Archive of SID

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

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

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: ۱۳۸۹/۸/۱۸ ـ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۲/۲

چکیده

در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰) میلی مولار کلرید روی و ۰/۵، ۲/۵، ٤/۵ و ٦/۵ 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 معنی‌داری 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 معنی‌دار درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های بالا و کاهش طول ریشه و اندام هوایی در همه غلظت‌ها شد. میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان تحت تیمار با کلرید روی و کلرید سرب در همه غلظت‌ها افزایش معنی‌دار نشان داد. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که گیاه سویا مقاومت کمی به تنش روی و مقاومت بیشتری نسبت به سرب دارد. به نظر می‌رسد در تنش کوتاه مدت فلز سرب و روی، گیاه شدت تنش را با القاء پاسخ‌های سریع کاهش دهد، اما با توجه به تعاریفی که برای گیاهان تحمل کننده فلز سرب و روی وجود دارد به نظر نمی‌رسد بتوان گیاه سویا را از گیاهان تحمل کننده به این عناصر سنگین به شمار آورد.

کلمات کلیدی: روی، رشد طولی، سرب، جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، *Glycine max* L.

مقدمه

اولین عامل اثرات آلودگی فلزات در یک اکوسیستم، وجود فلزات سنگین در زیتوده یک منطقه آلوده است که سلامت انسان را به مخاطره می‌اندازد .تجمع فلزات سنگین 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

www.SID.ir

*Email: alirezairanbakhsh@yahoo.com

Archive of SID

حضور سرب در اکوسیستم‌های آبی است (Chao, 2003)، سمیت سرب بر گیاه شامل توقف سریع رشد ریشه می‌شود.

ورود مقدار بسیار کم سرب در گیاه می‌تواند 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 می‌شود 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 می‌شود (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 می‌دهد. سرب همچنین ترکیب لیپیدی غشاء تیلاکوئیدها را به هم می‌زند (Islam et al., 2008). سرب روی محل‌های گیرنده و دهنده الکترون در فتوسیستم II، کمپلکس سیتوکروم b/f و فتوسیستم I اثر می‌گذارد. فتوسیستم I نسبت به فتوسیستم II حساسیت کمتری به سمیت سرب نشان می‌دهد (Islam et al., 2007). سرب همچنین باعث فروپاشی پلی پپتیدهای خارجی کمپلکس آزاد کننده اکسیژن در فتوسیستم II و جابجایی یون‌های کلسیم، کلر و منگنز از کمپلکس فوق می‌شود (Ahmed and Tajmir, 1993). دانشمندان بر این عقیده‌اند کاهش فتوسنتز در اثر استفاده از سرب بیشتر درنتیجه بسته شدن روزنه‌هاست تا اثر مستقیم آن بر فرایند فتوسنتز (Sharma et al., 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 می‌شود در تجزیه و تخریب باقیمانده‌های گروه آسیل چربی‌های اشباع نشده غشایی دخالت دارد (Yadav, 2010).

بازدارندگی فعالیت فتوسیستم II به واسطه جانشینی روی به جای منگنز در غشاء تیلاکوئیدها ست. در این غشاها در شرایط نرمال ١٦ اتم منگنز و روی به ازاء هر ٤٠٠ مولکول کلروفیل وجود دارد. این در حالی است که در شرایط تنش ناشی از غلظت بالای روی این نسبت به ١٢ اتم منگنز و ٣٠ اتم روی تغییر می‌کند (قربانلی و بابالار، ١٣٨٢).

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 ردوکتازوگلوتاتیون ردوکتاز افزایش می‌یابد (Prasa et al., 1999). در گیاه برنج (Murakami et al., 2009) و کلزا نیز افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گزارش شده است (Van et al., 2009).

با توجه به مطلب ذکر شده و نیز با توجه به اینکه سویا در ایران در سطح بسیار وسیعی کشت می‌شود و به دلیل داشتن پروتئین، لیپید، هیدرات کربن و عناصر معدنی دارای ارزش غذایی بالایی می‌باشد به طوری که در وزارت جهاد کشاورزی طرحی تحت عنوان تأمین منابع روغن نباتی کشور ١٣٨٤-١٣٩٠ به اجرا در آمده است تا با افزایش تولید دانه‌های روغنی در کشور، درصد خود کفایی به تولید این محصول را افزایش دهد (نوری و جهان‌نما، ١٣٨٧)، این مطالعه به بررسی تاثیر فلزات سنگین روی و سرب در جوانه‌زنی و برخی پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط کشت

در این تحقیق، گیاه سویا (*Glycine max*) از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج تهیه گردید. کلرید روی در ٤ سطح (٥، ١٠، ١٥ و ٢٠ میلی‌مولار) و کلرید سرب در ٤ سطح (٠/٥، ٢/٥، ٤/٥ و ٦/٥ میلی‌مولار) اعمال گردید. ٦ عدد بذر سالم و یکنواخت، در محلول هیپوکلریت سدیم ٥ درصد استریل و پس از شستشو به پتری‌های حاوی کاغذ صافی انتقال یافتند در این مرحله تیمارهای مختلف کلرید

www.SID.ir

Archive of SID

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 درپتری به مدت ۷ روز کشت داده شدند.

– بررسی برخی از فرایندهای رشد و سنجش‌های بیو شیمیایی در کشت گلدانی.

پتری دیش‌ها در شرایط ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۵°C 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 منظورتعین 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 بذرها (Germination percentage (GP از رابطه زیر به دست آمد.

PG=100(N' /N) (درصد)

N' : تعداد بذرهای جوانه زده،N : تعداد کل بذرها می‌باشد.

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 pH 6.8 استفاده شد.گلدانها در روشنایی لامپ‌های فلورسنت و تنگستن (۲۵۰۰۰–۲۰۰۰لوکس) طول دوره روشنایی و تاریکی ۸–١٦ساعت و میزان رطوبت نسبی٦٠ الی ۷۰ 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

به منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Pereira و همکاران (۲۰۰۲) استفاده شد. بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان کاهش H_2O_2 با مطالعه تغییرات جذب در ۲٤۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه انجام شد. فرایند با افزودن مقدار مناسب عصاره آنزیمی ۰/۱ میلی‌لیتر در حجم ۳ میلی‌لیتر 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 ۰/۲ مولار با pH 5 و ۰/٤ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین ۰/۰۲ مولار، متانول ۵۰ درصد اضافه شد و در نهایت ۰/۱ میلی لیتر از عصاره استخراجی به هر لوله اضافه شد و تغییرات جذب در طول زمان بلافاصله در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه گیری شد۰فعالیت آنزیم در دانه رست‌ها به مدت ۳ دقیقه در برابر شاهد فاقد عصاره آنزیمی با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر (Shimadzu UV-2120 PC) ثبت شد (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 معنی‌دار بودن اختلاف مشخص گردد و نمودارها از طریق نرم افزار Excel رسم شد.

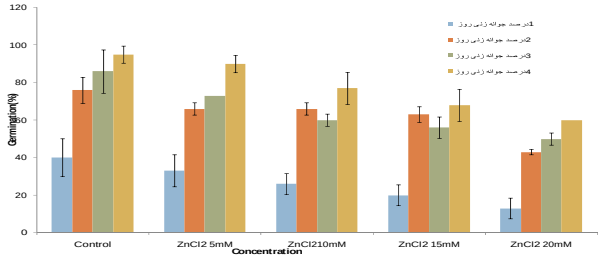
نتایج

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 میلی‌مولار

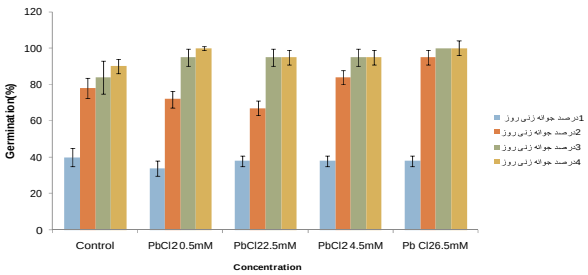
www.SID.ir

Archive of SID

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

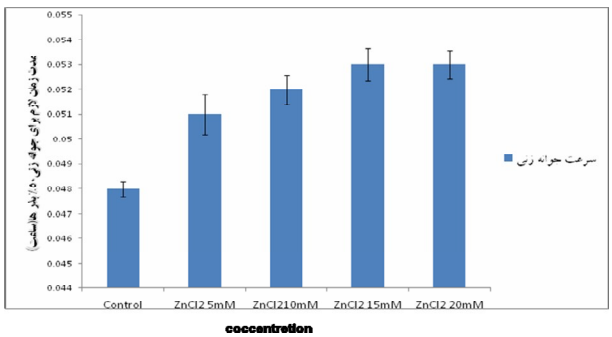


شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر درصد جوانه‌زنی گیاه سویا

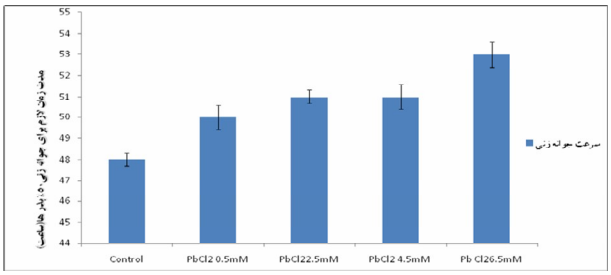


شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بردرصد جوانه‌زنی گیاه سویا

نتایج مربوط به سرعت جوانه‌زنی بذر سویا در تیمارهـای 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 جوانه‌زنـی شـده است که این افزایش از نظر آمـاری در سـطح ۰/۰۵ معنـی‌دار بوده است.



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



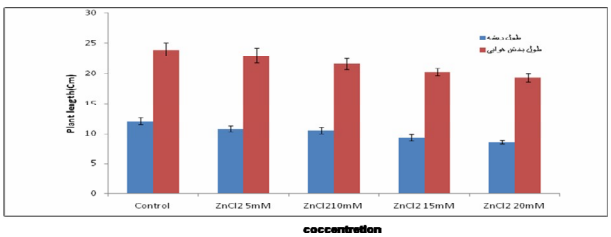
شکل ٤: اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بر سرعت جوانه‌زنی گیاه سویا

نتایج حاصل از اندازه گیری طول ریشه و اندام هوایی در شکل‌های ٥ و ٦ نشان داده شده است.

داده‌ها نشان می‌دهد طول ریشه در گیاهان تحت تیمار بـا روی کاهش می‌یابد. این کاهش در غلظت ٥ میلی مول نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری (در سطح ۰/۰۵) معنـی دار نبـود. اما در سایر غلظت‌ها معنـی‌دار بـود. طـول ریـشه در گیاهـان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نشان داد که این کـاهش تنهـا در غلظت‌های بالای سرب (٤/٥ و ٦/٥ میلی مـول سـرب) از نظر آماری معنی‌دار بود.

طول اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار بـا روی کـاهش نشان داد که این کاهش تنها در غلظت‌های بالای روی (۱٥ و ۲۰ میلی مولار) از نظر آماری معنی‌دار بود. طول اندام هـوایی در گیاهان تحت تیمار با سرب نیز کاهش نـشان داد کـه ایـن کاهش تنها در غلظت‌های بالای سرب (٤/٥ و ٦/٥ میلی‌مـول سرب) از نظر آماری معنی‌دار بود.

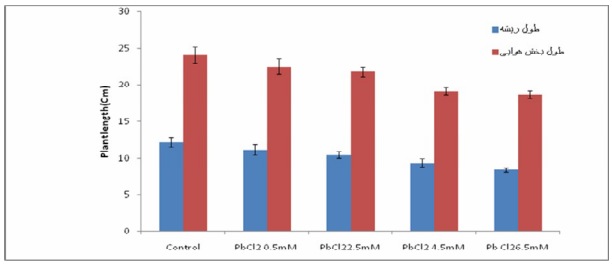
نتایج مربوط به طـول دانـه رسـت در کـشت گلـدانی در غلظت‌های مختلف سرب و روی در شکل‌هـای ۷ و ۸ نـشان داده شده است.



شکل ٥: اثر غلظت‌های مختلف کلریدروی بر طول ریشه و بخش هوایی در گیاه سویا

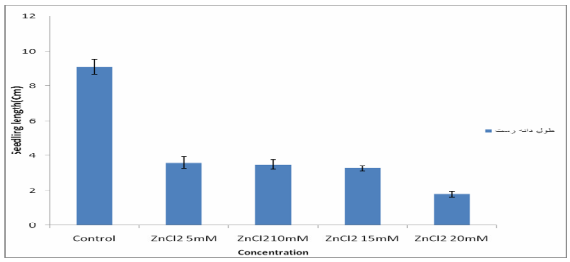
www.SID.ir

Archive of SID

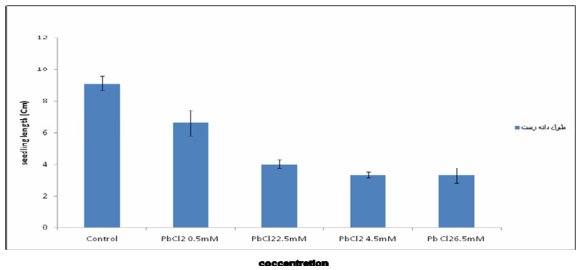


شکل ٦: اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بر طول ریشه و بخش هوایی در گیاه سویا

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

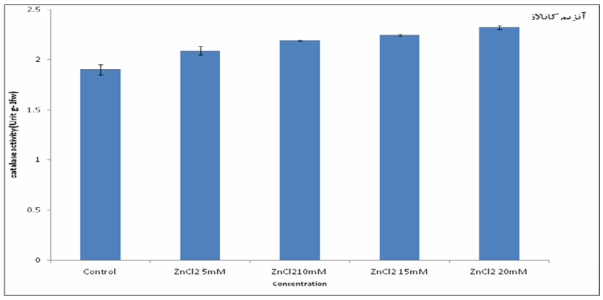


شکل ۷: اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر طول دانه رست در گیاه سویا

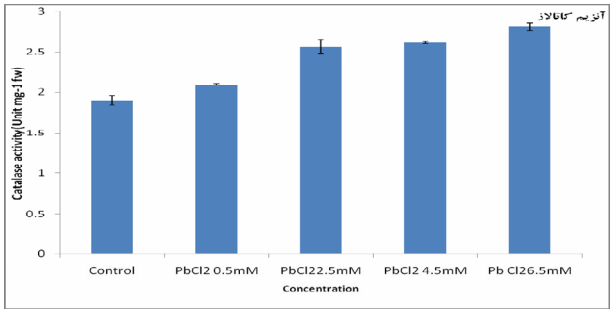


شکل ۸: اثر غلظت‌های مختلف کلرید سرب بر طول دانه رست در گیاه سویا

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 معنی‌دار بود. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان شاهد به میزان ۱/۹ Unitg-1fw گزارش شد. این مقدار در گیاهان تیمار شده با سرب و روی به ترتیب به مقدار ۲/۸ Unitg-1fw و ۲/۳ افزایش نشان داد.

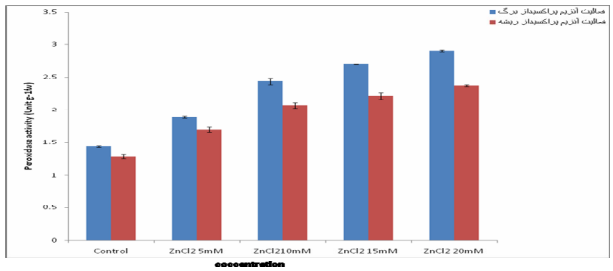


شکل ۹: اثر غلظت‌های مختلف کلریدروی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه سویا

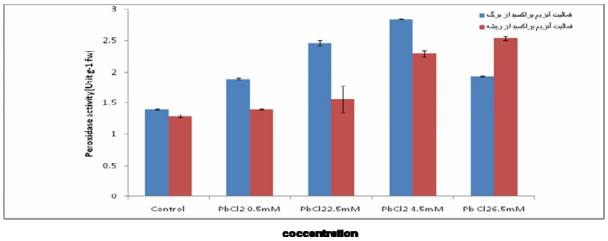


شکل ۱۰: اثر غلظت‌های مختلف کلریدسرب بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه سویا

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

www.SID.ir

Archive of SID

داده‌ها نشان می‌دهد میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه گیاهان شاهد از Unitg-1fw ۱/٤ به ۲/۹ در گیاهان تحت تیمار با روی Unitg-1fw ۱/۹٤ در گیاهان تیمار شده با سرب افزایش می‌یابد که این افزایش در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ گیاهان شاهد Unitg-1fw ۱/۲۹ گزارش شد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مسمومیت با سرب سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر سویا را افزایش داد. مسمومیت با روی در غلظت بالا کاهش معنی‌داری در جوانه‌زنی بذر داشت (شکل‌های ۱و 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 ۵۰µM نیترات سرب تاثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نداشت اما در غلظت ۱۰۰µM کاهش جوانه‌زنی و رشد ساقه چه و ریشه چه معنی‌دار بود (Islam, 2007).

در نتایج An (۲۰۰٦) مشخص شد غلظت‌های مختلف سرب بر درصد جوانه‌زنی گیاهان مختلف اثرات متفاوت دارد به عنوان مثال درصد جوانه‌زنی در گیاه ذرت خوشه‌ای (*Sorghum bicolor*) در حضور $mgPb\ Kg^{-1}$ ۸۰-٦٤۰ سرب در خاک کاهش نشان داد اما در غلظت‌های بالاتر از ٦٤۰ تا ۱۲۸۰ درصد جوانه‌زنی به تدریج افزایش یافت. در دو گیاه *Cucumis sativus* و گیاه ذرت (*Zea mays*) درصد جوانه‌زنی تغییر معنی‌داری در غلظت $mgPb\ Kg^{-1}$ ۸۰-۱۲۸۰ نشان نداد. در گندم (*Triticum aestivum*) حتی درصد جوانه‌زنی افزایش نشان داد، اما این افزایش نسبت به گیاه شاهد معنی‌دار نبود (An, 2004).

بررسی اثر سرب بر جوانه‌زنی در نتایج چراتی و خانلریان (۱۳۸۷) نشان داد که غلظت‌های سرب شامل ۲۰۰، ٤۰۰، ٦۰۰، 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 نمی‌دهد، 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 می‌شود. سربی که در مرحله پایانی جذب آب به داخل جنین نفوذ می‌کند، جوانه‌زنی را به تأخیر می‌اندازد (چراتی و خانلریان، ۱۳۸۷).

در این تحقیق، عدم کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی بذر سویا نسبت به نمونه‌های گیاه شاهد احتمالا به دلیل عدم نفوذ سرب بوده است. اما روی اضافی احتمالاً با مختل کردن یکپارچگی و نفوذپذیری غشاء، جوانه‌زنی 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 معنی‌دار 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.

بررسی‌ها نشان داده است که در بخش هایی از دیواره که ضخامت کمتری دارد مانند محل پلاسمودسماتا حجم بیشتری از سرب تجمع می‌یابد. لذا می‌توان 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

www.SID.ir

Archive of SID

می‌دهد و این پدیده موجب توقف رشد سلول و متعاقبا توقف رشد اندام می‌گردد (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، ممانعت از جذب مواد مغذی و تنش‌های ثانویه ای چون تنش اکسیداتیو می‌باشد. علاوه بر آن سرب آرایش میکروتوبول‌ها را در سلول‌های مریستمی به هم می‌ریزد که خود مانعی برای رشد محسوب می‌شود (Eun et al., 2000). طبق گزارش Yang سرب باعث تخریب میکروتوبول هایی می‌شود که در میتوز دخالت دارند و در نتیجه باعث توقف سلول در مرحله پیش متافازی شده (Yang, 2000). قسمت اعظم سرب جذب شده در دیواره سلول‌های ریشه رسوب کرده، موجب ایجاد شکافهایی در دیواره شده و در نتیجه از رشد طولی ریشه ممانعت می‌کند (Elloumi et al., 2007).

Ma در آزمایشهای خود بر روی گندم بیان می‌کند که فلزات سنگین ویسکوزیته و قابلیت ارتجاع دیواره سلولی ریشه را کاهش داده موجب کاهش رشد طولی ریشه می‌گردند (Ma, 2004). مقدار فلز سرب و روی در ریشه و اندام هوایی در ارتباط با هم می‌باشد. به طوری که مقدار سربی که به اندام هوایی می‌رسد بستگی به ظرفیت و توانایی ریشه برای نگه 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 کمپلکس‌های فلز سنگین- تیول در سلول‌های ریشه می‌باشد (Yanqun et al., 2005). بازدارندگی نرخ رشد سلول در مرحله طویل شدن، توقف غیر قابل برگشت فعالیت پمپ 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 می‌شود (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, 2009). روی با بلوکه کردن مرحله اینترفاز، طولانی ساختن مرحله پروفاز و G2 و نیز توقف سنتز پروتئین‌های سنتزی مورد نیاز چرخه سلولی و سنتز اسیدهای نوکلئیک فرایند تقسیم سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (El-Ghamery et al., 2003). پیوستگی، یکپارچگی و نفوذپذیری غشاء 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 and Kao, 2000). فعالیت کاتالاز در برابر تنش های اکسیداتیو تحت تأثیر فلزات سنگین در گیاهان دارای مکانیسم دفاعی افزایش می‌یابد. حذف مقادیر اضافی و دخالت در تنظیم ظرفیت مقادیر مناسب از پراکسید هیدروژن سلولی به عهده دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد ولی آنزیم کاتالاز در این عملکرد نقش موثری را ایفا می‌کند.. در این آزمایش با افزایش غلظت سرب فعالیت کاتالاز افزایش یافت (Lin and Kao, 2000).

در آزمایش انجام شده توسط Verma و همکاران (۲۰۰۳) در دانه رست‌های گیاه برنج نشان داد افزایش سرب تا ۱۰۰۰ میکرومول باعث کاهش فعالیت کاتالاز در ریشه شد که 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 تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد، سرب افزایش واکنش‌های

www.SID.ir

Archive of SID

رادیکال آزاد را موجب می‌شود .بنابراین تعدیل و تنظیم اجزاء سطوح آنتی اکسیدانت یک پاسخ سازشی مهم برای مقاوم کردن به شرایط تنش زا می‌باشد (خاوری نژاد، ۱۳۸۸). در آزمایش John و همکاران در سال ۲۰۰۹، ٤ ایزوزیم 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 وتعرق از خود نشان می دهد و یک واکنش عمومی گیاهان نسبت به تنش فلز است. افزایش فعالیت پراکسیداز در نتیجه تنش فلز سرب مربوط به آزادسازی این آنزیم از جایگاهش در دیواره سلولی است (Sharma and Doubey, 2005). افزایش میزان فعالیت پراکسیداز در آزمایش‌های Wang و Tomas نیز دیده شده است (Tomas; 2004; 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).

نتیجه‌گیری 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 (ژنتیکی) یا القایی (محیطی) برای مقابله با فلز در طولانی مدت باشند بدون اینکه آسیبی بر متابولیسم طبیعی سلولها وارد شود.

منابع

چراتی 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 ٥٢-٤١.

خاوری نژاد، 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 نسبی تولید سویای بهاره در ایران. زراعت و باغبانی شماره ۷۹، صفحه ٢٦-٣٥.

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.

www.SID.ir

Archive of SID

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., l 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.

www.SID.ir

Archive of SID

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.

www.SID.ir

Journal on Plant Science Researches, Serial 20, 5th year, Number 4, Winter 2010
Archive of SID

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

Iranbakhsh, A.R[1]., Majd, A[2]., Naghavi, F[3].

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 $PbCl_2$ (0.5, 2.5, 4.5, 6.5µM) on Soybean were examined. The effects of $ZnCl_2$ and $PbCl_2$ 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 Soybean from tolerable plants to these heavy metals.

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

www.SID.ir

* *Email: alirezairanbakhsh@yahoo.com*