Archive of SID

مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ٦، شماره ٢، پاییز و زمستان ٩٦
صفحه ٢٦٨-٢٥٧

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 6, Number 2

بررسی اثر سرب و کادمیوم بر رشد و فعالیت برخی آنزیم‌های اسفناج در شرایط کشت درون شیشه‌ای

Study of the effects of lead and cadmium on growth and enzymatic activity of *Spinacia oleracea* in *in vitro* condition

رعنا ولیزاده کامران [۱]، لمیا وجودی مهربانی*[۲]، محمد باقر حسن‌پور اقدم[۳]

Rana Valizadeh Kamran[1], Lamia Vojodi Mehrabani*[2], Mohamm Bagher Hassanpouraghdam[3]

۱- گروه بیوتکنولوژی ۲- گروه زراعت واصلاح نباتات،
دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز
۳- گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، ایران

1- Department of Agricultural Biotechnology 2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
3- Department of Horticulture, University of Maragheh, Iran

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: vojodilamia@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۹٦/۹/۱۹)

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

چکیده

به منظور بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عنصرهای سرب و کادمیوم (صفر، ۱، ۲، ۳ و ٤ میلی‌گرم در لیتر)، بر رشد، فعالیت آنزیمی و قابلیت جذب عناصر سرب و کادمیوم در گیاه اسفناج آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. ٤٠ روز بعد از کاشت بذرها در محیط کشت MS صفات مورد ارزیابی قرار گرفت. بالاترین میزان تجمع مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن، غلظت کادمیوم ریشه و برگ در تیمارهای ۳ و ٤ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز به ترتیب در غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر و تیمار صفر کادمیوم ثبت شد. بالاترین تعداد و عرض برگ در تیمار شاهد سرب و کادمیوم مشاهده شد. با افزایش غلظت سرب محیط کشت به ٤ میلی‌گرم در لیتر بر محتوای آنزیم‌های مالون دی آلدئید، کاتالاز، سوپر اکسیددسموتاز و پراکسید هیدروژن افزوده شد. بیشترین تجمع سرب در غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر سرب در برگ و ریشه مشاهده گردید. نتایج حاصل از فاکتور غلظت زیستی نشان داد که اسفناج از گیاهان انباشت‌گر کادمیوم و سرب می‌باشد و در مناطقی که احتمال آلودگی به این عنصر وجود دارد می‌توان از اسفناج برای پالایش سبز خاک استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی

اسفناج،
آنزیم،
سرب،
کادمیوم

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

مقدمه

در سال‌های اخیر آلودگی خاک با فلزات سنگین به دلیل فعالیت‌های انسانی (استخراج معادن، فعالیت کارخانه‌ها، رهاسازی فاضلاب‌های صنعتی در طبیعت) به سرعت رو به گسترش می‌باشد. امروزه سطح وسیعی از خاک‌ها به دلیل فعالیت‌های ذکر شده در بالا آلوده به فلز کادمیوم و سرب می‌باشند. آلودگی خاک با کادمیوم و سرب تهدیدی جدی برای سلامتی انسان می‌باشد زیرا کادمیوم به راحتی توسط گیاه جذب می‌شود و وارد زنجیره غذایی انسان می‌شود (Farzanegan *et al.* 2012; Xioa *et al.* 2008). اصلاح خاک‌های آلوده به ترکیبات فلزی و شبه فلزی (به دلیل غیر قابل تجزیه بودن آن‌ها و اثرات فیزیولوژیکی آن‌ها بر موجودات زنده و انسان حتی در غلظت‌های کم) از مهمترین نگرانی‌های جهانی می‌باشد (Munzuroglu and Geckil 2002). بررسی انجام شده در گیاه کلم نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت، رشد گیاه کاهش یافت و در بررسی دقیق تر با میکروسکوپ الکترونی مشخص شد که در اثر تنش وارده به گیاه سلول دچار تغییرات فراساختاری (مانند تغییر در غشای هسته و سلول) شد که خود می‌تواند توجیهی برای کاهش رشد مشاهده شده در گیاه باشد (Ali *et al.* 2015). نتایج مشابهی در خصوص کاهش رشد، کاهش میزان فتوسنتز و کلروفیل در گیاه فلفل گزارش شده است (Latef 2013). وجود سرب در محیط کشت تاثیر منفی بر سرعت جوانه‌زنی، وضعیت آب در گیاه، وزن خشک ریشه و بخش هوایی گیاه، فتوسنتز، جذب عناصر غذایی و فعالیت آنزیمی دارد (Munzuroglu and Geckil, 2002). گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن به صورت طبیعی در اثر فعالیت‌های متابولیکی گیاه تولید می‌شوند اما با وجود فلزات سنگین در محیط رشد گیاه، میزان تولید آنزیم‌های مذکور در گیاه افزایش می‌یابد که دارای اثرات مخرب در گیاه می‌باشند مالون دی آلدئید که در اثر تخریب اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای سلول ایجاد می‌شود یکی از شاخص‌های اصلی تنش وارد شده به گیاه می‌باشد (Demiral and Turkan 2005). از طرفی گیاه مجهز به سیستم آنتی اکسیدانی مانند آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز می‌باشد که از گیاه در مقابل تنش‌های وارده محافظت می‌کنند (Han 1996). سوپراکسید دسموتاز در اولین خط دفاعی در مقابل تنش‌های وارده شده در گیاه ایجاد می‌شود و موجب تبدیل رادیکال‌های سوپراکسید به H_2O_2 می‌شود که بعدا این ترکیب به آب و اکسیژن تجزیه می‌شود (Asoda 1994). در بررسی انجام شده در گیاه شاهی مشخص شد که با افزایش غلظت کادمیوم در خاک بر تجمع کادمیوم در ریشه و برگ گیاه افزوده شد و میانگین مقادیر جذب شده کادمیوم در ریشه ٦٥ و اندام هوایی ٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که نشان دهنده توانایی این گیاه بر پالایش خاک‌های آلوده می‌باشد (Mohamadipour and Asadi kapourcha 2013). در پژوهش انجام شده در گیاه اسفناج مشخص شد که با افزایش غلظت کادمیوم در خاک برمقدار تجمع کادمیوم در ریشه و ساقه گیاه افزوده شد همچنین مشخص شد که با توجه به عملکرد بالای اسفناج و رشد سریع آن اسفناج گیاهی مناسب برای پالایش سبز کادمیم از خاک می‌باشد (Eisazadeh Lazarjan *et al.* 2015). به نظر می‌رسد بین گیاهان از نظر مقاومت به فلزات سنگین موجود در محیط کشت تفاوت وجود داشته باشد. لذا شناسایی گیاهانی که بتوانند به عنوان گیاه پالاینده در جمع آوری این فلزات نقش داشته باشد حائز اهمیت می‌باشد. در مقایسه با روش‌های اصلاح فیزیکی و شیمیایی، پاکسازی خاک با گیاهان روشی مقرون به صرفه و دوستدار محیط زیست می‌باشد. لذا هدف از بررسی انجام شده ارزیابی تاثیر سرب و کادمیوم موجود در محیط کشت اسفناج بر رشد و نمو و محتوای آنزیمی اسفناج (به عنوان یکی از گیاهان مطرح شده در زمینه گیاه پالایی) می‌باشد تا راهگشای استفاده از این گیاه در خاک‌های آلوده به این فلزات باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سرب و کادمیوم موجود در محیط کشت گیاه بر رشد و نمو و برخی ویژگی های فیزیولوژیک اسفناج آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد.

مواد گیاهی

بذور مورد استفاده برای پژوهش حاضر از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری گردید. برای ضدعفونی بذور از هیپوکلرید سدیم ۱۰درصد به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. سپس بذور با آب مقطر استریل سه بار آب کشی شدند. در پژوهش حاضر از محیط کشت MS استفاده گردید و غلظت‌های مختلف سرب و کادمیوم (به صورت کلرید سرب و کادمیوم) (صفر، ۱، ۲، ۳ و ٤ میلی‌گرم در لیتر) به محیط کشت اضافه گردید. لازم به ذکر می‌باشد که pH

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

محیط کشت مورد استفاده در محدوده ۵/٦ تا ۵/۸ تنظیم گردید. ضدعفونی محیط کشت به کمک دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه‌سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه انجام شدند. ۱۰ بذر در هر ظرف در سه تکرار کشت شد. نمونه‌ها در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد با تناوب روشنایی/ تاریکی ۸:۱٦ ساعت نگهداری شد. واکشت گیاهان هر ۲۰ روز یکبار در محیط MS حاوی تیمارهای مورد نظر انجام گرفت. به بعد از رشد گیاهان صفات وزن خشک گیاه، طول و عرض برگ، محتوای سرب برگ و ریشه، محتوای مالون‌دی‌آلدئید، کاتالاز، پراکسید هیدروژن، سوپر اکسید دسموتاز و فاکتور غلظت زیستی اندازه گیری شد.

سنجش محتوای پراکسید هیدروژن:

بدین منظور ۰/۲ گرم از نمونه‌های برگی در نیتروژن مایع پودر شده، سپس با ۵ میلی‌لیتر TCA یک درصد حجمی (حجمی/ وزنی) هموژن گردید. محلول هموژن حاصل در ۱۲۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی، ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی مولار با pH: ۷/۵ و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید. میزان جذب نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید. میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندار مربوطه کمیت‌یابی شد(Najjar-khodabakhsh and Chaparzadeh, 2016).

سنجش محتوای مالون‌دی آلدئید

بدین منظور ۰/۲ گرم از نمونه‌های برگی در نیتروژن مایع پودر شده سپس با ۵ میلی لیتر TCA یک درصد حجمی (حجمی/ وزنی) هموژنیزه گردید. محلول هموژن حاصل در ۱۲۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی لیتر از محلول رویی با ٤ میلی لیتر از مخلوط TCA 20% + TBA 0.5 % ادغام شد و به مدت ۳۰ دقیقه گرم شد. سپس با قراردادن نمونه‌ها بر روی یخ فعالیت آنزیم به سرعت متوقف شد. سپس مخلوط در ۱۰۰۰۰ g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر قرائت شد محتوای مالون دی‌آلدئید بر اساس مقایسه با منحنی استاندارد بیان شد (Najjar-khodabakhsh and Chaparzadeh, 2016)

سنجش محتوای کاتالاز

بدین منظور ۵ گرم از بافت تر در هاون چینی حاوی بافر تریس HCl ، ۰/۰۵ مولار با pH: ۷/۵ به مدت ۳۰ دقیقه در حمام یخ سائیده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حالت سکون نگهداری و بعد به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. بعد از صاف شدن عصاره رویی از آن برای سنجش محتوای کاتالاز مطابق روش (Aebi 1974) استفاده شد. بدین منظور ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات (pH:۷) و ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳٪ در حمام یخ روی ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و منحنی تغییرات جذب در ۲٤۰ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (T 80^{+}, China) قرائت شد. فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی-گرم پروتئین بر اساس تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بافت محاسبه شد.

سنجش محتوای سوپراکسیددسموتاز

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسیموتاز نیز با استناد به روش ریوس گنزالز و همکاران (Rios-Gonzales *et al*. 2002) اندازه گیری شد.

اندازه گیری مقدار کادمیوم و سرب: ابتدا نمونه‌های گیاهی در اون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت خشک شدند. سپس ۰/۳گرم از بخش هوایی گیاه در ارلن مایر ۵۰ میلی-لیتری قرار داده شد و از اسید نیتریک ٦۵٪ و اسید پرکلریک ۷۰٪ به نسبت ۵ به ۱/۵ بر روی نمونه‌ها افزوده شد. نمونه‌ها در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) تا زمانیکه رنگ آن‌ها شفاف شود قرار گرفت. نمونه‌ها از حمام خارج و در دمای محیط سرد شده سپس با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از صاف شدن نمونه‌ها میزان فلز با استفاده از دستگاه جذب اتمی تعیین گردید Ebrahimpour and Mushrifah (2008).

تعیین فاکتور غلظت زیستی (Bio-Concentration Factor): جذب فلز با فاکتور غلظت زیستی نشان داده می‌شود که به عنوان شاخصی برای برآورد توانایی گیاه در تجمع فلزات سنگین استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

می‌شود و به صورت زیر محاسبه می‌شود:

فاکتور غلظت زیستی= میانگین غلظت عنصر در بافت گیاهی ($mg\ Kg^{-1}$)/ غلظت اضافه شده به محیط کشت ($mg\ L^{-1}$)

طرح آماری و نحوه‌ی تجزیه‌ی داده‌ها: داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزارهای آماری MSTATC، SPSS (نسخه ۹/۲) مورد تجزیه قرار گرفت. مقایسه‌ی میانگین‌های تیمارهای مختلف به کمک آزمون LSD انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان دهنده تاثیر معنی‌دار تیمار کادمیوم مورد استفاده بر صفات مورد بررسی به غیراز طول برگ و وزن خشک ریشه بود (جدول ۱).

تاثیر تیمار کادمیوم بر تعداد برگ، عرض برگ و طول دمبرگ:

نتایج حاصل از جدول ۲ نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم از تعداد برگ کاسته شد و بیشترین تعداد برگ در تیمار شاهد و تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم مشاهده شد. کمترین طول دمبرگ در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم مشاهده شد. عرض برگ تحت تاثیر تیمارهای کادمیوم مورد استفاده قرار گرفت و عریض‌ترین برگ ها در تیمار شاهد (۲/۵ سانتی‌متر) و تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر (۲/۳ سانتی‌متر) کادمیوم مشاهده شد. در بررسی‌ها مشخص نموده که کادمیوم شدیدا برای گیاه سمی بوده و حد مجاز این عنصر درگیاه ۰/۰۵-۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه می‌باشد (Xioa *et al*. 2008).

تاثیر تیمار کادمیوم بر وزن خشک برگ:

سطوح کادمیوم مورد استفاده تاثیر منفی بر وزن خشک برگ داشت و کمترین وزن خشک برگ در غلظت‌های ۳ و ٤ میلی-گرم در لیتر کادمیوم و بالاترین میزان وزن خشک برگ در تیمار شاهد (۲/۷٤ گرم) ثبت گردید (جدول ۲). بررسی انجام شده در گیاه کلم نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت گیاه از درصد جوانه‌زنی بذر و وزن‌تر گیاه کاسته شد (Ali *et al*. 2015). همچنین مشخص شد که کادمیوم موجب تاخیر در جوانه‌زنی بذر به دلیل آسیب به غشای سلولی، آشفتگی در جذب مواد غذایی، نشت یونی، تجمع مواد ناشی از تخریب غشای سلولی و کاهش محتوای آب نسبی برگ می‌شود (Smiri *et al*. 2011) در بررسی انجام شده در گیاه اسفناج مشخص شد که با افزایش غلظت کادمیوم در خاک بر تجمع آن در ریشه و برگ افزوده شد (Karimian 2010) که دارای اثرات مخرب بر متابولیسم گیاه از طریق کاهش فتوسنتز به دلیل بسته شدن روزنه-ها، تاثیر منفی بر روابط آبی گیاه و ایجاد تنش می‌باشد. تجمع بالای پرولین در گیاهان تحت تنش دلیل اصلی این مدعا می‌باشد (Gosta *et al*. 1994).

غلظت کادمیوم ریشه و برگ:

تیمارهای کادمیوم مورد استفاده، غلظت کادمیوم در نمونه-های برگ و ریشه را تحت تاثیر قرار داد (جدول۳). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم بر تجمع کادمیوم در ریشه و برگ افزوده شد و حداکثر تجمع این فلز در تیمارهای ۳ و ٤ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. در بررسی انجام شده درگیاه شاهی مشخص شد که تجمع کادمیوم در ریشه بیشتر از بخش هوایی گیاه بود و مشخص شد که گیاه شاهی پتانسیل مناسبی برای پالایش سبز کادمیوم دارد (Vakili and Aboutorab 2013). در بررسی‌های انجام شده در گیاهان اسفناج (Jahanbakhshi *et al*. 2015) و *Salvinia cucullata* (Phetsombat *et al*. 2006) مشخص شد که با افزایش غلظت کادمیوم بر تجمع آن در بخش هوایی گیاهان مورد مطالعه افزوده شد. کادمیوم محلول از طریق حرکت در فضای آزاد دیواره سلولی (مسیر آپوپلاستی) و به وسیله عبور از مسیر سیم پلاستی وارد ریشه می شود و با ورود به جریان شیره خام به اعضای هوایی گیاه انتقال می یابد (Saltet *et al*. 1998). مقدار کادمیومی که از ریشه به ساقه، برگ و اندام هوایی گیاه حرکت می‌کد بستگی به عواملی از قبیل گونه گیاهی، نوع خاک و غلظت اولیه کادمیوم در محلول خاک دارد.

محتوای مالوندی آلدئید

نتایج حاصل از بررسی انجام شده نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت بر میزان فعالیت آنزیم مالوندی آلدئید افزوده شد و بالاترین میزان تجمع کادمیوم در غلظت‌های ٤ (۱۸۲/۱ میکرومول بر گرم وزن‌تر) و ۳ (۱۹٤/۹ میکرومول بر گرم وزن‌تر) میلی‌گرم درلیتر اتفاق افتاد (جدول٤). نتایج مشابهی در خصوص افزایش غلظت MDA با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت که ناشی از تخریب غشای سلولی می‌باشد گزارش شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کادمیوم بر رشد و نمو اسفناج در شرایط درون شیشه ای

Table 1- Analysis of variance for the effects of cadmium on some growth characteristics of *Spinacia oleracea* L. *in vitro*

وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	طول دمبرگ Petiole length	عرض برگ Leaf width	طول برگ Leaf length	تعداد برگ Leaf number	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.o.V.
0.1^{ns}	1.3^{**}	0.04^{*}	0.6^{**}	0.08^{ns}	11^{**}	4	غلظت کادمیوم Cd concentration
0.04	0.02	0.01	0.04	0.05	1.2	10	اشتباه آزمایشی Error
29.1	7.8	7.1	10.6	10.2	15.3	14	CV.

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی داری و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.

ns,* and ** are non-significant and significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively.

جدول۲- مقایسه میانگین اثر کادمیوم بر صفات رشدی اسفناج در کشت درون شیشه ای

Table 2- Mean comparison for the effects of cadmium concentration on some growth characteristics of *Spinacia oleracea in vitro*

تعداد برگ در بوته Leaf number per plant	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g)	طول دمبرگ (cm) Petiole length (cm)	عرض برگ (Cm) Leaf width (cm)	غلظت کادمیوم Cd concentration (mgL^{-1})
10^{a}	2.7^{a}	1.6^{a}	2.3^{a}	0
7.6^{ab}	2.0^{b}	1.5^{a}	2.1^{ab}	1
7.0^{b}	1.9^{b}	1.3^{b}	1.6^{b}	2
5.6^{b}	1.3^{c}	1.5^{a}	1.5^{b}	3
5.3^{b}	1.0^{c}	1.5^{a}	1.4^{b}	4
2.9	0.37	0.28	2.9	LSD 1%

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می باشد.

Means with in a column followed by the same letters are not significantly different based on LSD test.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کادمیوم بر فعالیت آنزیمی و غلظت کادمیوم ریشه و برگ اسفناج در شرایط کشت درون شیشه ای

Table 3- Analysis of variance for the effects of cadmium on enzyme activity and cadmium concentration in root and leaves of *Spinacia oleracea* L. *in vitro*.

غلظت کادمیوم برگ Cadmium concentration of leaf	غلظت کادمیوم ریشه Cadmium concentration of root	مالون دی آلدئید MDA	پراکسید هیدروژن H_2O_2	کاتالاز Catalase	سوپر اکسید دسموتاز SOD	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.o.V.
145^{**}	192^{**}	1289^{**}	898^{**}	0.01^{**}	0.001^{*}	4	غلظت کادمیوم Cd concentration
5.3	0.69	126	31	0.001	0.0001	10	اشتباه آزمایشی Error
2.3	7.3	6.1	2.9	1.8	2.6		CV.

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی داری و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.

ns,* and ** are non- significant and significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر کادمیوم بر فعالیت آنزیمی و غلظت کادمیوم برگ و ریشه اسفناج در کشت درون شیشه ای

Table 4- Mean comparison for the effects of cadmium concentration on leaves and root cadmium content and enzymatic activities of *Spinacia oleracea in vitro*

غلظت کادمیوم ریشه Cd concentration of root (mg Kg DWt^{-1})	غلظت کادمیوم برگ Cd concentration of leaf (mg Kg DWt^{-1})	محتوای مالون دی آلدئید MDA content (µ mol g^{-1} F.Wt)	محتوای پراکسید هیدروژن H_2O_2 content (µ mol g^{-1} F.Wt)	محتوای کاتالاز Catalase content (U mg^{-1}protein)	محتوای سوپراکسید دسموتاز SOD content (U mg^{-1}protein)	غلظت کادمیوم Cd concentration (mg L^{-1})
0^{c}	0^{c}	157^{c}	167^{d}	0.1^{b}	0.07^{a}	0
8.8^{b}	7.8b	178^{bc}	179^{cd}	0.1^{b}	0.05^{b}	1
9.9^{b}	9.3^{b}	172^{bc}	191^{bc}	0.1^{b}	0.04^{b}	2
19^{a}	17^{a}	194^{a}	201^{ab}	0.19^{b}	0.04^{b}	3
18^{a}	16^{a}	182^{ab}	211^{a}	0.27^{a}	0.03^{b}	4
2.1	5.9	2.9	14.5	0.08	0.025	LSD 1%

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می باشد.

Means with in a column followed by the same letters are not significantly different based on LSD test

افزایش محتوای مالون‌دی آلدئید به دلیل افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن در محیط ناشی از تنش ایجاد شده می-باشد که نهایتا موجب آسیب به غشای سلول می‌شود (Ali *et al*. 2015).

محتوای پراکسید هیدروژن

بالاترین میزان پراکسید هیدروژن در غلظت‌های ۳ و٤ میلی گرم در لیتر و کمترین میزان آن در تیمار شاهد (١٦٧/٧ میکرومول بر گرم وزن‌تر) کادمیوم مشاهده شد (جدول٤). نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج تحقیقات انجام شده در گیاه یونجه مطابقت دارد (Ghelich *et al*. 2016). از تبعات مهم افزایش غلظت فلزات سنگین در گیاه تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می-باشد که موجب افزایش فعالیت رادیکال‌های سوپر اکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می‌شود. رادیکال‌های تولید شده موجب هیدرولیز ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین، DNA، آسیب به غشای سلولی و نشت یونی می‌شود (Xiao *et al*. 2008).

محتوای سوپراکسید دسموتاز

بر اساس جدول ٤ بیشترین میزان این آنزیم در تیمار شاهد مشاهده شد و با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت از محتوای آنزیم کاسته شد. گیاهان به روش‌های مختلفی در مقابل آسیب فلزات سنگین از خود مقاومت نشان می‌دهند که شامل ١- اجتناب از ورود فلزات سنگین به سلول از طریق اتصال آن به دیواره سلولی (اغلب این عمل در مورد فلز سرب اعمال می-گردد). ٢- گیاهان از طریق تولید سیستم آنتی‌اکسیدانی که شامل تولید مولکول‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز) با وزن مولکولی کم می‌باشد در مقابل آسیب وارده مقابله می‌کنند (Shu et al. 2011). براساس نتایج به‌دست آمده از جدول ٤ چنین نتیجه‌گیری می‌شود که افزایش در غلظت کادمیوم در محیط کشت تاثیر بازدارنده بر بیوسنتز سوپراکسید دسموتاز دارد.

محتوای کاتالاز

بیشترین میزان آنزیم کاتالاز بر اساس جدول ٤ در تیمار ٤ میلی‌گرم در لیتر (٠/٢٧ جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن‌تر) کادمیوم به دست آمد. بر اساس نتایج حاصله با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت بر فعالیت آنزیم کاتالاز افزوده شد که نشان دهنده کارآیی سیستم آنتی اکسیدانی در محافظت از گیاه می‌باشد. در بررسی انجام شده در گیاهان گندم تحت تنش کادمیوم مشخص شد که با افزایش غلظت کادمیوم محیط از فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه به شدت کاسته شد که نشان

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

دهنده ناکارآمدی این آنزیم در گیاهان گندم تحت تنش کادمیوم بود (Dey et al. 2007).

سرب

نتایج نشان دهنده تاثیر غلظت های سرب مورد استفاده بر تمامی صفات مورد اندازه گیری به غیر از طول برگ، وزن خشک برگ و ریشه بود (جدول ۵ و ٦).

تاثیر سرب موجود در محیط کشت بر تعداد و عرض برگ:

نتایج نشان دهنده تاثیر منفی غلظت سرب موجود در محیط کشت بر صفات مذکور بود نتایج حاصل از جدول ۷ نشان داد که با افزایش غلظت سرب تا ٤ میلی-گرم بر لیتر از تعداد و عرض برگ کاسته شد و بیشترین تعداد برگ (۹ عدد) و عرض برگ (۲/٤٤ سانتی‌متر) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۷). در بررسی انجام شده در گیاه جاتروفا مشخص شد افزایش غلظت سرب محیط کشت، تاثیر بازدارنده بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت فتوسنتز گیاه داشته که منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Shu *et al.* 2011). پاسخ گیاه به سرب به صورت تسریع در پیری برگ، بازداری از بیوسنتز کلروفیل، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، دخالت در جذب عناصر غذایی، کاهش تنفس، آشفتگی در فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین، متابولیسم نیتروژن و فتوسنتز گزارش شده که نهایتا موجب کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Shu *et al.* 2011; Amaranathareddy *et al.* 2015)

تجمع سرب در ریشه و برگ اسفناج:

با افزایش غلظت سرب محیط کشت بر تجمع سرب در ریشه و برگ‌های اسفناج افزوده شد و بیشترین تجمع سرب در غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر در برگ (۲۹/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و ریشه (٥٤ میلی-گرم بر کیلوگرم وزن خشک) مشاهده شد (جدول ۷). به نظر می رسد تجمع سرب در ریشه بیشتر از برگ باشد. در تحقیق انجام شده در گیاه شاهی مشخص شد که با افزایش سطح سرب در خاک وزن تر و خشک گیاه، شاخص کلروفیل، غلظت و جذب آهن توسط گیاه کاهش معنی‌داری یافت (Alidadi Khaliliha *et al.* 2016). در صورت قرارگیری طولانی مدت گیاه در محیط آلوده به سرب در اثر بیان ژن (Thioredoxin- dependent GPx enzyme) و کاهش شدید در فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردکتاز میزان جوانه زنی بذر و وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد. نتایج مشابهی در خصوص تاثیر منفی سرب بر متابولیسم پروتئین و نشاسته در گیاه شاهی گزارش شده است (Alidadi Khaliliha *et al.* 2016). سرب عمدتا از مسیر آپوپلاستی یاکانال‌های یونی کلسیم وارد ریشه می-شود انتقال سرب از مسیر آپوپلاستی به سهولت از طریق انحلال سرب در آب صورت می‌گیرد و نوار کاسپاری مانع از انتقال آن به استوانه مرکزی می‌شود. به همین دلیل تجمع در ریشه بیشتر اتفاق می‌افتد (Sharma and Dubey 2005). مشخص شد که گروه‌های کربوکسیل دیواره سلولی از طریق پیوند با سرب و رسوب آن‌ها روی دیواره سلولی و واکوئل‌ها حدود ۹٦ درصد از سرب وارد شده به گیاه را سمیت زدایی می‌کنند (Sharma and Dubey 2005).

تاثیر سرب بر محتوای مالون‌دی آلدئید:

نتایج حاصل از جدول ۷ نشان دهنده تاثیر معنی-دار سطوح سرب مورد استفاده بر محتوای مالون دی آلدئید نمونه‌ها بود و بیشترین غلظت مالون‌دی آلدئید در غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر سرب (۱۸/٤ میکرومول بر گرم وزن‌تر) مشاهده شد. مالون دی آلدئید فراورده نهایی اکسیداسیون چربی غشای سلول می‌باشد که به عنوان شاخصی از میزان آسیب وارده به گیاه تحت شرایط تنش می‌باشد در تحقیق انجام شده در گیاه شاهی (Bafeel 2010) و باقلای (Wang *et al.* 2010) پرورش یافته تحت غلظت‌های مختلف فلز سرب مشخص شد که وجود عناصر سنگین در محیط کشت گیاه موجب کاهش رشد و آشفتگی در متابولیسم گیاه به دلیل افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز شده که با تخریب لیپیدهای غشای سلول بر محتوای مالون‌دی آلدئید و پراکسیدهیدروژن گیاهان تحت تنش افزوده شد از طرفی کاهش محتوای پروتئین و افزایش در فعالیت سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز در این گیاهان مشاهده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

جدول ۵- تجزیه واریانس غلظت های مختلف سرب موجود در محیط کشت بر رشد و نمو و تجمع سرب در اسفناج در شرایط کشت درون شیشه ای

Table 5- Analysis of variance for the effects of lead concentration on lead content and growth characteristics of *Spinacia oleracea* L. *in vitro*

منابع تغییرات S.o.V	درجه آزادی df	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width (cm)	تعداد برگ در بوته Leaf number per plant	غلظت سرب ریشه Pb concentration of root	غلظت سرب برگ Pb concentration of leaf
تیمار Treatment	4	0.09^{ns}	0.16^{ns}	0.12^{ns}	0.7^{**}	12.4^{**}	1260^{**}	373^{**}
اشتباه آزمایشی Error	10	0.04	0.15	0.12	0.03	0.6	6.9	7.9
CV%		13	67	16	10	13	8	18

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی داری و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.

ns,* and ** are non- significant and significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively.

جدول ٦- تجزیه واریانس غلظت های مختلف سرب موجود در محیط کشت بر محتوای آنزیمی اسفناج در شرایط کشت درون شیشه ای.

Table 6. Analysis of variance for the effects of lead on enzymatic activity of *Spinacia oleracea* L. *in vitro.*

منابع تغییرات S.o.V.	درجه آزادی df	محتوای سوپراکسید دسموتاز SOD content	محتوای کاتالاز Catalase content	محتوای پراکسید هیدروژن H_2O_2 content	محتوای مالون دی آلدئید MDA content
تیمار Treatment	4	86403^{**}	10673^{**}	316^{**}	96^{**}
اشتباه آزمایشی Error	10	1534	29	21	3.3
CV%		5.2	6.2	25.4	17.4

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی داری و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.

ns,* and ** are non- significant and significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively

تاثیر سرب بر محتوای پراکسیدهیدروژن:

با افزایش غلظت سرب در محیط کشت بر تجمع پراکسید هیدروژن در نمونه‌های برگ افزوده شد و بیشترین مقدار آنزیم در تیمار ٤ میلی‌گرم در لیتر سرب (۳۳/٤ میکرومول بر گرم وزن‌تر) مشاهده شد (جدول۷). تجمع پراکسیدهیدروژن در اثر تنش سرب پاسخ عادی گیاه به تنش وارد شده می‌باشد که نقش مهمی در جلوگیری از آسیب به پروتئین و غشای سلولی در مراحل اولیه ایجاد تنش دارد (Nareshkumar *et al*. 2015).

تاثیر سرب بر محتوای کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز:

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب بر محتوای آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز افزوده شد و بیشترین میزان آنزیم ها در غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر سرب مشاهده شد (جدول ۷). نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج بررسی‌های ناریش کومار و همکاران (Nareshkumar *et al*. 2015) در گیاه بادام زمینی مطابقت دارد. در شرایط تنش بر میزان اکسیژن‌های فعال در گیاه افزوده می‌شود و در این شرایط گیاه مکانیزم‌های متفاوتی را برای حذف یا از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن به کار می‌برد که به نظرمی‌رسد افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز درپاسخ به اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر تنش باشد که کاهش جوانه‌زنی بذر و کاهش رشد گیاهچه‌ها در خاک‌های آلوده به سرب، به دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپدهای غشای سلول و افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپر اکسید دسموتاز، گوایکول پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز به

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

منظور کاهش اثرات مخرب آنزیم پراکسید هیدروژن می‌باشد (Wang *et al*. 2010).

فاکتور غلظت زیستی

تجمع عنصر در گیاه بستگی به ویژگی‌های گیاه، گونه و اندام گیاهی و اثرات متقابل فلزات سنگین و سمیت آن‌ها دارد این فاکتور نشان دهنده توانایی گیاه در تجمع فلز خاص نسبت به غلظت آن در محیط کشت گیاه می‌باشد. اگر میزان BCF≥ 1 باشد گیاه توانایی مناسبی برای جذب و انتقال عنصر دارد (Ghosh *et al*. 2005). نتایج حاصل از جدول ۸ نشان دهنده توانایی گیاه اسفناج در جذب سرب و کادمیوم و انباشت آن در گیاه مخصوصا در ناحیه ریشه می‌باشد نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج بررسی **انجام شده در گیاه** بادام زمینی مطابقت دارد (Nareshkumar *et al*. 2015) تحقیق انجام شده در گیاهان اسفناج و شاهی مشخص شد که هر دو گیاه توانایی مناسبی برای گیاه پالایی زمانیکه محیط کشت گیاه آلوده به کادمیوم و کروم باشد را دارند (Jahanbakhshi *et al*. 2015).

نتیجه گیری کلی

در سال‌های اخیر آلودگی محیط زیست با فلزات سنگین به یکی از مسائل مهم زیست محیطی در کل دنیا تبدیل شده است. به طور کلی سرب و کادمیوم تاثیر منفی بر رشد و عملکرد گیاه دارند. غلظت کادمیوم و سرب در اندام هوایی گیاه به شدت تحت تاثیر غلظت‌های سرب و کادمیوم موجود در محیط کشت قرار گرفت. براساس نتایج حاصل تجمع کادمیوم در غلظت‌های ۳ و ٤ میلی‌گرم در لیتر و سرب در غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر در برگ و ریشه اسفناج مشاهده شد. بیشترین تجمع مالون‌دی آلدئید و پراکسید هیدروژن درغلظت‌های ۳ و ٤ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم اتفاق افتاد و بالاترین تجمع آنزیم‌های مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن، کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز در غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر سرب مشاهده شد. در کل اسفناج گیاهی مناسب برای پالایش سبز عناصر سنگین از خاک می‌باشد.

جدول ۷- مقایسه میانگین تاثیر غلظت های سرب موجود در محیط کشت بر برخی صفات فیزیولوژیک اسفناج

Table 7- Mean comparison for the effects of lead on some physiological traits of *Spinacia oleracea* L. *in vitro*

عرض برگ **Leaf width (cm)**	تعداد برگ **Leaf number**	غلظت سرب برگ **Pb concentration of leaf (mg g^{-1}DWt)**	غلظت سرب ریشه **Pb concentration of root (mgg^{-1}DWt)**	کاتالاز **Catalase (U mg^{-1}protein)**	سوپر اکسید دسموتاز **SOD (U mg^{-1}protein)**	محتوای مالون دی آلدئید **MDA (µmolg^{-1}F.Wt)**	محتوای پراکسید هیدروژن **H_2O2 (µmol g^{-1}F.Wt)**	غلظت سرب **Pb concentration (mgL^{-1})**
2.4^{a}	9^{a}	0^{d}	0^{e}	12^{e}	527^{c}	3.5^{d}	5.2^{c}	0
1.9^{b}	6^{b}	10^{c}	21^{d}	39^{d}	686^{b}	6.7^{cd}	14^{bc}	1
1.7^{bc}	5^{bc}	13^{c}	33^{c}	98^{c}	780^{b}	10^{bc}	17^{bc}	2
1.3^{c}	4^{c}	21^{b}	41^{b}	132^{b}	732^{b}	12^{b}	21^{b}	3
1.2^{c}	4^{c}	29^{a}	54^{a}	151^{a}	995^{a}	18^{a}	33^{a}	4
0.4	0.2	7.3	6.7	14.5	101	4.5	12	LSD 1%

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می باشد.

Means with in a column followed by the same letters are not significantly different based on LSD test.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۸- تعیین میزان فاکتور غلظت زیستی کادمیوم و سرب در برگ اسفناج

Table 5- The means for Bio-concentration factor (BCF) amount of lead and cadmium in the leaves of *Spinacia oleracea*.

فاکتور غلظت زیستی	غلظت سرب
Bio-Concentration Factor	**Pb concentration (mgL^{-1})**
0	0
31.8	1
23.4	2
2.9	3
2.8	4
	غلظت کادمیوم
	Cd concentration (mgL^{-1})
0	0
16.6	1
9.5	2
12.9	3
8.8	4

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

منابع

Aebi H, 1974. Catalase. 673-677. In: Bergmeyer, H.U., (Ed.). Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, New York, USA, 641p.

Ali A, Deng X, Hu X, Gill RA, Ali S, Wang S, Zhou W. 2015. Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seeds of *Brassica Napus* L. Journal of Agricultural Science and Technology 17:63-74.

Alidadi Khaliliha M, Dordipour E, Barani Motlagh M. 2016. Interactive effect of iron and lead on growth and their uptake in Cress (*Lepidium sativum* L.). Journal of Soil Management and Sustainable Production 5(4):41-59.

Amaranathareddy V, Lokesh U, Venkatesh B, Sudhakar C. 2015. Pb-stress induced oxidative stress caused alterations in antioxidant efficacy in two groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Cultivars. Agricultural Sciences 6:1283-1297.

Asoda K. 1994. Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissue. In causes of photooxidative stress and amelioration of defense system in plant. (Eds.): Foyer CH, and Mullineaux PM. CRC Press, Boca Raton, Pp.77-104.

Bafeel S. 2010. Physiological and biochemical aspects of tolerance in *Lepidium sativum*. to lead toxicity. Egyptian Society for Environmental Sciences 5(1): 1-7.

Demiral T, Turkan I. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Experimental Botany 53: 247-257.

Dey Sk, Dey J, Patra S, Pothal B. 2007. Changes in antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in wheat seedling exposed to cd and pb. Brazilian Journal of Plant Physiology 19(11): 53-60.

Ebrahimpour M, Mushrifah I. 2008. Heavy metal concentrations (Cd, Cu and Pb) in five aquatic plant species in *Tasik Chini*, Malaysia. Journal of Environmental Geology 54: 689– 698.

Eisazadeh Lazarjan S, Asadi Kapourchal S, Homaee M. 2015. Phytoextraction and estimating optimal time for remediation of Cdcontaminated soils by spinach (*Spinacia oleracea* L.). Journal of Agroecology 6(4): 916-926. (In Farsi with English abstract).

Farzanegan Z, Savaghebi Gh, Hosseiny HMS. 2012. Study of the effects of sulfur and citric acid amendment on phytoextraction of cd and pb from contaminated soil. Journal of Water and Soil 25: 736-745.

Ghelich S., Zarinkamar F, Niknam V. 2016. Lead accumulation and its effects on peroxidase activity,phenolic and flavonoid compounds in seedling stage of *Medicago sativa* L. Iranian Journal of biology 28(1): 164-171.

Ghosh M, Singh SP. 2005. A review on phytoremediation of heavy methals and utilization of its byproducts. Journal of Applied Ecology and Environmental

www.SID.ir

Archive of SID

Research 3 (1): 1-18.

Gosta GM, Michaut JC, Morel JL. 1994. Influence of cadmium on water relations and gas exchanges in phosphorous deficient *Lupinus albus*. Plant Physiology and Biochemistry 32: 105-114.

Han YS. 1999. Advances of the function of Beta-carotene and carotenoids. Journal of China Agricultural University 4: 5- 9.

Jahanbakhshi Sh, Rezaei MR, Sayyari-Zaman MH. 2015. Comparison effect of phytoremediation in cadmium and chromium contaminated soil in *Spinacia oleracea* and *Lepidium sativum*. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Journal of Water and Soil Science 18(70): 1-11.

Karimian NA. 2010. Effects of sulfur application on spinach phytoremediation process of cadmium in contaminated calcareous soils. Journal of Water and Wastewater 4: 52-58. (In Farsi with English abstract).

Latef AA. 2013. Growth and some physiological activites of pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to cadmium stress and mycorrhiza lsymbiosis. Journal of Agricultural Science and Technology 15: 1437-1448.

Mohamadipour F, Asadi kapourchaa S. 2013. Assessing land cress potential for phytoextraction of cadmium from cd- contaminated soils. Journal of Water and Soil Resource Conservation 2(2): 25-34.

Munzuroglu O, Geckil H. 2002. Effects of metals seed germination, root elongationand coleoptiles and hypocotyls growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 43: 61-73.

Najjar-khodabakhsh A, Chaparzadeh N. 2016. The role of ascorbic acid in reduction of oxidative effects of salinity on *Lepidium sativum* L. Journal of Plant Researches 28 (1): 175-185.

Nareshkumar A, Nagamallaiah GV, Pandurangaiah M, Kiranmai K, Amaranathareddy V, Lokesh U, Venkatesh B, Sudhakar C. 2015. Pb-Stress induced oxidative stress caused alterations in antioxidant efficacy in two groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. Agricultural Sciences 6:1283-1297.

Phetsombat S, Kruatrachue M, Pokethitiyook P, Upatham S. 2006. Toxicity and bio-accumulation of cadmium and lead in *Salvinia cucullata*. Journal of Environmental Biology 27 (4):645-652.

Rios-Gonzalez K, Erdei L, Lips S. 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. Plant Science 162: 923-930.

Salt DE, Smith RD, Raskin I. 1998. Phytoremediation. Annual review of plant physiology and plant molecular biology 49: 643-668.

Sharma P, Dubey RS. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of plant physiology 17 (1): 35-52.

Shu X, Yin L, Zhang Q, Wang W. 2011. Effect of Pb toxicity on leaf growth, antioxid ant enzyme activities, and photosynthesis in cuttings and seedlings of *Jatropha curcas* L. Environmental Science and Pollution Research. DOI 10.1007/s11356-011-0625-y.

Smiri M, Chaoui A, Rouhier N, Gelhaye E, Jacquot JP, El Ferjani E. 2011. Cadmium affects the glutathione/glutaredoxin system in germinating pea seeds. Biological Trace Element Research 142:93–105.

Vakili AH, Aboutorab M. 2013. The Potential of *Lepidium sativum* for Phytoremediation of Contaminated Soil with Cadmium. International Journal of Science Research in Knowledge 1(2): 20-24.

Wang C, Tian Y, Wang X, Geng J, Jiang J, Yu H. 2010. Lead-contaminated soil induced oxidative stress, defense response and its indicative biomarkers in roots of *Vicia faba* seedlings. Ecotoxicology 19:1130–1139.

Xiao X, Tongbin C, Zhizhuang A, Mei L. 2008. Potential of *Pteris vittata* L. for phytoremediation of sites co-contaminated with cadmium and arsenic: the tolerance and accumulation. Journal of Environmental Sciences 20: 62-67.

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from gebsj.ir at 10:31 +0430 on Monday May 28th 2018

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 6, Number 2

Study of the effects of lead and cadmium on growth and enzymatic activity of *Spinacia oleracea* in *in vitro* condition

Rana Valizadeh Kamran[1], Lamia Vojodi Mehrabani[2*] , Mohamm Bagher Hassanpouraghdam[3]

1- Department of Agricultural Biotechnology
2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
3- Department of Horticulture, University of Maragheh, Iran
*Corresponding Author: vojodilamia@gmail.com

Abstract

This experiment was conducted to evaluate the effects of different concentrations (0, 1, 2, 3 and 4 mg L^{-1}) of lead (Pb) and cadmium (Cd) *in vitro* on the growth characteristics, enzymatic activity and Pb and Cd compositional content of *Spinacia oleracea* as CRD with three replications. The seeds were cultivated on MS medium and the traits were measured after 40 days. The results revealed that the highest malondialdehyde, H_2O_2 and the highest Cd content in leaves and roots were observed with 3 and 4 mg L^{-1} Cd treatments. The greatest data for catalase and SOD were recorded with four mg L^{-1} Cd and control plants, respectively. The highest data for the leaves number and width was recorded in control plants not receiving Cd and Pb treatments. The results also showed that with any increase in Pb treatment levels, the amounts of MDA, CAT, SOD and H_2O_2 were increased, correspondingly. The highest lead content was measured in the leaves and roots of plants treated with 4 mgL^{-1} of Pb. The results for bio-concentration factor showed that spinach could be considered as an excellent candidate for the phytoremediation of both Cd and Pb**.**

Keywords: *Spinacia oleracea*, Cadmium, enzyme, Lead.

www.SID.ir