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در مکانی تاریک نگهداری شد. بعد از جوانه زدن گیاهان در گلدان‌های پر شده از خاک مزرعه (به ابعاد ۱۳ × ۱۰ × ۱۵)، گلدان‌ها به گلخانه انتقال داده شده و برای غرقاب کردن گیاهان در داخل تشت‌های پر از آب قرار گرفتند. نتایج تجزیه خاک در جدول ۱ آمده است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در ۵ تکرار طراحی شد. عامل اول آهن، در ۳ سطح صفر (شاهد)، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود که و از آهن پروسل ۶/۵ درصد (۶۵% FeEDDHA) استفاده شد. عامل

دوم، ارقام برنج شامل ارقامی صدری، هاشمی، شفق و خزر بود که از مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) تهیه شده بود. میانگین دمای گلخانه در طی دوره رشد ۲۶ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی آن ۷۰ درجه بود. گیاهان به مدت ۱۵ روز (تا مرحله ۳ برگگی)، در شرایط غرقابی و بدون کاربرد آهن رشد کردند. گیاهان از روز پانزدهم و به مدت چهار هفته در معرض غلظت‌های مختلف آهن قرار گرفتند. آهن به صورت محلول در آب به گلدان‌ها اضافه شد. گیاهان بعد از گذشت ۴۵ روز برداشت شده و وزن تر و خشک و میزان آهن و پتاسیم در ریشه و بخش هوایی آنها اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- ارزیابی مقدار برخی عناصر و ویژگی‌های خاک مزرعه.

فسفر	پتاسیم	آهن	منگنز	روی	مس	کربن آلی	اسیدیته	هدایت الکتریکی	بافت
		(میلی گرم در کیلوگرم)				(درصد)		(دسی زیمینس بر متر)	خاک
۱۴	۲۲۵	۱۴	۹	۱	۱/۵	۱/۲۴	۷/۶	۱-۱/۲	سیلتی لومی

شرایط کشت در شن با شرایط غرقاب: به منظور ارزیابی اثرات سمیت غلظت‌های آهن در متحل‌ترین رقم مشاهده شده (شفق) در شرایط کشت در خاک، این رقم در محیط شنی در گلخانه کاشته شد. بذور آماده شده مطابق روش کشت در خاک به محیط کشت شنی با شرایط غرقاب انتقال داده شدند. محلول غذایی مورد استفاده برای کشت محلول یوشیدا (۱۹۷۶) بود که براساس تیمارهای آهن تعدیل شد. تیمارهای آهن شامل دو سطح ۱۰ (شاهد) و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن بود. محلول کشت هر هفته تعویض شده و اسیدیته محلول نیز هر روز روی 6.5 ± 0.2 تنظیم شد. میانگین دمای گلخانه در طی دوره آزمایش ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی آن ۶۵ درصد بود. تیمارهای آهن از روز پانزدهم (مرحله ۳ برگگی) و به مدت چهار هفته به محلول غذایی اضافه شد. گیاهان بعد از گذشت ۴۵ روز برداشت شده و وزن تر و خشک، مقدار آهن در ریشه و بخش هوایی و قندهای محلول، پروتئین‌های محلول، اسیدهای آمینه کل و کلروفیل در بخش هوایی آنها اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری مقدار آهن و پتاسیم: برای استخراج عناصر آهن و پتاسیم مقدار ۰/۰۵ گرم از وزن خشک بخش هوایی و ۰/۱ گرم از وزن خشک ریشه گیاهان پودر شده به منظور حذف ترکیبات آلی در داخل کوره در دمای ۵۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت سوزانده شد. خاکستر به دست آمده در ۱ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۶ نرمال محلول شده و به مدت ۱ شبانه‌روز به حالت سکون رها شد.

اندازه‌گیری مقدار پتاسیم بوسیله دستگاه طیف‌سنج نشر شعله‌ای JENWAY انجام گرفت. برای اندازه‌گیری مقدار آهن از دستگاه ICP مدل (SDS-270) GBC استفاده شد.

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی: اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول کل به روش برادفورد (۱۹۷۶) در طول موج ۵۹۵ نانومتر و به وسیله دستگاه طیف‌سنج نوری (UV-160 Shimidzo) انجام شد. برای رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین استفاده شد. استخراج قندها و اسیدهای آمینه با روش اوموکولو (۱۹۹۶) انجام شد. برای اندازه‌گیری اسیدهای آمینه کل از معرف ناین‌هیدرین و روش یم و کوکینگ (۱۹۷۶) استفاده شد. محلول ناین‌هیدرین از مخلوط کردن ناین‌هیدرین ۱ درصد با سیانید پتاسیم ۰/۰۶ درصد در ۱۰۰ میلی‌لیتر استون به دست آمد. برای این منظور از دستگاه طیف‌سنج نوری و در طول موج ۵۷۰ نانومتر و برای رسم منحنی استاندارد گلیسین مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری مقدار قندها بوسیله معرف انترون و با استفاده از روش مک‌ردی (۱۹۵۰) انجام شد. برای ساخت محلول انترون مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم انترون در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک رقیق حل شد. اندازه‌گیری قندهای محلول با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و در طول موج ۶۲۰ نانومتر صورت گرفت. اندازه‌گیری کلروفیل با استفاده از روش آرنون (۱۹۴۹) انجام شد.

محاسبه داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد و تجزیه واریانس توسط برنامه آماری SAS صورت گرفت.

نتایج

کشت گلدانی برنج در خاک و انتخاب رقم متحمل به تنش آهن: بر اساس مشاهدات نظری سمیت آهن در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم آهن در محلول خاک غرقاب موجب بروز لکه‌های خشکیده قهوه‌ای رنگ شد که از نوک و حاشیه برگ‌های مسن آغاز شده و به کل برگ گسترش یافت. جدول تجزیه واریانس صفات رشد و محتوای آهن و پتاسیم تحت تاثیر تیمارهای آهن بر روی ارقام برنج در کشت خاک (جدول ۲) نشان داد که اثر آهن در سطح احتمال ۱ درصد بر کلیه صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود. اثر نوع رقم و همچنین تاثیر متقابل مقدار آهن و نوع رقم نیز بر کلیه صفات به جز مقدار آهن و پتاسیم ریشه معنی‌دار داشت. نتایج، اختلاف میانگین کشت ارقام مختلف گیاه برنج در محیط

خاک با استفاده از آزمون LSD نشان داد، با اینکه در تیمار شاهد میزان وزن بخش هوایی رقم صدری نسبت به دیگر ارقام بررسی شده بالاتر است، اما در تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر آهن، وزن بخش هوایی رقم شفق در سطح ۵ درصد به طور معنی داری بالاتر است (جدول ۳). بیشترین تاثیر تنش ناشی از غلظت زیاد آهن در بخش هوایی بر روی رقم خزر و کمترین تغییرات بر روی رقم شفق دیده شد (جدول ۳).

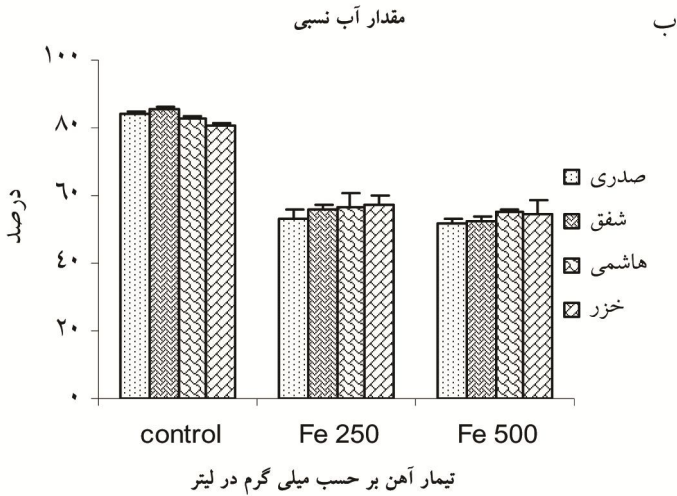
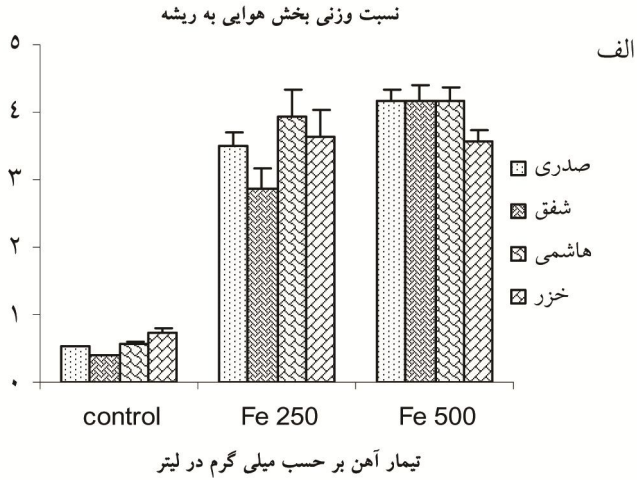
غلظت های بالای آهن کاهش شدید وزن ریشه ارقام برنج را سبب شد، طوری که در تیمارهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر آهن در همه ارقام به طور معنی داری کاهش حجم ریشه نسبت به شرایط شاهد دیده شد (شکل ۱-الف). در وزن خشک بخش هوایی ارقام مختلف در تیمار شاهد تفاوتی دیده نشد، اما افزایش تیمار آهن باعث کم شدن وزن بخش هوایی شد که این تغییرات در رقم شفق نسبت به دیگر ارقام به طور معنی داری کمتر بود (جدول ۳). کمترین میزان وزن خشک بخش هوایی در ارقام خزر و هاشمی که دارای تیمار ۵۰۰ میلی گرم در لیتر آهن بودند دیده می شود. با اینکه در تیمارهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم آهن بر روی وزن تر بخش ریشه ای همه ارقام برنج تفاوت معنی داری دیده نمی شد، اما مقایسه اختلاف میانگین وزن خشک ریشه ارقام متفاوت از آن بود (جدول ۳).

جدول ۲- میانگین مربعات برخی از صفات رشد به همراه مقدار آهن و پتاسیم تحت تیمارهای آهن بر روی ارقام برنج.

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر بخش هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک آهن بخش هوایی	آهن بخش ریشه	پتاسیم بخش هوایی	پتاسیم ریشه
آهن	۲	۵۰۸/۰۱**	۴۰۳۱/۲**	۱۳/۰۳**	۲۹/۵۶**	۶۰/۱۸۸**	۶۶/۶۸**	۱۸۴/۱۸**	۳۶۴/۳**
رقم ها	۳	۱۸/۰۵**	۷۴/۷**	۱/۴۴**	۳/۲**	۴/۵۴*	۲/۴۱*	۱۳/۷۸*	۴۴/۰۵*
آهن × رقم	۶	۱۲/۴۴**	۵۵/۶**	۰/۴۳*	۰/۹۴*	۴/۱۶*	۳/۴۸ ^{NS}	۲۵/۲*	۱۵/۷ ^{NS}
خطا	۴۵	۱/۲	۳/۳	۰/۰۶	۰/۱۷	۱/۲۳	۳/۲۳	۳/۱۸	۸/۱۹
کل	۵۹								

(** و * : در سطح یک و پنج درصد معنی دار شد، NS : غیر معنی دار)

ارقام خزر و هاشمی دارای کمترین و رقم شفق دارای بیشترین مقدار وزن خشک نسبت به ارقام دیگر (صدری) بودند (جدول ۳). نسبت وزنی بخش هوایی به ریشه با افزایش مقدار آهن تا ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت که تقریباً در همه تیمارها یکسان بود (شکل ۱-الف). همچنین درصد آب نسبی با افزایش مقدار آهن در خاک کاهش معنی داری را نشان داد که این تغییرات در ارقام مختلف اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف آهن پروسل ۶/۵ درصد:

الف) نسبت وزنی بخش هوایی به ریشه ب) درصد آب نسبی

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آهن بر روی وزن تر بخش هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک ریشه، وزن تر کل و وزن خشک کل در ارقام مختلف برنج.

سطوح تیمار آهن (میلی گرم در لیتر)					
میانگین	۵۰۰	۲۵۰	شاهد	ارقام	صفات
۸/۸۷±۰/۶۵	۴/۹۸±۰/۳۹	۶/۱۰±۰/۵۴	۱۵/۵۲±۱/۰۲	صدری	وزن تر بخش هوایی
۹/۵۶±۰/۳۶	۷/۴۲±۰/۲۹	۸/۳۸±۰/۵۲	۱۲/۸۷±۰/۲۹	شفق	(گرم)
۸/۲۴±۰/۳۷	۳/۴۱±۰/۲۰	۶/۳۹±۰/۲۳	۱۴/۹۲±۰/۷۰	هاشمی	
۶/۸۱±۰/۲۸	۲/۵۴±۰/۱۲	۴/۲۶±۰/۲۲	۱۳/۶۳±۰/۵۰	خزر	
	۴/۵۶±۰/۲۵	۶/۳۸±۰/۳۷	۱۴/۲۳±۰/۶۲	میانگین	
۱۰/۶۶±۰/۶	۱/۲۱±۰/۱۳	۱/۷۷±۰/۲۲	۲۹/۰۱±۱/۴۶	صدری	وزن تر ریشه
۱۲/۴۸±۰/۷	۱/۸۰±۰/۱۴	۳/۰۹±۰/۴۱	۳۲/۵۶±۱/۶۵	شفق	(گرم)
۹/۵۱±۰/۴۱	۰/۸۳±۰/۰۶	۱/۷۱±۰/۲۲	۲۶/۰۰±۰/۹۵	هاشمی	
۶/۷۷±۰/۴۷	۰/۷۱±۰/۰۳	۱/۲۲±۰/۱۴	۱۸/۳۹±۱/۲۴	خزر	
	۱/۱۳±۰/۰۹	۱/۹۸±۰/۲۴	۲۶/۴۹±۱/۳۲	میانگین	
۱/۷۸±۰/۱۱	۱/۱۵±۰/۱۲	۱/۴۴±۰/۱۰	۲/۷۵±۰/۱۳	صدری	وزن خشک بخش هوایی
۲/۱۱±۰/۱	۱/۷۲±۰/۰۵	۲/۰۳±۰/۱۴	۲/۵۸±۰/۱۲	شفق	(گرم)
۱/۶۴±۰/۱۱	۰/۷۶±۰/۰۴	۱/۳۸±۰/۱۷	۲/۷۷±۰/۱۳	هاشمی	
۱/۳۲±۰/۰۷	۰/۵۷±۰/۰۷	۰/۹۲±۰/۰۵	۲/۴۷±۰/۰۹	خزر	
	۱/۰۴±۰/۰۷	۱/۴۶±۰/۱۱	۲/۶۴±۰/۱۱	میانگین	
۲/۷۷±۰/۰۲	۱/۸۳±۰/۱۷	۲/۲۲±۰/۱۷	۴/۲۵±۰/۲۷	صدری	وزن خشک ریشه
۳/۱۸±۰/۱۷	۲/۶۳±۰/۰۸	۳/۰۰±۰/۲۳	۳/۹۳±۰/۲۱	شفق	(گرم)
۲/۵۳±۰/۱۸	۱/۱۴±۰/۰۳	۲/۱۹±۰/۲۸	۴/۲۶±۰/۲۵	هاشمی	
۲/۰۱±۰/۱۱	۰/۹۳±۰/۱۳	۱/۴۱±۰/۰۹	۳/۶۷±۰/۱۱	خزر	
	۱/۶۲±۰/۱	۲/۲۴±۰/۱۹	۴/۰۲±۰/۲۱	میانگین	
۱۹/۵۳±۱/۲۳	۶/۱۹±۰/۵۱	۷/۸۸±۰/۷۵	۴۴/۵۳±۲/۴۵	صدری	وزن تر کل
۲۲/۰۴±۱/۰۳	۹/۲۳±۰/۴۲	۱۱/۴۷±۰/۸۲	۴۵/۴۳±۱/۸۵	شفق	(گرم)
۱۷/۷۵±۰/۶۷	۴/۲۴±۰/۲۵	۸/۱۰±۰/۴۰	۴۰/۹۳±۱/۳۷	هاشمی	
۱۳/۵۸±۰/۶۸	۳/۲۵±۰/۱۳	۵/۴۸±۰/۳۲	۳۲/۰۲±۱/۶۱	خزر	
	۵/۷±۰/۳۲	۸/۳۷±۰/۵۷	۴۰/۷۲±۱/۸۲	میانگین	
۴/۵۵±۰/۳۲	۲/۹۸±۰/۲۸	۳/۶۷±۰/۲۷	۷/۰۰±۰/۴۳	صدری	وزن خشک کل
۵/۲۹±۰/۲۷	۴/۳۶±۰/۱۳	۵/۰۲±۰/۳۶	۶/۵۱±۰/۳۳	شفق	(گرم)
۴/۱۷±۰/۳	۱/۹۰±۰/۰۷	۳/۵۷±۰/۴۵	۷/۰۳±۰/۳۸	هاشمی	
۳/۳۳±۰/۲۱	۱/۵۰±۰/۲۰	۲/۳۳±۰/۱۴	۶/۱۴±۰/۲۰	خزر	
	۲/۶۷±۰/۱۷	۳/۷۱±۰/۳۰	۶/۶۷±۰/۳۳	میانگین	

* ± خطای استاندارد با ۵ تکرار. میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

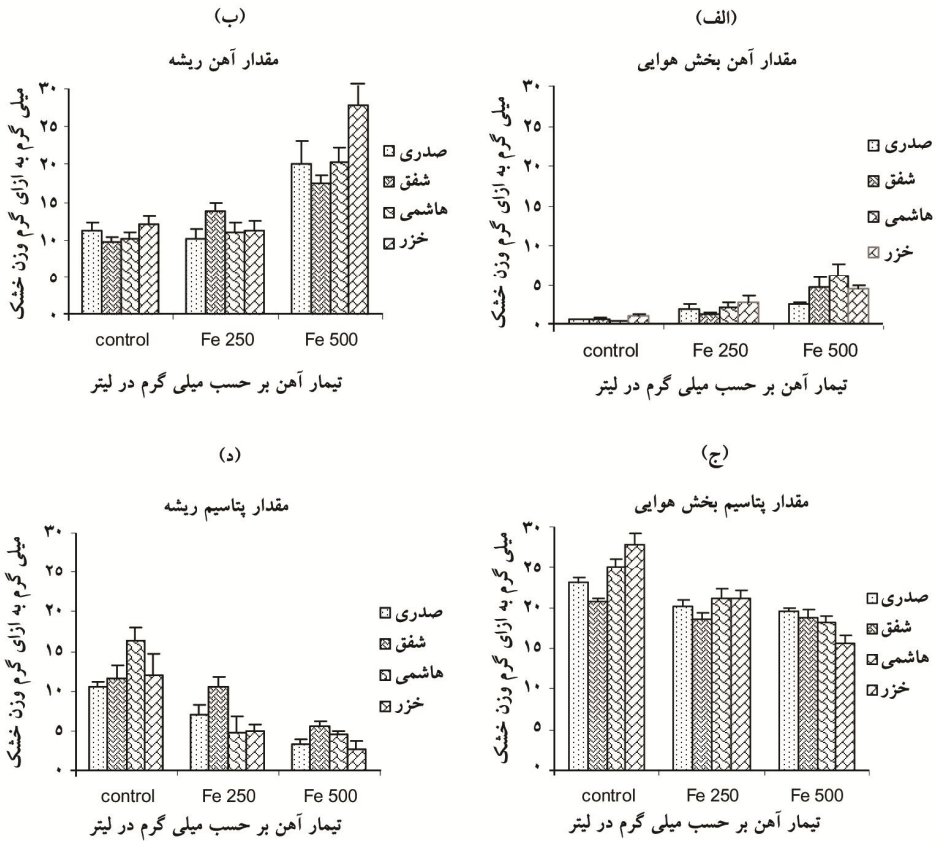
تجمع آهن در بخش هوایی بسیار کمتر از بخش ریشه‌ای بود (شکل ۲). در تیمار شاهد مقدار آهن بخش هوایی ارقام مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، اما با افزایش غلظت تیمار آهن تا ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری غلظت آهن بخش هوایی نسبت به شاهد افزایش یافت. هر چند این افزایش در ارقام تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر رقم هاشمی دارای بیشترین مقدار آهن و رقم صدی دارای کمترین مقدار آهن در بخش هوایی بود. مقدار آهن رقم خزر در ریشه هم در تیمار شاهد و هم در تیمارهای آهن نسبت به ارقام دیگر بالاتر بود (شکل ۲). در تیمار شاهد کم‌ترین تجمع آهن در ریشه رقم شفق دیده شد. با افزایش غلظت آهن به ویژه در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز رقم شفق دارای کم‌ترین تجمع آهن در ریشه بود (شکل ۲).

تجزیه آماری مقدار پتاسیم در ارقام مختلف گیاه برنج نشان می‌دهد که بخش‌بندی پتاسیم در بخش‌هوایی بیشتر از بخش ریشه بود (شکل ۲-ج و ۲-د). در تیمار شاهد محتوای پتاسیم بخش هوایی رقم خزر به‌طور معنی‌داری از همه بالاتر بود. با افزایش تیمار آهن از مقدار پتاسیم بخش هوایی کاسته شد (شکل ۲-د) که این تغییرات در بخش ریشه‌ای نسبت به بخش هوایی مشهودتر بود (شکل ۲-ج). غلظت پتاسیم بخش ریشه‌ای ارقام هاشمی و خزر از همه بالاتر بود، اما با افزایش تیمار آهن تا ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری از غلظت پتاسیم بخش ریشه‌ای این ارقام کاسته شد. کاهش غلظت پتاسیم ناشی از سمیت آهن در رقم شفق کمتر بود. در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ریشه رقم خزر نسبت به ارقام دیگر دارای مقدار پتاسیم کمتری بود (شکل ۲-ج).

کشت برنج در محیط شنی و بررسی صفات بیوشیمیایی: با توجه نتایج آزمایش کشت خاک، رقم شفق به عنوان متحمل‌ترین رقم در محیط شنی کشت شد. مقایسه میانگین تغییرات صفات بیوشیمیایی تحت تیمارهای آهن نشان داد که تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن سبب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی شده است (جدول ۴).

همچنین این تیمار باعث افزایش غلظت آهن در گیاه شد. این افزایش در ریشه نسبت به بخش هوایی چشم‌گیرتر بود، به‌طوری که غلظت آهن ریشه در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در حدود دو برابر بخش هوایی بود. مقدار پروتئین‌های محلول کل در بخش هوایی گیاهان تحت تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن به کمتر از نصف کاهش یافت. بر عکس تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش معنی‌دار مقدار اسیدهای آمینه کل را سبب شد. به‌طوری که در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مقدار اسیدهای آمینه در بخش هوایی نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در

لیتر بیش از دو برابر افزایش پیدا کرد. همچنین سمیت آهن در تیمار ۲۵۰ میلی گرم در لیتر آهن باعث کاهش معنی دار مقدار قندهای محلول و کلروفیل کل شد (جدول ۴).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف آهن بر روی الف) مقدار آهن ریشه ب) مقدار آهن بخش هوایی ج) مقدار پتاسیم ریشه د) مقدار پتاسیم بخش هوایی.

جدول ۴- مقایسه اختلاف میانگین اثر تیمارهای آهن بر برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بخش هوایی رقم شفق در کشت نشی

کلروفیل کل	اسیدهای آمینه	قندهای محلول	پروتئین	آهن ریشه	آهن بخش هوایی	وزن	وزن تر کل	صفات	تیمار آهن
(میلی گرم در وزن تر)	(میکرومول در وزن تر)	(میلی گرم در وزن تر)	(میلی گرم در وزن تر)	(میلی گرم در وزن خشک)	(میلی گرم در وزن خشک)	(میلی گرم در وزن کل)	(گرم)	(گرم)	
۵/۰۶±۰/۳۳	۰/۰۹۳±۰/۰۰۴	۹/۱۷±۳	۲۴/۷۷±۳/۲۴	۱/۸±۰/۱۷	۱/۰۷±۰/۲۱	۱/۵۸±۰/۱۱	۱/۱۶±۰/۶۲		اصلی گرم در لیتر
۲/۸۶±۰/۳۱	۰/۳۶۷±۰/۰۰۲	۵/۷۸±۱/۰۶	۱۳/۲۰±۱/۷۶	۴/۸۵±۰/۳۸	۲/۷۵±۰/۳۴	۱/۰۷±۰/۰۸	۵/۸۴±۰/۳۷		۲۵۰ میلی گرم در لیتر

با توجه به نتایج به دست آمده بهترین شرایط رشد در هر چهار رقم در محیط کشت شاهد حاصل شده است (جدول ۳). با افزایش غلظت آهن تا ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر در خاک از رشد بخش هوایی به شدت کاسته شد و علائم سمیت آهن در گیاهان مشاهده گردید (جدول ۲). بر طبق تحقیقات کامپفنگل و ون موتاگو (۱۹۹۵) و همچنین میتوفر و همکاران (۲۰۰۴) تحت شرایط سمیت آهن مقدار واکنش های فتون و هابروایس که باعث تبدیل رادیکال های آزاد غیر فعال به فعال می شود در گیاه بالا می رود. با بالا رفتن رادیکال آزاد فعال و تاثیر آن بر فعالیت های زیستی گیاه، کاهش رشد با کاهش وزن ریشه و مقدار زیست توده گیاه آغاز و در ادامه باعث ایجاد لکه های قهوه ای و خشکیدگی برگ ها می شود (ساهرآوات، ۲۰۰۴). با افزایش مقدار آهن تا ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به شدت از وزن ریشه کاسته می شود (جدول ۳) به طوری که مقدار وزن ریشه گیاه در سه رقم صدری، هاشمی و خزر به کمتر از نصف مقدار وزن ریشه این ارقام در گیاهان شاهد رسید. همچنین کاهش نسبت وزنی بخش هوایی به ریشه (شکل ۱-الف) نشان دهنده اثرات بیشتر سمیت آهن در ریشه نسبت به بخش هوایی می باشد. افزایش غلظت آهن تا ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر باعث کاهش معنی دار آب نسبی در کل گیاه شد (شکل ۱-ب). نتایج درلودت و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که افزایش مقدار آهن تا ۱۲۵ میلی گرم در لیتر باعث کاهش معنی دار آب نسبی نسبت به شرایط گیاهان شاهد در ارقام مورد آزمایش شد. اما بین ارقام مورد آزمایش تغییراتی دیده نشد. همچنین طبق گزارشات نگوین و همکاران (۲۰۰۵)، تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع یون های روی و مس در گیاه برنج باعث کاهش معنی دار مقدار آب نسبی شد. به نظر می رسد کاهش آب نسبی نشان دهنده کاهش جذب آب و صعود شیره خام در گیاه برای مقابله با بالا رفتن سمیت آهن باشد. با بالا رفتن مقدار آهن در محیط مقدار آهن هم در ریشه و هم در بخش هوایی به طور معنی داری افزایش می یابد (شکل ۲-الف و ب). تخصیص آهن در ریشه بسیار بیشتر از بخش هوایی می باشد (بیش از ۵ برابر). این تفاوت نشان دهنده راهکارهای دفاعی گیاه در برابر ورود آهن به بخش های هوایی می باشد (بیکر و اش، ۲۰۰۵). وضعیت فیزیولوژیک رشد گیاه برنج تحت شرایط غرقابی توانایی گیاه را برای مقاومت به غلظت های بالای آهن تغییر می دهد. تادانو (۱۹۷۸) پیشنهاد کرد که از سه مسیر ریشه های برنج در خشتی کردن سمیت آهن نقش دارد:

- ۱- اکسید شدن آهن در ریزوسفر که به نگهداری غلظت های پایین آهن در محیط کشت کمک می کند.
- ۲- قدرت دفع آهن ریشه که باعث تراوش آهن از ریشه و ممانعت از ورود آن به داخل بخش هوایی

می‌شود. ۳- قدرت انباشتگی آهن در ریشه که آهن در بافت ریشه نگهداری می‌شود و باعث کاهش انتقال آن به بخش هوایی می‌گردد.

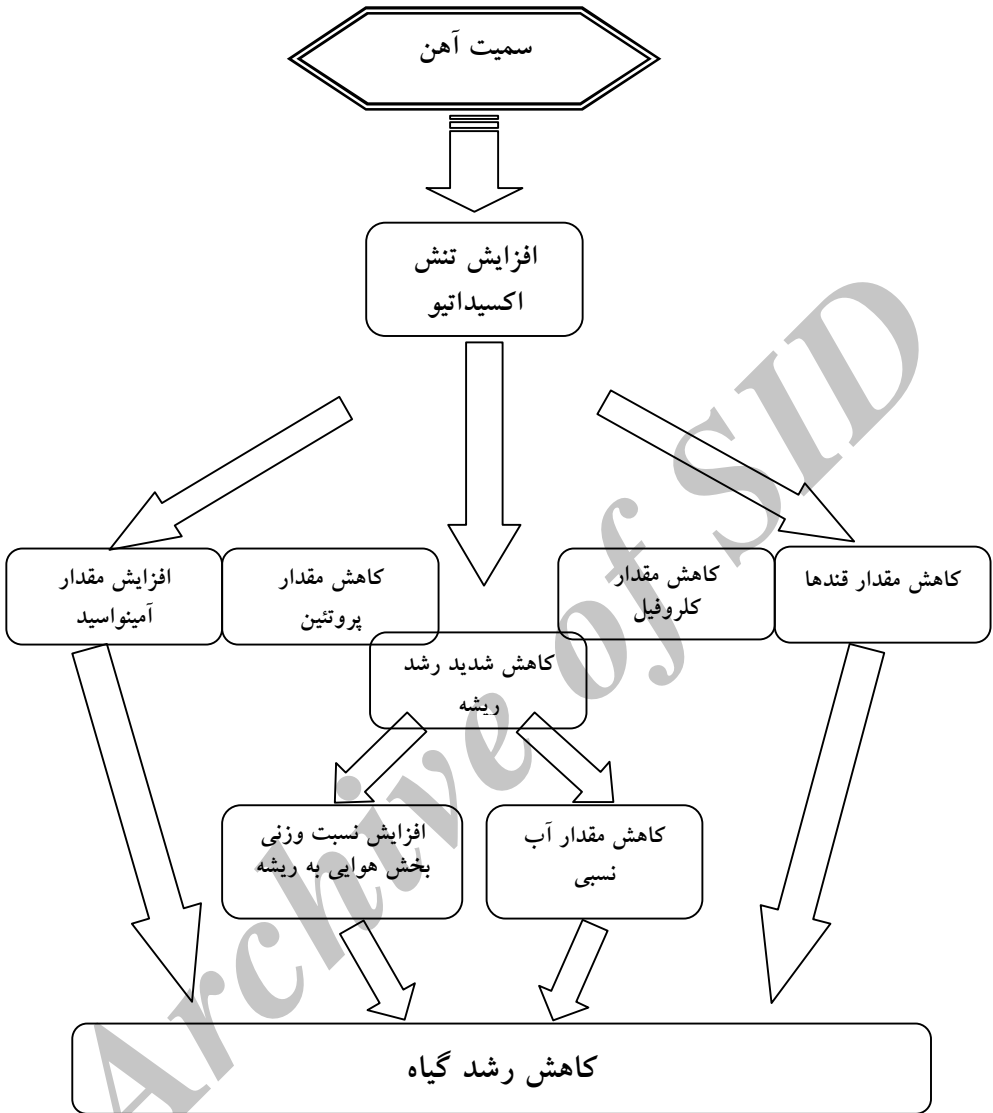
همچنین این شرایط باعث اکسید شدن آهن Fe^{2+} به Fe^{3+} در محلول خاک می‌شود که به نظر می‌رسد در سطح ریشه رسوب پیدا کند. فرایند اکسید شدن آهن نسبت به احیاء آهن در محیط ریشه در بعضی از ارقام برنج (رقم برنج هندی) غالب‌تر است و به طور قابل توجهی تجمع Fe^{3+} و تشکیل پلاک های آهن در سطح ریشه برنج دیده می‌شود (فردریش، ۲۰۰۳). قدرت اکسیداسیون ریشه در منطقه رشد و طولی شدن نسبت به بخش بالایی آن بیشتر است. برای اینکه سمیت آهن اتفاق بیافتد Fe^{2+} باید قبل از جذب توسط ریشه از مانع اکسیداسیون ریزوسفر عبور کند. اگر Fe^{2+} قادر باشد از مانع اکسیداتیو عبور کند به داخل ریشه نفوذ می‌کند ولی بخشی از آن در ریشه باقی می‌ماند و بخش دیگر بعد از عبور از سد نوار کاسپاری از طریق آوند چوبی وارد ساقه می‌شود (مارسندر، ۱۹۹۵). یکی دیگر از سازوکارهای ممکن، انباشتگی آهن در بخش‌های بالایی گیاه مثل نگهداری Fe^{2+} در بافت ساقه (ادبرت و ساهراوات ۲۰۰۰) و یا اپوپلاسم برگ (کوسگارتن و همکاران، ۱۹۹۹) می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده مقدار پتاسیم با افزایش مقدار آهن تا ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هم در بخش هوایی و هم در ریشه کاهش معنی‌داری نشان داده است (شکل ۲- ب و ۲- ج). در بین ارقام رقم شفق از مقدار پتاسیم بالاتری نسبت به دیگر ارقام در تنش آهن برخوردار بود که نشان دهنده یکی از علت‌های بالا بودن زیست‌توده رقم شفق نسبت به دیگر ارقام می‌باشد. نتایج لی و همکاران (۲۰۰۱) و همچنین رامیرز و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که اضافه کردن پتاسیم به محیط کشت برنج می‌تواند باعث افزایش زیست‌توده گیاه برنج در مقابل سمیت آهن در مزارع شود. پتاسیم در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مثل فتوسنتز و تورژانس در گیاهان لازم است و همچنین فعال کننده بسیاری از فعالیت آنزیم‌ها می‌باشد (مارسندر، ۱۹۹۵). در تیمار سمیت آهن مقدار وزن ریشه رقم شفق از تغییرات کمتری نسبت به ارقام دیگر برخوردار است (جدول ۳). ریشه‌های برنج می‌توانند ملکول‌های اکسیژن را در فضاهای هوایی محیط کشت ریشه و آثرانشیم برگ، ساقه، گره‌ها و ریشه انتشار دهند که سبب توان اکسیداسیون بالای ریزوسفر (محیط ریشه) شود (ساهراوات، ۲۰۰۴).

از آنجایی که نتایج این پژوهش آشکار ساخت که رقم شفق با توجه به بالا بودن رشد گیاه نسبت به ارقام دیگر در برابر غلظت‌های بالاتر آهن مقاوم‌تر (رقم مقاوم) است این رقم در آزمایش جداگانه‌ای تحت غلظت‌های بالاتر آهن قرار گرفت تا تغییرات صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی آن

مطالعه گردد. مشابه آزمایشات کشت خاک مقدار آهن بخش هوایی و ریشه نیز افزایش یافت. ازدیاد انباشتگی آهن در ریشه گیاه نسبت به بخش هوایی برنج تحت سمیت آهن به عنوان سازوکار دیگر مقاومت به سمیت توسط محققان دیگر گزارش شده است (بیکر و اش، ۲۰۰۵).

در شرایط طبیعی پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بخش‌های مختلف یاخته‌های گیاهان ایجاد می‌شود (آرورا و همکاران، ۲۰۰۲؛ بهاتراچی، ۲۰۰۵). اما در زیادی آهن فرآیندهای سم‌زدایی به صورت ناقص انجام می‌شود و تجمع آهن در ریشه و بخش هوایی گیاه از طریق تسریع فرآیندهای رادیکال‌های آزاد و کاهش فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا (میتوفر، ۲۰۰۴) موجب تجمع رادیکال‌های آزاد خطرناک در گیاه می‌شود. این امر منجر به کاهش مقدار قندها، پروتئین‌ها و کلروفیل شده و بر عکس اسیدهای آمینه انباشته می‌شوند (جدول ۴).

گزارش شده است که افزایش مقدار آهن با زیادی تنفس نوری و افزایش متابولیسم گیاه برای مقابله با تولید رادیکال‌های آزاد همراه است که می‌تواند باعث کاهش قندها در هنگام تنش آهن باشد. (کامفنگل و ون موتاگو، ۱۹۹۵). افزایش پراکسیده شده پروتئین‌ها و کلروفیل‌ها در نتیجه تنش فلزات در گزارشات بسیاری آورده شده است (مهربان و همکاران، ۲۰۰۸، سینها و ساکسنا، ۲۰۰۶، ژائو و همکاران، ۲۰۰۵، چن و همکاران، ۲۰۰۰). الگوی پیشنهادی ما بدین صورت است که زیادی آهن همراه با افزایش مقدار رادیکال‌های آزاد و تنش اکسیداتیو مقدار کلروفیل‌ها را کاهش داده و در نتیجه با کاهش فتوسنتز مقدار قندها و پروتئین‌های محلول نیز کاهش پیدا کرد (شکل ۳). به نظر می‌رسد افزایش مقدار اسیدهای آمینه کل در سمیت آهن نتیجه تجزیه و یا کاهش سنتز پروتئین‌ها باشد. نتیجه این تغییرات کاهش شدید رشد ریشه و متعاقب آن کم شدن مقدار آب نسبی گیاه و افزایش نسبت وزنی بخش هوایی به ریشه می‌باشد و در نهایت رشد کلی گیاه کاهش می‌یابد. این نتایج نشان می‌داد که رقم شفق در میان ارقام مطالعه شده نسبت به سمیت آهن متحمل‌تر است، هر چند که سمیت آهن با ایجاد تنش اکسیداتیو کاهش رشد این رقم را نیز سبب می‌شود.



شکل ۳- شمای کلی اثرات سمیت آهن در ایجاد تنش اکسیداتیو و کاهش رشد در گیاه برنج.

- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1-15.
- Arora, A., Sairam, R.K., and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. Curr. Sci. 82:1227-1338.
- Audebert, A., and Sahrawat, K.L. 2000. Mechanisms for iron toxicity tolerance in lowland rice. J. Plant Nutr. 23:1877-1885.
- Becker, M., and Asch, F. 2005. Iron toxicity in rice- condition and management concepts. J. Plant Nutr. Soil Sci. 168:558-573.
- Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative stress, senescence and signal transduction in plants. Curr. Sci. 89:1113-1121.
- 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. 72:248-25.
- Chen, Li-Men., Lin, C.C., and Kao, C.H. 2000. Copper toxicity in rice seedlings: changes in antioxidative enzyme activities, H₂O₂ level, and cell wall peroxidase activity in roots. Bot. Bull. Acad. Sin. 41:99-103.
- Dorlodot, S., Lutts, S., and Bertin, P. 2005. Effects of ferrous iron toxicity on the growth and mineral composition of and interspecific rice. J. Plant Nutr. 28:1-20.
- FAO, 2005. Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO), <http://apps.fao.org>.
- Friedrich R., and Wilhelms. 2003. Developing a Standardized Procedure to Screen Lowland Rice (*Oryza sativa*) Seedlings for Tolerance to iron toxicity Msc. Thesis, Rheinische Willhelms University. Bon. Germany.
- Kampfenkel, K., and Montagu, V. 1995. Effects of iron excess on *Nicotiana Plumbaginifolia* plants (implications to oxidative stress). Plant Physiol. 107:725-735.
- Kirk, G.J.D., and Bajita, J.B. 1995. Root-induced iron oxidation, pH changes and zinc solubilization in the rhizosphere of lowland rice. New Phytol. 131:129-137.
- Kosegarten. H.U., Holfmann, B., and Mengel, K. 1999. Apoplastic pH and Fe³⁺ reduction in intact sunflower leaves. Plant Physiol. 121:1069-1079.
- Li, H., Yang, X., and Luo, A. 2001. Ameliorating effect of potassium on iron toxicity in hybrid rice. J. Plant Nutr. 24(12):1849-1860.
- Marchner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London. pp.313-323.
- McCready, R.M., Guggolz, J., Silveira V., and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. Anal. chem. 22:1156-1158.
- Mehraban, P., Abdolzade, A., and Sadeghipour, H.R. 2008. Iron toxicity in rice (*Oryza sativa* L.), under different potassium nutrition. Asian J. Plant Sci. 1682-3974: 1-9.
- Mithofer, A., Sculze, B., and Boland, W. 2004. Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. FEBS. 566:1-5.

- Munch, J.C., and Ottow, J.C.G. 1980. Preferential reduction of amorphous to crystalline iron oxides by bacterial activity. *Soil Sci.* 129:15-21.
- Nguyen H.T.T., Shim, I.S., Kobayashi, K., and Usui, K. 2005. Effects of salt stress on ion accumulation and antioxidative enzyme activities of *Oryza sativa* L. and *Echinochloa oryzicola* Vasing. *Weed Biol. Manage.* 5:1-7.
- Omokolo, N.D., Tsala, N.G., and Djocgoue, P.F. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. And Grif. *Ann. Bot.* 77: 153-158.
- Patrick, W.H., and Reddy, C.N. 1978. Chemical changes in rice soils. *Soils and Rice*; International Rice Research Institute: Manila, Philippines, 361-379.
- Ramirez, L., Classen, N., Ubiera, A., Werner, H., and Movad, A.M. 2002. Effect of phosphorus, potassium and zinc fertilizers on iron toxicity in wetland rice (*Oryza sativa* L.) *Plant Soil.* 239:197-206.
- Sahrawat, K.L. 2004. Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. *J. Plant Nutr.* 27:1471-1504.
- Tadano, T., and Yoshida, S. 1978. Chemical change in submerged soils and their effect on rice growth. *Soils and Rice*; International Rice Research Institute: Manila, Philippines. 399-420.
- Yamauchi, M., and Peng, X.X. 1995. Iron toxicity and stress-induced ethylene production in rice leaves. *Plant Soil.* 173:21-28.
- Yemm, E., and Cocking, E. 1955. The determination of amino acids with ninhydrin. *Analysy.* 80:209-213.
- Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H., and Gomez, K.A. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice Research Institute. Los Baños Philippines.
- 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 toxicity on growth four rice varieties highlighted some biochemical aspects in resistant variety

P. Mehraban¹ and *A. Abdolzadeh²

¹PhD. Student of Biology, Golstan University, Gorgan, Iran

²Associate Prof. of Golstan University, Gorgan, Iran

Abstract

In the present study, effects of iron excess treatments (0, 250, 500 mg L⁻¹) were evaluated in four rice varieties including Shafagh, Khazar, Hashemi and Sadri in pot condition. Afterward, effects of iron excess (10 and 250 mg l⁻¹) were further investigated in the most resistant variety (Shafagh) in sand culture with Yoshida nutrient solution. This experiment was arranged as factorial in RCBD with three replications in greenhouse condition. The results of soil experiments indicated that 250 and 500 mg l⁻¹ treatments of iron reduced plant growth and relative water content in all varieties. The highest and the lowest growth reduction under iron toxicity were observed in Khazar and Shafagh varieties, respectively. Iron accumulation in roots was higher in iron excess treatments in compare to shoots. The potassium concentration decreased in all varieties, however, the lowest decrease rate under stress condition was exhibited by Shafagh variety. The results of sand culture experiments of Shafagh variety indicated that oxidative stress due to 250 mg L⁻¹ iron treatment caused reduction of chlorophyll content and consequently proteins, soluble sugar decreased probably by photosynthesis decline. Increase of amino acids content in plants fed with high iron supply is may be result lower protein synthesis or higher protein degradation.

Keywords: Rice varieties; Oxidant stress; Iron toxicity; Biochemical characteristics

*Corresponding Author; Email: ah_ah99@yahoo.com