بررسی تأثیرکلرید روی و کلرید سرب بر جوانهزنی و رشد دانه رستهای سویا (*Glycine max* L.)

*عليرضا ايرانبخش'، احمد مجد'، فاطمه نقوى"

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی آباد کتول، گلستان– ایران ۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران– ایران ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، واحد علوم وتحقیقات تهران، تهران ـ ایران دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۱ ـ یذیرش: ۱۳۸۹/۱۲/۱

چکیدہ

در این پژوهش اثر غلظتهای مختلف (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰) میلی مولار کلرید روی و ۰/۵، ۰/۵ و ۲۰) میلی مولار کلرید سرب بر گیاه سویا مورد مطالعه قرار گرفت. اثر کلرید روی و کلرید سرب بر درصد جوانهزنی بذر، سرعت جوانهزنی بذر، رشد طولی ریشه، اندام هوایی دانه رستهای سویا و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان مورد بررسی قرار گرفت. بذرها پس از استریل کردن سطحی، به پتری دیشهای حاوی کاغذ صافی منتقل و دمای بهینه برای جوانهزنی ۳۰ درجه سانتیگراد درنظر گرفته شد. از هر تیمار ٤ تکرار و در هر تکرار ٦ بذر وجود داشت. نتایج نشان داد، تنش کلرید سرب تاثیر معنی داری بر درصد جوانهزنی دانه رستها نداشت و افزایش تیمار کلرید سرب و کلرید روی، موجب افزایش سرعت جوانهزنی شده است، اما موجب کاهش طول ریشه، اندام هوایی و طول دانه رست گردید. تنش کلرید روی باعث کاهش معنی دار درصد چوانهزنی در غلظتهای بالا و کاهش طول ریشه و اندام هوایی در همه غلظتها شد. میزان فعالیت آنریمهای کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان تحت تیمار با کلرید روی و کلرید سرب و ماویش ماند. میزان فعالیت آنریمهای کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان تحت تیمار با کلرید روی و کلرید سرب در همه غلظتها شد. میزان فعالیت آنریمهای کاتالاز و آمده از این تحقیق نشان داد که گیاه سویا مقاومت کمی به تنش روی و مقاومت بیشتری نسبت به سرب دارد. به نظر می رسد در تنش کوتاه مدت فلز سرب و روی، گیاه شدت تنش را با القاء پاسخهای سریع کاهش دهد، اما با توجه به تعاریفی که برای گیاهان تحمل کننده فلز سرب و روی، گیاه شدت تنش را با القاء پاسخهای سریع کاهش دهد، اما با توجه به تعاریفی که برای گیاهان تحمل کننده فلز سرب و روی و مود دارد به نظر نمی رسد بتوان گیاه سویا را از گیاهان تحمل کننده به این

كلمات كليدى: روى، رشد طولى، سرب، جوانەزنى، فعاليت أنزيم هاى أنتى اكسيدان، .Glycine max L

مقدمه

در آب، هوا و خاک، یک مشکل زیست محیطی بسیار مهم میباشد (Ernest, 1998). مختل شدن عملکرد فیتوپلانکتونها به عنوان یکی از منابع مهم تولید اکسیژن در دریاها و در نتیجه بر هم خوردن تعادل جهانی موجودات آبزی از مهمترین عوارض نامطلوب

اولین عامل اثـرات آلـودگی فلـزات در یـک اکوسیـستم، وجود فلزات سنگین در زیتوده یـک منطقـه آلـوده اسـت کـه سلامت انسان را به مخاطره میاندازد .تجمع فلـزات سـنگین

حضور سرب در اکوسیستمهای آبی است (Chao, 2003)، سمیت سرب بر گیاه شامل توقف سریع رشد ریشه می شود. ورود مقدار بسیار کم سرب در گیاه می تواند اثرات منفی شگرفی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه داشته باشد. سمیت سرب منجر به توقف فعالیتهای آنزیمی، اختلال در تغذیه معدنی، عدم توازن آبی گیاه، تغییر نفوذپذیری غشاء و تغییر هورمونی می شود در سطوح سلولی توقف فعالیت آنزیمهایی که دارای گروه سولفیدریل (SH-) هستند در سمیت سرب دیده شده است. در دانه رستهای ذرت سمیت سرب باعث نشت یونهای پتاسیم از سلولهای ریشه می شود (Malkovski et al., 2002).

گیاه Ceratophyllum demersum رشد یافته در محیط حاوی نیترات سرب تغییرات مشخصی در ساختار کلروپلاست از جمله کاهش کیسههای گرانا و کاهش استروما نشان می دهد. سرب همچنین ترکیب لیپیدی غشاء تیلاکوئیدها را به هم میزند (Islam et al., 2008). سرب روی محل های گیرنده و دهنده الکترون در فتوسیستم II کمپلکس سیتوکروم fd و فتوسیستم I اثر میگذارد. فتوسیستم I نسبت به فتوسیستم II حساسیت کمتری به ممچنین باعث فروپاشی پلی پپتیدهای خارجی کمپلکس آزاد ملمود (Islam et al., 2007). سرب فقوسیستم I نسبت به فتوسیستم II حساسیت کمتری به کمپلکس می ده این و می دو دا زاد می کنده اکسیم، ممچنین باعث فروپاشی پلی پپتیدهای خارجی کمپلکس آزاد ملا و منگنز از کمپلکس فوق می شود (, 1993). دانشمندان بر این عقیدهاند کاهش فتوسنتز در اثر استفاده از سرب بیشتر درنتیجه بسته شدن روزنه هاست تا اثر مستقیم آن بر فرایند فتوسنتز (, 2004).

تولید ROS القاء شده در اثر تنش فلز سرب به عواملی چون شدت تنش، گونه، سن گیاه و طول مدت تنش بستگی دارد. پراکسیداسیون لیپیدها که به عنوان شاخص آسیب اکسیداتیو تلقی می شود در تجزیه و تخریب باقیمانده های گروه آسیل چربی های اشباع نشده غشایی دخالت دارد (Yadav, 2010).

بازدارندگی فعالیت فتوسیستم II به واسطه جانشینی روی به جای منگنز در غشاء تیلاکوئیدها ست. در این غـشاها در شرایط نرمال ۱۲ اتم منگنز و روی بـه ازاء هـر ٤٠٠ مولکول کلروفیل وجود دارد. این در حالی است که در شـرایط تـنش ناشی از غلظت بالای روی این نسبت به ۱۲ اتم منگنز و ۳۰ اتم روی تغییر میکند (قربانلی و بابالار، ۱۳۸۲).

در پاسخ به انواع اکسیژن فعال میزان فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آنزیمهای سیکل گلوتاتیون – آسکوربات مثل آسکوربات پراکسیداز، مونودهیدروآسکوربات ردوکتازوگلوتایون ردوکتاز افزایش مییابد (Prasa et al., 1999). در گیاه برنج ردوکتاز افزایش در میران (Murakami et al., 2009) و کلزا نیز افزایش در میران فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان گزارش شده است (al., 2009).

با توجه به مطلب ذکر شده و نیز با توجه به اینکه سویا در ایران در سطح بسیار وسیعی کشت می شود و به دلیل داشتن پروتئین، لیپید، هیدرات کربن و عناصر معدنی دارای ارزش غذایی بالایی می باشد به طوری که در وزارت جهاد کشاورزی طرحی تحت عنوان تأمین منابع روغن نباتی کشور کشاورزی طرحی تحت عنوان تأمین منابع روغن نباتی کشور اروغنی در کشور، درصد خود کفایی به تولید این محصول را افزایش دهد (نوری و جهان نما، ۱۳۸۷)، این مطالعه به بررسی تاثیر فلزات سنگین روی و سرب در جوانه زنی و برخی پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا می پردازد.

مواد و روشها

مواد گیاهی و شرایط کشت

در ایس تحقیق، گیاه سویا (Glycine max) از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج تهیه گردیـد. کلریـد روی در ٤ سطح (٥، ١٠، ١٥ و ٢٠ میلیمولار) و کلرید سرب در ٤ سطح (٥/، ٢/٥، ٥/٥ و ٥/٦ میلیمولار) اعمال گردیـد. ٦ عدد بذر سالم و یکنواخت، در محلول هیپوکلریت سدیم ٥ درصد استریل و پس از شستشو به پتـریهای حاوی کاغـذ صافی انتقال یافتند در این مرحله تیمارهای مختلف کلریـد

سرب و کلرید روی به پتریها اضافه شد (هر تیمار با ٤ تکرار). تعدادی از پتری دیشها به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که آب مقطر استریل شده به آنها اضافه شد. به منظور دستیابی به اهداف موردنظر در این پژوهش، آزمایشها به طور کلی به ۲ گروه تقسیم بندی شدند که عبارتند از:

- بررسی اثر جوانهزنی بذر و برخی از فرایندهای رشدو تکوین در گیاهانی که درپتـری بـه مـدت ۷ روز کـشت داده شدند.

- بررسی برخی از فرایندهای رشـد و سـنجش.هـای بیـو شیمیایی در کشت گلدانی.

پتری دیش ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۵^oC در داخل انکو باتور جهت جوانهزنی منتقل شدند به مدت ۷ روز همین عمل را تکرار کرده. طی این مدت تعداد بذ رهای جوانه زده به منظور تعین درصد جوانهزنی و سرعت جوانهزنی بررسی شد. خروج ریشه اصلی را از پوست بذر به عنوان زمان شروع جوانهزنی در نظر گرفته (Shakirova, 2003) و سپس درصد جوانهزنی بدرها گرفته (GP) (PG=100(N' /N)

N' : تعداد بـذرهـای جوانـه زده،N : تعـداد كـل بـذرهـا مى باشد.

زمان لازم برای جوانهزنی درصد بذرها را به عنوان سرعت جوانهزنی در نظر گرفته و آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. بعد از مدت۷ روز طول دانه رستها بررسی شد.

به منظور کشت گلدانی از گلدانهای محتوی خاک لومی – رسی با 6.8 pH استفاده شد.گلدانها در روشنایی لامپهای فلورسنت و تنگستن (۲۵۰۰۰–۲۰۰۰لوکس) طول دوره روشنایی و تاریکی ۸–۱٦ساعت و میزان رطوبت نسبی ٦٠ الی ۹۰ درصد قرار داده شد.و گلدانها با محلول غذایی هو گلند ۱/۲ تغذیه شدند. برای هر تیمار ٤ تکرار درنظر گرفته شد. سپس تیمار دهی شروع شد. طول دوره تیماردهی ١٤ روز ادامه داشت. بعد از ٤٥ روز گیاهان جهت سنجشهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برداشت شدند.

طول گیاه (با استفاده از خط کش مدرج طول کل
گیاه و ریشه و اندام هوایی اندازه گیری شد).
پارامترهای مختلف از قبیل طول ریشه و طول
بخشهای هوایی بر حسب سانتی متر (هیپو کوتیل و اپی
کوتیل) محاسبه و یاداشت گردید.
سنجشهای آنزیمی

Pereira به منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Pereira و همکاران (۲۰۰۲) استفاده شد. بررسی میزان فعالیت آنـزیم

کاتالاز و میزان کاهش H₂O₂ با مطالعه تغییرات جذب در ۲٤۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه انجام شد. فرایند با افزودن مقدار مناسب عصاره آنزیمی ۰/۱ میلی لیتر در حجم ۳ میلی لیتر آغاز شد.

به منظور سنجش فعالیت آنزیم پر اکسیداز، ابتدا تعدادی لوله آزمایش را در یخ قرار داده و به هر کدام ٤ میلی لیتر بافر استات ۲/۰ مولار با 5 pH و ٤/۰ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۲/۰ میلی لیتر بنزیدین ۲۰/۰ مولار، متانول ۵۰ درصد اضافه شد و در نهایت ۱/۰ میلی لیتر از عصاره استخراجی به هر لوله اضافه شد و تغییرات جذب در طول زمان بلافاصله در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه گیری شد فعالیت آنزیم در دانه رستها به مدت ۳ دقیقه در برابر شاهد فاقد عصاره آنزیمی با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر (Biles & Abeles, 1991).

روشها و ابزار تجزیه و تحلیل دادهها

پس از جمع آوری و بررسی دادههای بدست آمده را از طریق نرم افزار SPSS در سطح P<۰/۰۵ مورد بررسی آماری قرار داده تا معنی دار بودن اختلاف مشخص گردد و نمودارها از طریق نرم افزار Excel رسم شد.

نتايج

در این تحقیق نتایج حاصل از بررسی درصد جوانهزنی طی ٤ روز نشان داد که درصد جوانهزنی با بالا رفتن غلظت کلرید سرب افزایش مییابد. در مورد روی درصد جوانهزنی با بالا رفتن غلظت فلز کاهش نشان داد. در روز چهارم درصد جوانهزنی در تیمارهای مختلف کلرید روی کاهش یافت که این کاهش در دو غلظت بالاتر یعنی ۱۵ و ۲۰ میلی مولار

نسبت به گیاه شاهد معنی دار بود. در تیمارهای مختلف کلرید سرب درصد جوانهزنی افزایش یافت که این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود (شکلهای ۱و۲).



شکل ۱: اثر غلظتهای مختلف کلرید روی بر درصد جوانهزنی



شکل ۲: اثر غلظتهای مختلف کلرید سرب بردرصد جوانهزنی

گياه سويا

نتایج مربوط به سرعت جوانهزنی بذر سویا در تیمارهای مختلف کلرید روی و کلرید سرب در شکلهای ۳ و ٤ نشان داده شده است. دادهها نشان میدهد که افزایش غلظت کلرید روی و کلرید سرب موجب افزایش سرعت جوانهزنی شده است که این افزایش از نظر آماری در سطح ۰/۰۰ معنیدار



شکل ۳: اثر غلظتهای مختلف کلرید روی بر سرعت جوانهزنی گیاه سویا



سخل ع. الر علط های محملف کلرید سرب بر سرعت جواندریی گیاه سویا

نتایج حاصل از اندازه گیری طول ریشه و اندام هوایی در شکلهای ۵ و ٦ نشان داده شده است.

داده ها نشان می دهد طول ریشه در گیاهان تحت تیمار با روی کاهش می یابد. این کاهش در غلظت ۵ میلی مول نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۰) معنی دار نبود. اما در سایر غلظتها معنی دار بود. طول ریشه در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کاهش تنها در غلظتهای بالای سرب (۲/۵ و ۲/۵ میلی مول سرب) از نظر آماری معنی دار بود.

طول اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار با روی کاهش نشان داد که این کاهش تنها در غلظتهای بالای روی (۱۵ و ۲۰ میلی مولار) از نظر آماری معنی دار بود. طول اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کاهش تنها در غلظتهای بالای سرب (۲/۵ و ۲/۵ میلی مول سرب) از نظر آماری معنی دار بود.

نتایج مربوط به طول دانـه رسـت در کـشت گلـدانی در غلظتهای مختلف سرب و روی در شکلهـای ۷ و ۸ نـشان داده شده است.



شکل ۵: اثر غلظتهای مختلف کلریدروی بر طول ریشه و بخش هوایی در گیاه سویا

Archive of SID



شکل ۹: اثر غلظتهای مختلف کلریدروی بر فعالیت آنزیم کاتالاز



نتایج حاصل از اندازه گیری اثر غلظت های مختلف روی و سرب بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در شکلهای ۱۱ و ۱۲ نشان داده شده است.



شکل ۱۱: اثر غلظتهای مختلف کلرید روی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه سویا



شکل ۱۲: اثر غلظتهای مختلف کلرید سرب بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه سویا



شکل ٦: اثر غلظتهای مختلف کلرید سرب بر طول ریشه و بخش هوایی در گیاه سویا

دادهها نشان می دهد طول دانه رست در گیاهان تحت تیمار با روی کاهش نشان داد که این کاهش در همه غلظتها در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود. طول دانه رست در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز در همه غلظتها کاهش معنی دار نشان داد.



شکل ۷: اثر غلظتهای مختلف کلرید روی بر طول دانه رست در

گياه سو يا



شکل ۸: اثر غلظتهای مختلف کلرید سرب بر طول دانه رست در گیاه سویا

نتایج حاصل از اندازه گیری اثر غلظتهای مختلف روی و سرب بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شکلهای ۹ و ۱۰ نشان داده شده است. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت تیمار با روی و سرب افزایش نشان داد که این افزایش در همه غلظتها معنی دار بود. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان شاهد به میزان ۱/۹ Unitg-lfw گزارش شد. این مقدار در گیاهان تیمار شده با سرب و روی به ترتیب به مقدار ایر

داده ها نشان می دهد میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه گیاهان شاهد از ۱/۵ Unitg-1fw به ۲/۹ در گیاهان تحت تیمار با روی ۱/۹٤ Unitg-1fw در گیاهان تیمار شده با سرب افزایش مییابد که این افزایش در همه غلظتها معنی دار بود. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ گیاهان شاهد Unitg-1fw گزارش شد.

حث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مسمومیت با سرب سرعت و درصد جوانهزنی بذر سویا را افزایش داد. مسمومیت با روی در غلظت بالا کاهش معنی داری در جوانهزنی بذر داشت (شکلهای ۱ و ۲). در آزمایش انجام شده توسط Islam و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده شد که غلظتهای مختلف سرب اثرات متفاوتی بر درصد جوانهزنی دارد. در این تحقیق غلظت اثرات مناوتی بر درصد جوانهزنی داری بر درصد جوانهزنی نداشت اما در غلظت M۱۰۰۴ کاهش جوانهزنی و رشد ساقه چه و ریشه چه معنی دار بود (Islam, 2007).

در نتایج An (۲۰۰٦) مشخص شد غلظت های مختلف سرب بر درصد جوانهزنی گیاهان مختلف اثرات متفاوت دارد به عنوان مثال درصد جوانهزنی در گیاه ذرت خوشهای (Sorghum bicolor) در حضور ۲۰-۲۶ سرب در خاک کاهش نشان داد اما در غلظت های بالاتر از ۲۶۰ تا ۱۲۸۰ درصد جوانهزنی به تدریج افزایش یافت. در دو گیاه مراد دو گیاه درت (Zea mays) درصد جوانهزنی تغییر معنی داری در غلظت ۲۰-۱۲۸ نشان نداد. تغییر معنی داری در غلظت ۲۰-۲۲۸ نشان نداد. در گندم (Triticum aestivum) حتی درصد جوانهزنی افزایش نشان داد، اما این افزایش نسبت به گیاه شاهد معنی دار نبود (An, 2004).

بررسی اثر سرب بر جوانهزنی در نتایج چراتی و خانلریان (۱۳۸۷) نشان داد که غلظت های سرب شامل ۲۰۰، ۶۰۰، ۲۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ میکرومول بر لیتر موجب کاهش جوانهزنی در هر دو رقم Hyola و PF کلزا گردید (چراتی و خانلریان، ۱۳۸۷).

وجود سرب در محیط رشد گیاه، جوانهزنی دانه را به واسطه کاهش جذب آب توسط دانه تحت تأثیر قرار نمی دهد، چرا که پوشش دانه در مرحله اول جذب آب، زمانی که جذب آب نسبتاً شدید است نسبت به سرب نفوذناپذیر بوده ولی در مراحل پایانی جذب آب توسط دانه، وقتی که جذب آب کاهش مییابد، پوشش دانه به سرب نفوذپذیرتر می شود. سربی که در مرحله پایانی جذب آب به داخل جنین نفوذ میکند، جوانهزنی را به تأخیر می اندازد (چراتی و خانلریان،

در این تحقیق، عدم کاهش معنی دار جوانه زنی بذر سویا نسبت به نمونه های گیاه شاهد احتمالا به دلیل عدم نفوذ سرب بوده است. اما روی اضافی احتمالاً با مختل کردن یکپارچگی و نفوذپذیری غشاء، جوانه زنی را کاهش داده است (Rout, 2003).

با توجه به نتایج بدست آمده، توانایی جوانهزنی در گیاه سویا در غلظتهای مختلف سرب بیش از روی بود. به طوری که سرب در غلظتهای بالا درصد جوانهزنی را بالاتر برد. هرچند که این افزایش معنی دار نبود.

تعیین اثرات بازدارنده سرب و روی بر رشد طولی ریشههایی که در معرض این عناصر میباشند معمول ترین شیوه برای تشخیص اثرات بازدارنده فلز سنگین بر رشد میباشد (Zu et al., 2005). نتایج این تحقیق نشان داد مسمومیت با سرب در درجه اول بازدارنده رشد ریشه است، که به دلیل تجمع زیاد سرب در ریشه و اثر سمی آن میباشد . ابقاء سرب در ریشهها به پیوند آن با محلهای قابل تعویض در دیواره سلولی و رسوب کربنات سرب در دیواره سلولی بستگی دارد. این نتایج در مطالعات انجام گرفته بر روی این گیاه و گیاهان دیگر نیز مشاهده شده است.

بررسی ها نشان داده است که در بخش هایی از دیواره که ضخامت کمتری دارد مانند محل پلاسمودسماتا حجم بیشتری از سرب تجمع مییابد. لذا می توان چنین استدلال کرد که سرب انباشته شده روی دیواره موجب بروز شکاف در دیواره شده و قدرت ارتجاعی و الاستیکی دیواره را به شدت کاهش (Stoyanova and Doncheva, 2002). سمیت روی در گیاه رشد ریشه و بخش هوایی را محدود میکند و زردی و کلروز را در بر گهای جوان القاء میکند (Murakami and Ae, را در بر گهای جوان القاء میکند (2009). 2009). روی با بلوکه کردن مرحله اینترفاز، طولانی ساختن مرحله پروفاز و G2 و نیز توقف سنتز پروتئینهای ساختن مورد نیاز چرخه سلولی و سنتز اسیدهای نوکلئیک فرایند El-Ghamery et (میدهد (El-Ghamery et تقسیم سلولی را تحت تاثیر قرار میدهد (stop 2003). در اثر سمیت با روی مختل میشود. در سطح مولکولی نیز بر بیان بسیاری از ژنها تاثیر میگذارد (Wang et al., 2009).

گیاهان در محیط تحت تنش های زیستی و غیر زیستی قرار می گیرند. یک پاسخ مهم به تنش توسط سلولهای هوازی تولید ROS است که یک نمونه از آن آب اکسیژنه میباشد. کاتالاز دارای گروه هم است که در تجزیه آب اکسیژنه به آب و مولکول اکسیژن دخالت میکند و یکی از آنزیمهای کلیدی در حذف پراکسیدهای سمی است (Lin آنزیمهای کلیدی در حذف پراکسیدهای سمی است (فاعی آنزیمهای کلیدی در حذف پراکسیدهای محمی است و افزایش می اید. حذف مقادیر اضافی و دخالت در تنظیم آنزیم کاتالاز و پراکسیداز میباشد ولی آنزیم کاتالاز در این آنزیم کاتالاز و پراکسیداز میباشد ولی آنزیم کاتالاز در این عملکرد نقش موثری را ایفا میکند.. در این آزمایش با افزایش لام معالیت کاتالاز افزایش یافت (میباشد ایش کانلات سرب فعالیت کاتالاز افزایش یافت (میروی).

در آزمایش انجام شده توسط Verma و همکاران (۲۰۰۳) در دانه رستهای گیاه برنج نشان داد افزایش سرب تـا ۱۰۰۰ میکرومول باعث کاهش فعالیت کاتالاز در ریـشه شـد کـه در تقابل با نتایج این تحقیق است.

آزمایش Wang و همکاران نیز افزایش فعالیت کاتالاز را در گیاه باقلا گزارش کردند (Schutzendubl & Polle, 2002) که در تأیید نتایج این تحقیق میباشد.

از آن جایی که آنزیم پراکسیداز مرتبط با تسکیل رادیکال های آزاد اکسیژن میباشد، سرب افزایش واکنش های میدهد و این پدیده موجب توقف رشد سلول و متعاقبا توقف رشد اندام می گردد (Ruley et al., 2006). نتایج به دست آمده از آزمایش John و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه کلزا کاهش رشد گیاه را درنتیجه تنش سمیت سرب را تائید میکند. کاهش رشد گیاه درنتیجه کاهش پتانسیل آبی، میکند. کاهش رشد گیاه درنتیجه کاهش پتانسیل آبی، ممانعت از جذب مواد مغذی و تنشهای ثانویه ای چون تنش را در سلولهای مریستمی به هم میریزد که خود مانعی برای رشد محسوب می شود (2000, Eun et al. 2000). طبق گزارش میتوز دخالت دارند و در نتیجه باعث توقف سلول در مرحله پیش متافازی شده (2000, Yang). قسمت اعظم سرب جذب شده در دیواره سلولهای ریشه رسوب کرده، موجب ایجاد شده در دیواره سلولهای ریشه رسوب کرده، موجب ایجاد شکافهایی در دیواره شده و در نتیجه از رشد طولی ریشه ممانعت می کند (Elloumi et al., 2007).

Ma در آزمایشهای خود بر روی گندم بیان میکند که فلزات سنگين ويسكوزيته و قابليت ارتجاع ديـواره سـلولي ریشه را کاهش داده موجب کاهش رشد طولی ریشه می گردند (Ma, 2004). مقدار فلز سرب و روی در ریشه و اندام هوایی در ارتباط با هم می باشد. به طوری که مقدار سربی که به اندام هوایی میرسد بستگی به ظرفیت و توانایی ریـشه بـرای نگـه داشتن یون فلزی و نیز توانایی اندام هوایی برای استفاده از سولفور احیا برای باند شدن به فلز دارد در نتیجه دو بخش گیاه به تجمع فلز سنگین پاسخهای متفاوت میدهد (Yanqun et al., 2005). گزارش شده که کاهش انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی نتیجه باقی ماندن سرب به شکل کمپلکس های فلز سنگین – تیول در سلول های ریشه می باشد (Yanqun et al., 2005). بازدارندگی نرخ رشد سلول در مرحله طويل شدن، توقف غير قابل برگشت فعاليت يمپ پروتونی در نتیجه سمیت سرب از عوامل موثر در کاهش رشد گیاه ذکر شده است (John et al., 2009).

مطالعات Stoyanova & Doncheva بر روی گیاه نخود نشان داد که غلظت کم فلز روی با افزایش میزان نیتروژن در ریشهها و ساقهها موجب افزایش رشد این اندامها می شود

رادیکال آزاد را موجب می شود . بنابراین تعدیل و تنظیم اجزاء سطوح آنتی اکسیدانت یک پاسخ سازشی مهم برای مقاوم کردن به شرایط تنش زا می باشد (خاوری نژاد، ۱۳۸۸). در آزمایش John و همکاران در سال ۲۰۰۹ ٤ ایروزیم آن شناسایی شد. در این آزمایش در کلیه غلظتها ی سرب نسبت به تیمار گیاه شاهد فعالیت پراکسیداز در گیاه سویا تحت تنش سرب افزایش نشان داد. افزایش میزان فعالیت پراکسیداز ارتباط نزدیکی با تغییرات در فرایندهای فیزیولوژیکی مثل تنفس، فتوسنتز و تعرق از خود نشان می دهد افزایش فعالیت پراکسیداز در نتیجه تنش فلز سرب مربوط به آزادسازی این آنزیم از جایگاهش در دیواره سلولی است آزادسازی این آنزیم از جایگاهش در دیواره سلولی است پراکسیداز در آزمایشهای Sharma and Doubey, 2005) پراکسیداز در آزمایشهای Wang et al., 2009).

فعالیت کاتالاز به طور طبیعی در برگهای خردل تحت تنش عنصر روی افزایش نشان داد (Wang et al., 2009). با بالا رفتن غلظت روی فعالیت کاتالاز کاهش یافت. در ریشه فعالیت کاتالاز ابتدا افزایش و سپس کاهش نشان داد. بر خلاف کاتالاز، فعالیت پراکسیداز در ریشه و برگ با بالا رفتن غلظت روی افزایش یافت. افزایش فعالیت پراکسیداز در ریشه و برگهای لوبیا تحت تنش روی گزارش شده است (Cuypers et al., 2002).

نتيجه گیری نهایی

به طور کلی میتوان چنین نتیجه گیری کرد که فلز روی در غلظتهای مورد آزمایش با القای تنش اکسیداتیو سبب مسمومیت و کاهش رشد در این گیاه شده است. از طرفی تنش سرب باعث تغییرات بیوشیمیایی در این گیاه شد، اما با توجه به مقایسه تاثیر پذیری گیاه سویا به دو عنصر مورد بررسی میتوان اینطور نتیجه گرفت که این گیاه نسبت به روی حساس تر بوده و این عنصر تاثیرات منفی بیشتری برپارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا داشته است. نکته دیگر اینکه باید توجه داشت آزمایش فوق در

شرایط گلخانه بوده و مطالعات بیشتری برای بررسی اثرات فلز با توجه به شرایط خاک مانند pH محیط ریشه- هوموس خاک و برهمکنش فلز با هوموس باید مورد توجه قرار بگیرد. به نظر میرسد در تنش کوتاه مدت فلز سرب و روی گیاه شدت تنش را با القاء پاسخهای سریع کاهش دهد. اما با توجه به تعاریفی که برای گیاهان تحمل کننده فلز سرب و روی وجود دارد به نظر نمی رسد بتوان گیاه سویا را از گیاهان تحمل کننده به این عناصر سنگین به شمار آورد. گیاهان تحمل کننده گیاهانی هستند که دارای ظرفیت ذاتی گیاهان تحمل کننده گیاهانی هستند که دارای ظرفیت ذاتی مدت باشند بدون اینکه آسیبی بر متابولیسم طبیعی سلولها وارد شود.

جراتی آرائی، ع.، خانلریان خطیری، م. (۱۳۸۷). بررسی تاثیر سرب بر جوانهزنی، مقدار پروتئین و پرولین و ارزش تحمل به سرب در دو رقم کلزا. علوم محیطی سال پنجم، شماره سوم. صفحه ۵۲–2۱.

منابع

خاوری نیژاد، ر.، نجفی، ف.، صالحی م. (۱۳۸۹). اثر غلظتهای مختلف کلرور آلومینیوم بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه. فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان. ج۳، شماره۲، صفحه ۱۷–۹.

قربانلی م.، بابالار. م. (۱۳۸۲). تغذیه معدنی گیاهان. انتشارات دانشگاه تربیت معلم تهران.

نوری، ک.، و جهان نما، ف. (۱۳۸۷). بررسی مزیت نـسبی تولید سویای بهاره در ایران. زراعت و باغبانی شماره ۷۹، صفحه ۲۲–۳۵.

Ahmed, A., Tajmir, HA. (1993). Interaction of toxic metal ions Cd2+, Hg2+ and Pb with light-harvesting proteins of chloroplast thylakoid membranes. AnFTIR spectroscopic study. J. Inorg. Biochem. 50: 235-243.

- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S. (2009). Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by Brassica juncea L. International Journal of Plant Production. 3 (3): 65-75.
- Lin, C.C. Kao, CH. (2000). Effect of NaCl stress on H2O2 metabolism in rice leaves, Plant Growth Regul. 30: 151-/155.
- Ma, F., (2004). Role of organic acids in detoxification of Aluminum in higher plants. Plant cell physiol. 41: 383–390.
- Malkovski, E., Kita, A., Galas, W., Karez, W., Michael, K. (2002). Lead distribution in corn seedlings (*Zea mays* L.) and its effect on growth and concentration of potassium and calsium. Plant Growth Regul. 37: 69-76.
- Murakami, M., Ae, N. (2009). Potential for phytoextraction of copper, lead, and zinc by rice (*Oryza sativa* L.), soybean (*Glycine max* [L.] Merr.), and maize (*Zea mays* L.) Journal of Hazardous Materials 162 : 1185–1192.
- Parasa, K., Saradhi, P.P., Sharmila, P., (1999). Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. Environmental and Experimental Botany. 42: 1-10.
- Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Lea, P.J., Azevedo, R.A. (2002). Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in C. junceaPlant Soi., 1 239: 123-132.
- **Rout, G.R., Das, P. (2003).** Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism; Zinc. Agronomy and soil science. 23: 3–11.
- Ruley, A.T., Sharma, N.C., Sahi, S.V., Singh, S.R., Sajwan, K.S. (2006). Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. Environmental Pollution 144, 11e18.
- Schützendübel, A., Polle, A. (2002). Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. J. Exp. Bot., 53: 1351–1365.
- Shakirova, F.M. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by SA and salinity. Plant science, 164: 317-322.

- An, Y.J., Kim, Y.M., Kwon, T.I., Jeong, S.W., (2004). Combined effect of copper, cadmium, and lead upon Cucumis sativus growth and bioaccumulation. Sci. Total Environ. 326: 85–93.
- Biles, C., Abeles, F., (1991). Xylem sap protein. Plant physiol. 96: 597-601
- Chao, M., Chardonnens, A.N., Dietz K.J., (2003). Differential heavy metal tolerance of *Arabidopsis halleri* and *Arabidopsis thaliana*: a leaf slice test. New Phytol. 158: 287-293.
- Cuypers, A., Vangronsveld, J., Clijsters, H., (2002). Peroxidases in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris* Copper and Zinc Phytotoxicity: a comparison. J. Plant Physiol. 159: 869–876.
- El-Ghamery, A.A., El-Kholy, M.A., El-Yousser, M.A., (2003). Evaluation of cytological effects of Zn2+ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. Mutation Research 537: 29–41
- Elloumi, N., Ben, F., Rhouma, A., Ben, B., Mezghani, I., Boukhris, M., (2007). Cadmium induced growth inhibition and alteration of biochemical parameters in almond seedlings grown in solution culture. Acta Physiol. Plant. 29: 57-62.
- **Ernest, W.H.O. (1998).** Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic levels.In: Schaiman G, (ed), Ecotoxicology: Ecological fundamentals, chemical exposures and biological effects. Pp, 587-620.Heidelberg, Wiley
- Eun, S.O., Youn, H.S., Lee, Y.,(2000). Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of Zea mays. Physiol. Plant. 103: 695-702.
- Islam, E., Yang, X., Li, T., Liu, D., Jin, X., Meng, F., (2007). Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of Elsholtzia argyi. Journal of Hazardous Materials 147: 806–816.
- Islam, E., Liu, D., Li, T., Yang, X., Jin, X. (2008). Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of Elsholtzia argyi. Journal of Hazardous Materials. 154: 914– 926.
- Jiang, N., Luo, X., Zeng, J., Yang, ZR., ZHENGLH & Wang, ST. (2010). Lead toxicity induced growth and antioxidant responses in Luffa cylindrica seedlings. Int. J. Agric. Biol., 12: 205– 210.

- Verma, S., Duby, R.S., (2003), Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antipxidant enzymes in growing rice plants. Plant Sci. 164:645-655.
- Wang, C., Zhang, S., Fang, P., Wang, P., Hou, J., Zhang, W.,(2009), The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. Chemosphere 75: 1468–1476.
- **Yadav, S.K., (2010),** Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. South African Journal of Botany. 76: 167-179.
- Yang, Y-Y., Jung, J-y., Song, W-y., Suh, H.S., Lee, Y. (2000), Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization of mechanism of tolerance. Plant Physiol. 124:1019-1026.
- Yanqun, Z., Yuan, L., Jianjun, T.C., Haiyan, C. Li.Q., Schvartz, C. (2005), Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead– zinc mining area in Yunnan, China, Environ. Int. 31: 755–762.
- Zu, Y.Q., Li, Y., Chen, J.J., Chen, H.Y., Qin, L., Christian, S. (2005). Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead-zinc mining area in Yunnan, China. Environ Int, 31: 755–762.

- Sharma, P., Dubey, RS. (2004). Ascorbate peroxidase from rice seedlinds: properties of enzyme isoforms, effect of stresses and protective roles of osmolytes. Plant Sci. 167:541-550.
- Sharma, P., Dubey, R.S., (2005). Lead toxicity in plants. Braz.J. Plant Physiol.17 (1): 35-52.
- Stoyanova, Z., Doncheva, S., (2002). The effect of zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in pea plant. Braz. J. Plant Physiol., 14(2):111-116.
- Thomas, R.A., Sharma, N.C., Sahi, S.V. (2004). Antioxidant defense in a lead accumulating plant, Sesbania drummondii. Plant Physiol Biochem. 42: 899–906.
- Van de Mortel, J.E., Villanueva, L.A., Schat, H., Kwekkeboom, J., Coughlan, S., Moerland, P.D., Van Themaat, E.V.L., Koornneef, M., Aarts, M.G.M., (2006). Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish roots of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyperaccumulator Thlaspi caerulescens. Plant Physiol. 142: 1127–1147.

The Study of the effects of Lead and Zinc on seed germination and seedling growth of Soybean (*Glycine max* L.)

Iranbakhsh, A.R¹., Majd, A²., Naghavi, F³.

1. Dep. of biologi, Islamic Azad University AliAbad Branch, Golestan, Iran

2. Dep. of biologi, Islamic Azad University North-Tehran, Iran

3. Ms. Student, Dep. of Science and Research Branch, Islamic Azad University Tehran, Iran

Abstract

In this research, the effects of different concentrations of $ZnCl_2$ (5, 10, 15, 20µM) and PbCl₂ (0.5, 2.5, 4.5, 6.5µM) on Soybean were examined. The effects of ZnCl₂ and PbCl₂ on the percentage of germination and germination rate of seeds, longitudinal growth of roots and shoots of seedlings of Soybean and the activity of antioxidant enzymes were studied. The seeds were transferred to petril dishes containing filter paper after surface sterile. There were 4 repeat from each treatment and there were 6 seeds in each repeat. The results showed that Pb stress had no significant effect in the percentage of germination of seedlings, and increase in both Zn and Pb treatment caused increasing in germination rate, but, it caused significant decrease in the length of roots, shoots and seedlings. Zn stress caused significant decrease in the percentage of germination in the higher concentrations and decrease in the length of roots and shoots in all of concentrations. The activities of Catalase and Peroxidase (POX) enzymes had significant increase in the plants under treatment with Zn and Pb in all concentrations. Obtained results of this research indicated that in comparison with Zn, Soybean has more Tolerance to Pb. It seems that in short term stress of Zn and Pb, the plant decreases stress intensity with induction of fast response, but, in spite of definitions that exist for the tolerable plants of Zn and Pb, it doesnot seem to include Sovbean from tolerable plants to these heavy metals.

Keywords: Antioxidant enzymes, Germination, Longitudinal growth, Lead, Zinc, Glycine max L.