# بررسی اثر تنش $Cr^{+3}$ بر میزان زیتوده، کلروفیل و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.)

***فاطمه مالکی، مهرداد لاهوتی، هما محمودزاده**

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

**تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۶/۱۵** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰٤/۲۹**

**چکیده**

به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف $Cr^{+3}$ (۰،۱/۵، ۲، ۳، ٤ و۵ میلی‌گرم در لیتر) به عنوان یک فلز سنگین بر تغییرات رشد و میزان کلروفیل و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPOX) در گیاه کاهو آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در شرایط کنترل شده (دما ۲°C±۲۵، رطوبت نسبی ۳۵٪ و فتوپریود ۱٦ ساعت) مورد مطالعه قرار گرفت. نشاهای گیاهی دو هفته بعد از کاشت بذر کاهو رقم محلی در خاک و در معرض تیمارهای یونی $Cr^{+3}$ قرار گرفتند و بعد از ۷ هفته برداشت شدند و برخی فاکتورهای فیزیولوژیکی شامل: زیتوده گیاهی، تغییرات رشد، کلروفیل b,a و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز مورد سنجش قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که زیتوده ریشه، ساقه، طول ریشه، بخش هوایی، تعداد، سطح برگ و نیز میزان کلروفیل b,a در نشاءهای گیاهی تیمار شده با $Cr^{+3}$ ۰/۵ $mgL^{-1}$ افزایش یافته، در حالی که در تیمارهای $Cr^{+3}$ ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش داشته است. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با افزایش غلظت تیمارهای ۳ تا ۵ میلی گرم در لیتر $Cr^{+3}$ افزایش معنی‌داری نشان داد. نتایج مذکور نشان می‌دهد که غلظت‌های تیمارهای $Cr^{+3}$ ۰/۵ $mgL^{-1}$ اثر تحریکی و تیمارهای بیشتر از ۱$mgL^{-1}$ اثر تنشی و کاهنده در رشد و فاکتورهای فیزیولوژیکی مورد سنجش داشته است.

**کلمات کلیدی**: گایاکول پراکسیداز، تنش$Cr^{+3}$، زی توده، کلروفیل.

**مقدمه**

کروم یک عنصر غذایی میکرو برای انسان به شمار می‌رود و به دلیل نقشی که در متابولیسم گلوکز و چربی دارد کمبود آن موجب بروز برخی نارسائی‌های فیزیولوژیکی می‌گردد (Vincent, 2001). از جمله راه‌های مبارزه با کمبود کروم در جیره غذایی انسان، استفاده از گیاهان خوراکی است که کروم را در بافت‌های خود انباشته می‌سازند (Zayed et al., 1998). از طرف دیگر غلظت‌های زیاد کروم می‌تواند عامل مهمی در ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان باشد. تنش فلزات سنگین یکی از تنش‌های مهم محیطی است که بر متابولیسم گیاه تأثیر می‌گذارد (Peralta-Videa, 2009). افزایش سطوح سمی آنها در خاک و آب به علت فعالیت‌های کشاورزی و صنعتی می‌باشد (Scoccianti et al., 2006).

کروم به علت کاربرد گسترده صنعتی، یک آلاینده مهم خاک و آب به شمار می‌رود که بیشتر از طریق صنایعی مثل دباغی چرم، نساجی و صنایع آبکاری به محیط آزاد می‌شود (Shanker et al., 2005).

**Email:fmaleki14@yahoo.com*

Archive of SID

www.SID.ir

$Cr^{+3}$ در محیط زیستی به عنوان یک میکروالمان مغذی و ضروری برای تغذیه انسان محسوب می‌شود (Hussain et al., 2006) و می‌تواند در چندین حالت اکسیداسیون وجود داشته باشد، اما پایدارترین و رایج‌ترین فرم آن به صورت کروم سه ظرفیتی $Cr^{+3}$ و شش ظرفیتی $Cr^{+5}$ می‌باشد که ویژگی‌های شیمیایی متفاوتی را نشان می‌دهند. تحقیقات نشان داد هر دو فرم کروم در طبیعت توسط گیاهان جذب می‌شود (Shanker et al., 2005). جذب کروم شش ظرفیتی به صورت فعال انجام می‌شود و در ریشه توسط آنزیم ردوکتاز $Fe^{+3}$ به کروم سه ظرفیتی احیاء می‌شود. به طوری که فرم سه ظرفیتی کروم در ریشه‌ها و اندام هوایی چندین گیاه مثل کرفس که با $Cr_4^{2-}$ تیمار شده بود، شناسایی گردید (Scoccianti et al., 2006). انباشت کروم در گیاهان موجب سمیت در آنها می‌شود که با کاهش رشد ریشه، بیومس، کلروز واختلال فتوسنتز و نهایتاً مرگ سلول‌ها منجر میشود (Scoccianti et al., 2006).

تنش فلزات سنگین، منجر به تولید (ROS) و در نتیجه منجر به آسیب سلول‌های گیاهی می‌شود. آنتی اکسیدان‌های تولید شده از فعالیت‌های بیوشیمیایی سلول، در شرایط تنش حفاظت می‌کنند (Nazz and Pandey, 2010).

سبزیجات اجزای اصلی رژیم غذایی را تشکیل می‌دهند که علاوه بر جذب عناصر ضروری عناصر سمی و خطرناک را نیز جذب می‌کنند که انباشت این عناصر در سبزیجات تهدید مستقیمی بر سلامت انسان است (Ejaz ul et al., 2007). کاهو یکی از سبزیجات پرمصرف خانواده‌ها است که علاوه بر مصارف غذایی، مصارف دارویی نیز دارد (Yu-lin et al, 2004).

هدف تحقیق حاضر بررسی اثر غلظت‌های مختلف $Cr^{+3}$ به ویژه غلظت‌های تنشی بر برخی فاکتورهای فیزیولوژیکی شامل تغییرات رشد، زی توده گیاهی (وزن خشک و تر) و میزان کلروفیل و فعالیت آنزیم GPOX در گیاه *Lactuca sativa* L. می‌باشد.

**مواد و روش‌ها**

این تحقیق در گلخانه (اتاق فیتوترون) گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انجام گرفت بذور کاهو (*Lactuca sativa* L.) متعلق به اطراف مشهد به صورت محلی تهیه شدند. بذور *Lactuca sativa* L. رقم محلی پس از ضدعفونی با هیپوکلریت ۵ درصد به مدت ۵ دقیقه و شستشو با آب در گلدان‌های حاوی خاک زراعی کشت شدند.

آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در شرایط کنترل شده (دما ۲۵±۲°C، رطوبت نسبی ۳۵٪ و فتوپریود ۱۶ساعت) انجام شد. نشاهای گیاهی دو هفته بعد از کاشت بذور کاهو در خاک در معرض تیمارهای یونی $Cr_4^{2-}$ بصورت نیترات کروم ($Cr(NO_3)_3.9H_2O$) در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ٤، ۵ میلی گرم در لیتر قرار گرفتند. گیاه شاهد با آب مقطر آبیاری شد. بعد از ۷ هفته همگی برداشت شدند.

استخراج کلروفیل از برگ با کمک استون ۸۰ درصد انجام شد. ساییدن برگ با استون تدریجی و تا حصول یک محلول بی‌رنگ ادامه یافت. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ٤۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد و پس از رقیق‌سازی مجدد، حجم محلول با استون به ۲۵ mL رسانده شد. میزان جذب نوری آن در طول موج‌های ٦۵۲، ٦٤۵ و ٦٦۳ نانومتر و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (شیمادزو مدل۱۱۰۰ /UV) اندازه‌گیری شد. مقدار کلروفیل بر حسب میلی‌گرم کلروفیل در گرم برگ تازه طبق فرمول‌های آرنون و مکینی به ترتیب برای تخمین میزان کلروفیل کل و کلروفیل b ,a به صورت زیر محاسبه شد (Arnon, 1956; Mackinney, 1941).

(فرمول آرنون):

میلی‌گرم کلروفیل کل در گرم برگ = A(652)34/5×V/W

(فرمول مکینی):

میلی‌گرم کلروفیل b در گرم برگ = {12.7(A663)-2.68(A645)}×V/W×1000

میلی‌گرم کلروفیل b در گرم برگ = {22.9(A645)-2.68(A663)}×V/W×100

V= حجم محلول کلروفیلی (میلی لیتر)

W= وزن برگ (گرم)

A= جذب نوری عصاره کلروفیلی



Archive of SID

www.SID.ir

**استخراج عصاره ی آنزیم گایاکول پراکسیداز**

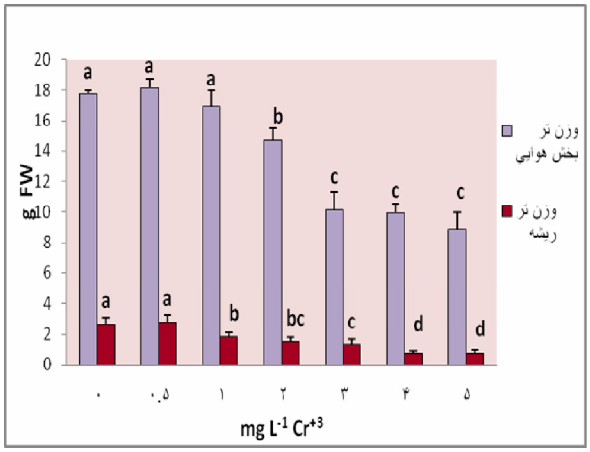
ابتدا محلول ۰/۸ مولار کلرید پتاسیم (کـه بـا افـزودن ۰/٦ گرم کلرید پتاسیم جامد به ۱۰ میلی‌لیتر محلـول بـافر فـسفات ۰/۱ مولار با (pH 6.8) تهیه نموده سپس ۱ گرم برگ را با آب مقطر شسته و به قطعات ۱ سانتی‌متر تقسیم و با محلول فـوق، در هاون چینی ساییده و مخلوط حاصل با سـرعت ۷۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲ $^{o}C$ سانتریفوژ سرمایشی گردیـد. مایع فوقانی به عنوان عصاره خام حاوی آنزیم مـورد اسـتفاده قرار گرفت به منظور حفظ فعالیت آنزیم کلیه مراحل استخراج آنزیم در ظرف یخ (۱±۱$^{o}C$) انجام شد.

به منظور اندازه‌گیری فعالیـت آنـزیم بـه عـصاره آنـزیم ۳ میلی‌لیتـر محلـول بـافر فـسفات ۰/۱ مـولار و ۵۰ میکرولیتـر گایاکول و سپس ۵۰ میکرولیتر هیـدروژن پراکـسید ۳ درصـد اضافه شد و بلافاصله تغییرات جـذب نـوری در طـول مـوج ٤۳٦ نـانومتر بـا اسـتفاده از اسـپکتروفتومتر (شـیمادزو مـدل UV/۱۱۰۰) در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه به مدت ۳ دقیقـه ثبـت گردیـد (Mae-Adam and Nelson Sharp, 1992). تحلیـل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 صورت گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p\leq$۰/۰۵ مقایسه شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم گردید.

## نتایج

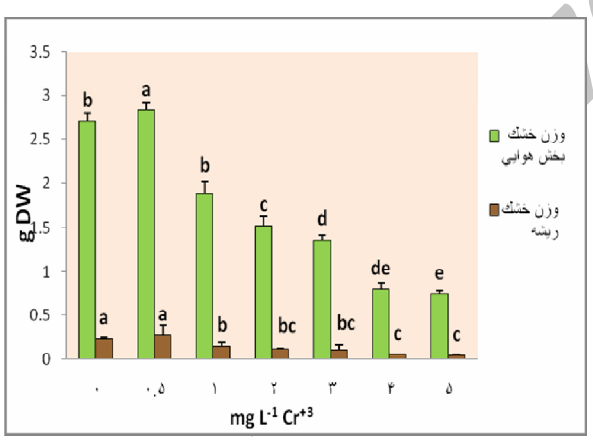
نتایج حاصل از تحقیق نـشان داد کـه بـا افـزایش غلظـت $Cr^{3+}$ در غلظت‌های بالاتراز ۰/۵$mgL^{-1}$، به تدریج وزن خشک ریشه و بخش هـوایی کـاهش یافـت کـه در مـورد ریـشه در غلظـت‌هـای بـالاتر از ۱$mgL^{-1}$ و در مـورد بخـش هـوای در غلظت‌های بالاتر از ۲ $mgL^{-1}$ نسبت به گیـاه شـاهد معنـی‌دار بود. تیمار $Cr^{+3}$ ۰/۵$mgL^{-1}$ سبب افزایش وزن خشک ریـشه و بخش هوایی شد. این اثر تحریکی در ریشه نـسبت بـه شـاهد اختلاف معنی داری نداشت امـا در بخـش هـوای نـسبت بـه شاهد این اختلاف معنی‌دار بود.

کمترین کاهش وزن خشک در ریشه در تیمار ۵$mgL^{-1}$ و٤ و در بخش هوایی در غلظت ۵$mgL^{-1}$ نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۱). با افزایش غلظـت کـروم در وزن تـر ریـشه و بخش هوایی نیز نتایج مشابه بدست آمد، بـا ایـن تفـاوت کـه کمترین وزن تر در ریشه مربوط به تیمارهـای ۵ و٤ $mgL^{-1}$ و در مورد بخش هـوایی در تیمـار ۵ و٤ و ۳ نـسبت بـه شاهد مشاهده شد. بـا وجـود اثـر تحریکـی کـروم در تیمـار ۰/۵$mgL^{-1}$ در وزن تربخش هوایی و ریشه، اما از نظـر آمـاری نسبت به شاهد این اختلاف معنی‌دار نبود (شکل ۲).




**شکل ۱:** نمودار مقایسه میانگین وزن تر ریشه و بخش هوایی در گیاهان کاهو تحت تیمار با $Cr^{+3}$

* حروف یکسان مطابق با آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار ندارند




**شکل ۲:** نمودار مقایسه میانگین وزن خشک ریشه و بخش هوایی در گیاهان کاهو تحت تیمار با $Cr^{+3}$

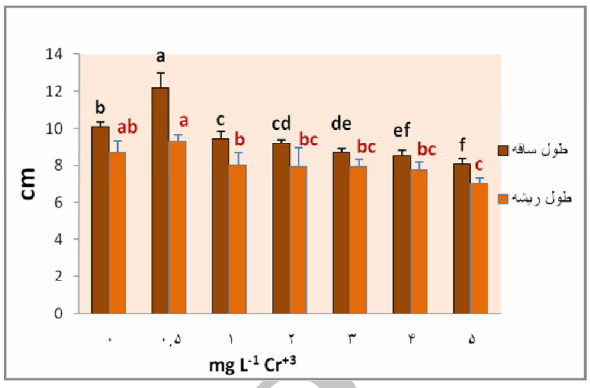
* حروف یکسان مطابق با آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار ندارند

در مقایـسه میـانگین طـول ریـشه و بخـش هـوایی در تیمارهای مختلف $Cr^{+3}$ علیرغم کاهش طول ریشه و سـاقه در گیاهان تیمار شده با غلظـت‌هـای بـالاتر از ۱$mgL^{-1}$، تفـاوت معنی‌دار نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد و اثر تحریکـی $Cr^{+3}$

Archive of SID

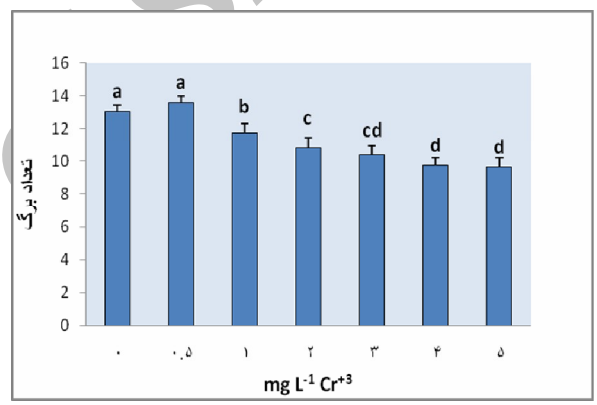
www.SID.ir

در غلظت $mgL^{-1}$ ۰/۵ تنها در افزایش طول بخش هوایی نسبت به شاهد معنی‌دار بود (شکل ۳).




**شکل ۳:** نمودار مقایسه میانگین طول ساقه و ریشه در گیاهان کاهو تحت تیمار با $Cr^{+3}$

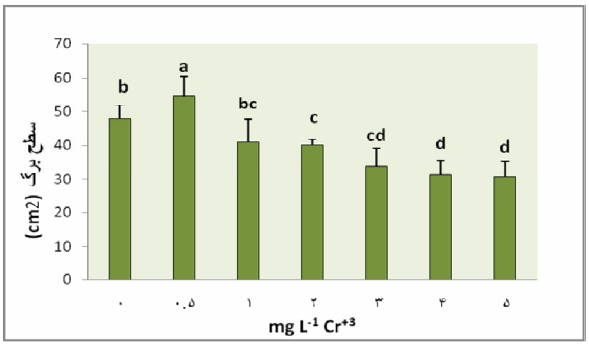
* حروف یکسان مطابق با آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار ندارند




**شکل ٤:** نمودار مقایسه میانگین تعداد برگ در گیاهان کاهو تحت تیمار با $Cr^{+3}$

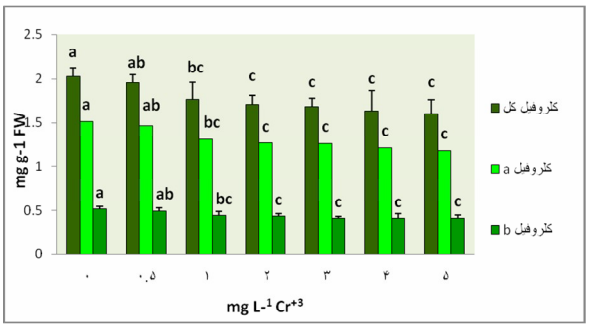
* حروف یکسان مطابق با آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار ندارند

با افزایش غلظت $Cr^{+3}$ تعداد و سطح برگ نیز کاهش یافت (اشکال ٤ و ٥). آنالیز واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل کل و کلروفیل‌های a و b نشان داد که تیمار $Cr^{+3}$ موجب کاهش معنی‌دار کلروفیل در برگها می‌شود و این کاهش در تیمار بیشتر از $mgL^{-1}$ $Cr^{+3}$ ۱ نسبت به شاهد معنی‌دار بود (شکل ٦).



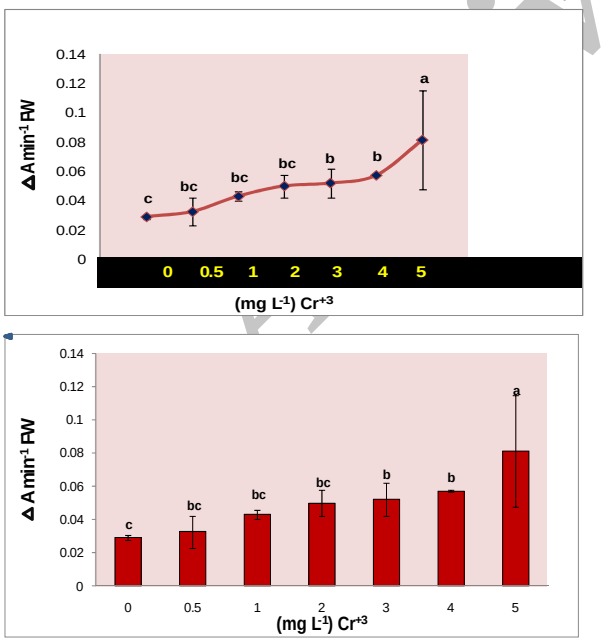

**شکل ٥:** نمودار مقایسه میانگین سطح برگ در گیاهان کاهو تحت تیمار با $Cr^{+3}$

(حروف یکسان مطابق با آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار ندارند)




**شکل ٦:** نمودار مقایسه میانگین کلروفیل کل و a,b در گیاهان کاهو تحت تیمار با $Cr^{+3}$ در ستون‌های قابل مقایسه

* حروف یکسان مطابق با آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار ندارند




**شکل ۷:** نمودار مقایسه میانگین میزان فعالیت GPOX در گیاهان کاهو تحت تیمار با $Cr^{+3}$

* حروف یکسان مطابق با آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار ندارند

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین با افزایش غلظت $Cr^{+3}$ در محیط کشت، افـزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم GPOX مشاهده شد که این افزایش در غلظت‌هـای بـالاتر از $mgL^{-1}$ ۳ نـسبت بـه شـاهد معنی‌دار بود و بیشترین فعالیت آنزیمی در تیمـار $mgL^{-1}$ $Cr^{+3}$ ۵ مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارهـا اخـتلاف معنیـداری داشت (شکل ۷).

**بحث**

بر اساس نتایج به دست آمده با افزایش غلظت کـروم وزن خشک و تر ریشه، بخش هوایی و نیز طول این اندام‌ها کاهش یافت که این کاهش در غلظت‌های بالاتر کروم معنـی‌دار بـود. مطالعات متعدد کاهش وزن خشک و رشـد گیاهـان را در اثـر تیمار کروم نشان داده است که می‌توان به لوبیـا (Hussain et al, 2006)، کرفس (Scoccianti et al., 2006)، کـاهو (Naaz and Pandey, 2010)، *Eichhornia crassipes* (Mishra et al., 2009)، گنـدم (Shanker et al., 2005)، آفتـابگردان (Andaleeb et al., 2008)، باقلا، خیار و کـاهو (Vassilev et al., 2007) و ذرت، کلم و هندوانه (ذاکر و همکـاران، ۱۳۸٤) اشاره کرد که در مورد کاهو کاهش رشد ریشه بیشتر مـشاهده شد. در این زمینه پیشنهاد شده است کـه کـاهش رشـد ریـشه می‌تواند به علت جلوگیری از تقسیم سلولی ریـشه یـا طویـل شدن ریشه و یا به علت طـولانی شـدن چرخـه سـلول باشـد (Scocciant et al., 2006). از طرفی سمیت کروم ممکن است به علت جایگزینی با کاتیون‌های دیگـر مثـل $Ca^{+2}$ در غـشای سلول و دیواره سلول که منجر بـه عملکـرد نادرسـت سـلول می‌شود و همچنین کروم مـی‌توانـد در جـذب عناصـر یـونی مشابه دیگر مثل آهن و گوگرد دخالت کند که باعـث کـاهش رشد می‌شود (Scocciant et al., 2006).

تنش فلزات سنگین از جمله عوامل محـدود کننـده رشـد ریشه است و از آنجا که تعیین مقدار آب و مواد غذایی معدنی قابل دسترس برای گیـاه از روی حجـم خـاک یـا محلـول در تماس با ریشه‌ها صورت می‌گیرد، کـاهش رشـد ریـشه سـایر فعالیت‌های رشدی گیاه را نیـز تحـت تـأثیر قـرار خواهـد داد (ذاکر و همکاران، ۱۳۸٤). گزارش شده است کـه ممانعـت از رشد اندام‌های هوایی توسط کروم در حقیقت ناشی از آسـیب سیستم ریشه‌ای می‌باشد (ذاکر و همکاران، ۱۳۸٤).

اثرات نامطلوب کروم بر طول اندام هـوایی در گیـاه جـو، یونجه، گندم و *Sinapsis alba* گزارش شده است (Shanker et al, 2005) که کاهش ارتفاع گیاه بیشتر به علت کاهش رشد ریشه و در نتیجه کاهش جذب مـواد مغـذی و انتقـال آب بـه بخش‌های بالایی گیاه بود (Shanker et al., 2005).

از طرفی انتقال کروم به اندام‌های هـوایی مـی‌توانـد تـأثیر مستقیمی بر متابولیسم شاخه‌ها داشته و در نتیجه باعث کاهش ارتفاع گیاه شود. اثر منفی بر بازدهی و وزن خشک اصولاً اثـر غیرمستقیم کروم بر گیاهان می‌باشد که موجب اختلال جـدی در جذب مواد مغذی معدنی و آب می‌شود و اثرات نـامطلوبی بر رشد گیاه می‌گذارد (Shanker et al., 2005).

رشد برگ شامل توسعه سطح و تعداد کل برگها مـی‌باشـد که قطعاً میزان محصول را تعیین مـی‌کنـد. بعـضی گزارشـات کاهش تعداد برگ در گیاه گندم و کاهش قابل توجه مـساحت برگ در لوبیـای سـبز تحـت تـنش کـروم را نـشان مـی‌دهـد (Shanker et al., 2005).

کاهش رشد گیاه در اثر تیمار کروم ممکن است بـه علـت کاهش میزان سنتز کلروفیل و فتوسنتز باشد. نتـایج حاصـل از تحقیق نـشان داد کـه تیمـار بیـشتر از $mg/L$ $Cr^{+3}$ ۱ موجـب کاهش غلظـت کلروفیـل کـل و کلروفیـل a ,b دربـرگ گیـاه *Lactuca sativa* L. می‌شود. کاهش محتوای کلروفیل بـر اثـر تیمارهای کروم در گیاهانی مانند کـاهو (Nazz et al., 2010)، دانه‌رست‌های کرفس (Scocciant et al., 2006)، لوبیا سـبز و کلم گـل نیـز گـزارش شـده اسـت (Shanker et al., 2005). تغییرات کاهشی سطوح کلروفیل مـی‌توانـد بـه علـت کـاهش جذب Fe و کاهش عملکرد آنزیم‌هایی که در بیوسنتز کلروفیل دخالت دارنـد و نیـز جـایگزینی $Mg^{+2}$ در سـاختار مولکـولی کلروفیل توسط برخی از فلزات سنگین مورد تیمار و یا کاهش اندازه شاخک بخش پیرامونی کمپلکس به واسطه یـون کـروم باشد (Dhir et al., 2009). کاهش میزان کلروفیل گیاهان تیمار شده با $Cr^{+3}$ می‌تواند در رابطه با کاهش فعالیت ALAD (دلتـا آمینولولینیک اسید دهیدراتاز و پروتوکلروفیلید ردوکتاز) باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

ALAD آنزیمی است که در مسیر بیوسنتز کلروفیل دخالت دارد و تصور می‌شود که کروم با جایگزینی منیزیم در مکان فعال آنزیم فعالیت ALAD را کاهش می‌دهد (Scocciant et al., 2006). کاهش فعالیت این آنزیم موجب کاهش مقدار پورفوبیلینوژن (PBG) می‌شود که برای بیوسنتز کلروفیل ضروری است (ذاکر و همکاران، ۱۳۸٤). غیرفعال شدن آنزیم‌هایی که در مسیر بیوسنتز کلروفیل دخالت دارند می‌توانند به کاهش کلی کلروفیل در گیاهان تحت تیمار و تنش کروم کمک کنند (Shanker et al., 2005). کاهش میزان کلروفیل کل و در نتیجه فتوسنتز موجب کاهش تولید محصولات فتوسنتزی برای رشد اندام‌ها شده و در نتیجه باعث کاهش رشد می‌شود (Hussain et al., 2006). به علاوه نسبت کلروفیل $^{a}/_{b}$ تحت تأثیر تیمار نشی نبود و این نشان می‌دهد کلروفیل b, a سمیت برابری نسبت به تنش $Cr^{+3}$ در گیاه مورد مطالعه دارند. $Cr^{+3}$ مانند فرم یونی شش ظرفیتی، تنش اکسایشی را در گیاهان موجب می‌شود که منجر به پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب DNA و پروتئین‌ها می‌شود (Scocciant et al., 2006). تنش اکسایشی یا با القاء تولید رادیکال آزاد اکسیژن یا با کاهش آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی ایجاد می‌شود (زارع ده آبادی و اسرار، ۱۳۸۸). ROS به سرعت با DNA و ملکول‌های لیپید و پروتئین‌ها واکنش می‌دهد و به سلول‌ها آسیب می‌رساند (Nazz and Pandey, 2010). آنزیم‌های آنتی اکسیدان تولید شده بوسیله سلول‌های گیاهی شامل پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) سبب حفاظت سلولی و مقاومت در برابر شرایط تنشی و تحمیل شده به گیاه می شوند (Passardi et al., 2005). در پژوهش انجام یافته افزایش فعالیت کاتالاز در کاهوی تیمار شده با فاضلاب آلوده به کروم که به نسبت ۵۰ درصد رقیق شده بود مشاهده شده است (Nazz and Pandey, 2010). جداکشت‌های گیاه *E.Colona* تیمار شده با کروم در غلظت $۱/۵ mgL^{-1}$ تیمار شده بود فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در کالوس‌های مقاوم بیشتراز کالوس‌های غیرمقاوم بود (Shanker et al., 2005). همچنین فعالیت پراکسیداز در تنش ناشی از تیمار $Cu^{+2}$ در گیاه کاهو به طور معنی‌داری افزایش یافت (Teklic et al, 2008). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان احتمالاً در پاسخ مستقیم به تولید رادیکال سوپراکسید می‌باشد که احتمالاً در نتیجه اثر مهاری $Cr^{+3}$ بر زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری‌های سلول‌های گیاهی می‌باشد (Shanker et al., 2005). با افزایش غلظت کروم فعالیت آنزیم مذکور به علت اثر سمی غلظت‌های تنشی $Cr^{+3}$ نیز کاهش می‌یابد.

## نتیجه‌گیری نهایی

$Cr^{+3}$ به صورت طبیعی در محیط زیست وجود دارد و یک میکروالمان مغذی ضروری برای تغذیه انسان محسوب می‌شود. در نتیجه یکی از راه‌های مبارزه با کمبود کروم در جیره غذایی انسان استفاده از گیاهان خوراکی است که کروم را در بافت‌های خود انباشته می‌سازند. از طرف دیگر غلظت‌های زیاد کروم می‌تواند عامل مهمی در ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان باشد. نتایج حاصل از تحقیق اثر غلظت‌های مختلف $Cr^{+3}$ را بر برخی فاکتورهای فیزیولوژیکی شامل تغییرات رشد و زی توده گیاهی، میزان کلروفیل و فعالیت آنزیم GPOX در گیاه *Lactuca sativa* L. نشان داد که در غلظت‌های کم $۰/۵ mgL^{-1}$ اثر تحریکی و افزایشی بر میزان رشد و زیتوده، طول ریشه و ساقه، تعداد و سطح برگ داشته که این اختلاف در وزن خشک بخش هوایی و طول ساقه و سطح برگ نسبت به شاهد معنی‌دار بود با افزایش غلظت $Cr^{+3}$ میزان زیتوده، طول ریشه و ساقه، تعداد برگ، سطح برگ و میزان کلروفیل a, b و a+b کاهش یافت که معمولاً در غلظت‌های بیشتر از $۱ mgL^{-1} Cr^{+3}$ معنی‌دار بود. همچنین با افزایش غلظت‌های $Cr^{+3}$ میزان فعالیت GPOX افزایش یافت که این افزایش در غلظت‌های بیشتر از $۳ mgL^{-1} Cr^{+3}$ معنی‌دار بود.

## منابع

**زارع ده‌آبادی، س.، اسرار، ز. (۱۳۸۸).** بررسی اثر مقدار اضافی عنصر روی (Zinc) بر القای تنش اکسیداتیو و تجمع برخی عناصر در گیاه نعناع سبز (*Mentha spicata* L.). مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۲، شماره ۹، صفحات ۲۲۷-۲۱۸.

Archive of SID

www.SID.ir

**ذاکـر، آ.، لاهـوتی، م.، ابریـشم چـی، پ.، اجتهـادی، ح. (۱۳۸٤)**. بررسی تأثیر انباشتگی $Cr^{+3}$ و $Cr^{+6}$ وبـر رشـد و میزان کلروفیل درگیاه جعفری (*Petroselinum crispum*). مجله زیست شناسی ایران، جلد ۱۸، شـماره ۲، صـفحات ۱۰۹-۱۰۱.

**Arnon, D.I. (1956**). Photosynthesis by isolated chloroplasts. IV. General concept and comparison of three photochemical reactions. Biochem. Biophys. Acta 20: 449-461.

**Andaleeb, F., Zia, A.M., Ashraf, M., Khalid, M.Z. (2008).** Effect of chromium on growth attributes in sun flower (*Helianthus annuus* L.). Journal of Environmental sciences. 20: 1475-1480.

**Dhir, B., Sharmila, P., Pardha Saradhi, P., Abdul Nasim, S. (2009)**. Physiological and antioxidant responses of *Salvinia natans* exposed to chromium-rich wastewater. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72: 1790-1797.

**Ejaz u1, I., Xiao-e, Y., zhen-li, H., Qaisar, M. (2007)**. Assessing potential dietary of heavy metals in selected vegetables and food crops. Journal of Zhejiang university SCIENCE B. 8(1): 1-13.

**Hussain, M., Ahmad, A.S.M., Kausar, A. (2006)**. Effect of lead and chromium on growth, photosynthetic pigments and yield components in mashbean [*vigna mungo* (L.) hepper]. Pak. J.Bot. 38(5): 1389-1396.

**MacKinney, G. (1941)**. Abosrption of light by chlorophyll solutions. Biol. Chem. 140: 315-322.

**Mae-Adam, J.W. and Nelson sharp, C.J. (1992)**. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall feseue. J. Plant Physiol. 99, 872- 878.

**Mishra, K., Gupta, K., Rai, N.U. (2009)**. Bioconcentration and phytotoxicity of chromium in *Eichhornia crassipes*. Journal of Environmental Biology. 30(4): 521-526.

**Naaz, S., Pandey, S.N. (2010)**.Effects of industrial waste water on heavy metal accumulation, growth and biochemical responses of lettuce (*Lactuca sativa* L.). Journal of Environmental Biology. 31, 273-276.

**Passardi, F., Cosio, C., Penel, C., Dunand, C. (2005)**. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. Plant Cell Rep. 24: 255-265.

**Peralta–videa, R.J., Lopez, L.M., Narayan, M., Saupe, G., Gardea- Torresdey, J. (2009)**. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. The International of Biochemistry & cell Biology. 41: 1665-1677.

**Scoccianti, V., Crinelli, R., Tirillini, B., Mancinelli, V., Speranza, A. (2006)**. Uptake and toxicity of Cr(III) in celery seedlings. Chemosphere. 64, 1695-1703.

**Shanker, K.A., Cervantes, C., Tavera, L.H., Avudainayagam, S. (2005)**. Chromium toxicity in plants. Environment International. 31, 739-753.

**Teklic, T., Engler, M., Cesar, V., Lepedus, H., paradikovic, N., Loncaric, Z., Stolfa, I., Marotti, T., Mikac, N., Zarkovic, N. (2008)**. Influence of excess copper on lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in soil and nutrient solution. Journal of Food, Agriculture & Environment. 6 (3 & 4), 439- 444.

**Vassilev, A., Koleva, L., Berova, M., Stoeva, N. (2007).** Development of aplant test system for evaluation of the toxicity of metal contaminated soils. I.Sensitivity of plant species to heavy metal stress. Journal Central European Agriculture, 8(2):135-140.

**Vincent, B.J. (2001).** The bioinorganic chemistry of chromium(III). Polyhedron. 20: 1-26.

**Yu-lin, R., Ya-wei, Z., Yun-hua, Y. (2004)**. Chemical components of Lactuca and their bioactivites. Acta Pharmaceutica Sinica. 39(11): 954-960.

**Zayed, A., Mel lytle, C., Qian, J.H., Terry, N. (1998)**. Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. Planta. 206, 293-299.

Archive of SID

www.SID.ir

# The effect of $Cr^{3+}$ Stress on the chlorophyll content, Biomass and guiacol peroxidase activity in *Lactuca sativa* L.

***Maleki. F., Lahouti, M., Mahmoodzadeh. H.**
Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

**Abstract**

In order to examine the effect of $Cr^{3+}$ concentrations (0, 0.5, 1, 2, 3, 4 and 5$mgL^{-1}$), as a heavy metal, on the growth and chlorophyll and guiacol peroxidase enzyme (GPOX) variations in *Lactuca sativa* L. an experiment with a completely radomized design in 4 replications in Controlled Conditions (25±2°C, 35% relative humidity and photoperiod 16h) was carried out. Seeds of *Lactuca sativa* L. (cv. Mahali) were germinated in soil. Two weeks old seedlings were exposed to different chromium exposures (as above) for 7 weeks. The seedlings were harvested and assayed for some physiological factors including plant growth variations, chlorophyll a & b and the guiacol peroxidase activity. Data were exposed to statistical analysis using SPSS 18 software. Results showed that root & shoot biomass and chlorophyll (a & b) contents of leaves increased in seedlings treated with 0.5 $mgL^{-1}$ $Cr^{3+}$, whereas decreased in seedlings treated with 1,2,3,4 and 5 $mgL^{-1}$ $Cr^{3+}$. Activity of guiacol peroxidose Enzyme enhanced with increasing of the treated concentrations (3-5 $mgL^{-1}$ $Cr^{3+}$). Results show that root & shoot biomass and chlorophyll (a & b) contents of leaves increased in seedlings treated with 0.5 $mgL^{-1}$ $Cr^{3+}$ and treatments more than 1 $mgL^{-1}$ $Cr^{3+}$ have reductive and stress effect on growth and physiological factors.

**Key words**: Biomass, chlorophyll, $Cr^{3+}$, Stress, guiacol peroxidase, *Lactuca sativa* L.

Archive of SID

**Email:fmaleki14@yahoo.com*

www.SID.ir