Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۱۱، جلد ۴، شماره ۴، پاییز ۸۹، صفحه ۷۷ تا صفحه ۸۵

تاثیر غلظت‌های مختلف سولفات مس ($CuSO_4$) بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

رمضانعلی خاوری نژاد[۱]، فرزانه نجفی[۲]، **رقیه ببری بناب**[۳]

۱- استادگروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. **R_Babri@yahoo.co**
۲- استادیارگروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران- ایران.
۳- کارشناس ارشدگروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران- ایران، عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد بناب.

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۳۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۱۷

چکیده

اثر غلظت‌های مختلف سولفات مس ($CuSO_4$) بر روی برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) در محیط کشت هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت. گیاهک‌های ٤ روزه به گلدان‌های محتوی محلول غذایی هوگلند در شرایط کنترل شده (١٦ ساعت روشنایی/ ٨ ساعت تاریکی و دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد در روز ١٨ درجه سانتی‌گراد در شب) انتقال یافتند. گیاهان ١٠ روزه با غلظت‌های مختلف سولفات مس (٠، ١٥، ٣٠، ٤٥، ٦٠، ٧٥ و١٠٠ میکرومولار) تیمار شدند. گیاهان در شرایط کنترل شده رشد کردند و بعد از ٢٥ روز جهت سنجش محتوای مالون دی آلدهید، پرولین و کربوهیدرات‌ها برداشت شدند. نتایج به دست آمده نشان داد که افزایش سولفات مس موجب کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ (RWC) گردید. با افزایش غلظت مس، فعالیت پراکسیداسیون لیپیدهای (مالون دی آلدهید) (MDA) ریشه، میزان پرولین برگ‌ها و میزان کربوهیدرات‌های احیا کننده برگ افزایش یافت.

کلید واژه: مس، محتوای آب نسبی (RWC)، مالون دی آلدهید، پرولین، کربوهیدرات‌ها، لوبیا.

مقدمه

لوبیا، یکی از جهانی‌ترین غذای غله‌ای و کامل محسوب می‌شود که از نظر میزان نشاسته، پروتئین و فیبر،غنی بوده و منبع فوق العاده‌ای از آهن، پتاسیم، سلنیوم، مولیبدن، تیامین، ویتامین B_9 و فولیک اسید می‌باشد(۳۴). مس عنصر کم مصرف ضروری برای رشد گیاهان می‌باشد(۲). این عنصر در گیاهان به عنوان کوفاکتور در پلاستوسیانین، مس/ روی سوپراکسید دیسموتاز (Cu/Zn SOD)، سیتو کروم c اکسیداز، گیرنده‌های اتیلن، اکسیدازهای آپوپلاستی از قبیل آسکوربات اکسیداز، دی آمین اکسیداز است(۱۶). گیاهان با کمبود مس تغییر در بیان یک سری از ژن‌ها و تغییرات مورفولوژیکی مانند تغییر در ریشه و برگ، نشان می‌دهند. علایم کمبود مس، ابتدا در نوک برگ‌های جوان دیده و سپس در حاشیه برگ‌ها به پایین گسترش می‌یابد. هم چنین برگ‌ها ممکن است پیچ خوردگی پیدا نموده و یا بد شکل شوند و کلروز یا حتی نکروز گردند(۱۶). کمبود مس باعث کاهش انتقال الکترون در فتوسیستم I (PSI) وکاهش در فعالیت فتوسیستم II (PSII) می‌شود(۱۲). با وجود اهمیت مس در رشد و نمو گیاهی، زمانی که مس به مقدار اضافی در اختیار گیاه قرار گیرد باعث ایجاد علائم سمیت در گیاه می‌شود. مس

www.SID.ir

Archive of SID

اضافی باعث کاهش رشد و فعالیت فتوسنتزی و باعث ایجاد آسیب در غشاها و دستگاه ژنتیکی و پروتئین‌ها و سرکوب فعالیت‌های آنزیمی می‌گردد (۳۱). به طور کلی مس اضافی از طویل شدن سلول جلوگیری کرده(۱۷)، باعث ایجاد آسیب در سلول‌های اپیدرمی و غشاهای سلول‌های ریشه می‌گردد(۱۵). در غلظت‌های بالاتر از احتیاج برای رشد مطلوب، مس رشد را مهار می‌کند و با فرایندهای سلولی مهم هم چون فتوسنتز و تنفس تداخل می‌نمایید (۱۶،۱۹). رشد گیاهان در حضور غلظت‌های بالای مس به طور معمول با کاهش بیومس و علایم کلروز همراه است. کاهش میزان کلروفیل، تغییر و تبدیل ساختار کلروپلاست، ترکیب غشای تیلاکوئید در برگ‌ها، تجزیه توده گرانا و تیغه استروما، افزایش در تعداد و اندازه پلاستوگلوبولی(گویچه پلاستیدی) تحت چنان شرایطی، مشاهده شده است (۲۰،۲۴). به علاوه، پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش محتوی لیپیدها و تغییرات در ترکیب اسیدهای چرب غشاهای تیلاکوئید، مشاهده می‌شود؛ که منجر به تغییر سیالیت غشای تیلاکوئیدها می‌گردد (۲۰). افزایش مس موجب تنش اکسیداتیو و در نتیجه ایجادگونه‌های اکسیژن واکنش پذیر مانند رادیکال‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و اکسیژن منفرد، می‌گردد. گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر(ROS) ممکن است به چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها وماکرومولکول‌های تولید شده در سلول‌ها، آسیب بزنند. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سولفات مس (CuSO۴) بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه لوبیا(*Phaseolus vulgaris* L.) است.

مواد و روش‌ها

روش کاشت و تیمار دهی گیاهان: ابتدا تعدادی از بذرهای سالم لوبیای سفید (*Phaseolus vulgaris* L.) انتخاب و سترون کردن سطحی دانه‌ها صورت گرفت. در داخل هر ظرف پتری ۶-۵ عدد بذر قرار داده و به میزان ۵ میلی لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شد. پتری‌های فوق در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور قرار داده شد و آب پتری‌ها هر روز تنظیم و به مدت ۴-۳ روز همین عمل را تکرار کرده و بعد از جوانه زنی، بذرها به مدت ۲ روز به گلدان‌های محتوی محیط هوگلند ۱/۵، سپس۲ روز به محلول هوگلند۱/۲ و ۳ روز به محلول هوگلند کامل منتقل شدند. سپس گیاهان یکنواخت از نظر اندازه انتخاب گشته و به لیوان‌های پلاستیکی انتقال و با محلول هوگلند کامل آبیاری شدند و از روز دهم پس از کاشت تیمار دهی شروع گردید. محلول غذایی پایه جهت اعمال تیمارهای مختلف، هوگلند می‌باشد. تیمارهای صفر(شاهد)، ۱۵،۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرو مولار سولفات مس برای انجام آزمایش، تهیه شد. برای هر تیمار چهار تکرار و در هر لیوان سه گیاه قرار داده شد. در طول تیماردهی لیوان‌ها به طور متناوب یک روز در میان با محلول غذائی آبیاری شدند. روشنایی مورد نیاز با استفاده از لامپ‌های معمولی فلورسنت و تنگستن، درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب بود. طول دوره روشنایی و تاریکی به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت تنظیم شد. برای به حداقل رساندن اثرات میکروکلیمایی در محیط رشد گیاه در گلخانه، گردش وضعی و جا به جایی تصادفی لیوان‌های حاوی گیاه به صورت روزانه در دوره رشد انجام پذیرفت. تیمار دهی به مدت ۱۵ روز ادامه داشت و پس از آن گیاهان ۲۵ روزه جهت سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی برداشت شدند.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ‌ها(RWC): برای به دست آوردن میزان محتوای نسبی آب برگ از روش Weatherley(۱۹۵۰) (۳۲) استفاده شد. بدین منظور برگ‌ها را ابتدا وزن کرده و بعد به مدت ۲۴ ساعت در پلیت حاوی آب مقطر در یخچال قرار داده و بعد از ۲۴ ساعت وزن تورگور آن‌ها اندازه‌گیری و پس از انتقال

www.SID.ir

Archive of SID

برگ‌ها به داخل فویل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفته، سپس وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری و با استفاده از معادله زیر RWC محاسبه شد:

$$RWC\ (\%) = [(FW-DW)/\ (TW-DW)] \times 100$$

FW: وزن تر برگ، DW: وزن خشک برگ، TW: وزن تورگور برگ

سنجش مقدار قندهای احیاء کننده: مقدار قندهای احیاء کننده با استفاده از روش نلسون وسوموگی(۲۶) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۰۲۵ گرم از بافت تر گیاهی (برگ و یا ریشه) وزن و هر نمونه به طور جداگانه با ۵ میلی لیتر آب مقطر درهاون چینی ساییده، سپس محتوای‌هاون توسط کاغذ صافی واتمن صاف گردید. ۲ میلی لیتر از عصاره برگی به دست آمده به یک لوله آزمایش منتقل و به آن ۲ میلی لیتر محلول سولفات مس (۴۰ گرم کربنات سدیم در ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر + ۷/۵ گرم اسید تارتاریک + ۴/۵ گرم سولفات مس آبدار در حجم یک لیتر آب) اضافه و به مدت ۸ دقیقه لوله‌های آزمایش در بن ماری با درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند. احیای Cu^{2+} اساس تعیین مقدار قند در این روش می‌باشد. پس از سردشدن لوله‌ها ۲ میلی لیتر محلول اسید فسفومولیبدیک (۷۰ گرم اسید فسفومولیبدیک + ۱۰ گرم تنگستات سدیم در ۷۰۰ میلی لیتر سود ۵ درصد به مدت ۴۰ دقیقه حرارت و سپس ۲۵۰ میلی لیتر اسید اورتوفسفریک ۸۵٪) به آن‌ها اضافه گردید. پس از تکان دادن لوله‌ها و پخش یکسان رنگ آبی پدید آمده در لوله آزمایش، جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده و غلظت قندهای احیا کننده با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

سنجش میزان مالون دی آلدهید (سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها): اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدها با استفاده از روش Health&Packer (۱۹۶۸) (۱۱) به دست آمده است. میزان پراکسیداسیون لیپید در بافت‌ها از طریق تعیین محتوای مالون دی آلدهید (MDA)در واکنش با تیو- باربیتوریک اسید سنجیده شد. به این منظور ۰/۲ گرم بافت تازه ریشه را در ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA)۰/۱ درصد سائیده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در g ۱۰/۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۴ میلی لیتر TCA ۰/۲درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم حرارت داده، سپس بلافاصله در یخ سرد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۰/۰۰۰ سانتریفیوژ شد.شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید.برای محاسبه غلظت (MDA) از ضریب خاموشی معادل ($۰/۱۵۵cm^{-1}\ \mu\ M^{-1}$) استفاده و بر اساس واحد ($\mu\ molg^{-1}\ F.W.$) بیان شد.

سنجش میزان پرولین: اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از روش Bates (۱۹۷۳)(۴) به دست آمده است. ۰/۲ گرم از وزن تر برگ به همراه ۵ میلی لیتر محلول آبی سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ درهاون چینی به مدت ۵ دقیقه ساییده و به کمک کاغذ صافی واتمن شماره ۲ و پمپ خلأ صاف گردید. ابتدا ۱ میلی لیتر از عصاره استخراج شده در یک لوله آزمایش ریخته و به هر لوله ۱ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۱ میلی لیتر محلول نین هیدرین افزوده شد. سپس لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب جوش قرار داده و بلافاصله در یخ سرد شدند تا واکنش متوقف شود. پس از سرد شدن به هر لوله ۲ میلی لیتر تولوئن افزوده و هر لوله به مدت ۲۰ ثانیه بر روی شیکر به شدت تکان داده، در هر لوله دو فاز تشکیل شده که محلول رنگی فاز فوقانی حاوی پرولین است. جذب نور محلول فوقانی در

www.SID.ir

Archive of SID

طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و به کمک منحنی استاندارد جذب پرولین مقدار پرولین آزاد به ازای هر گرم بافت تر محاسبه گردید.

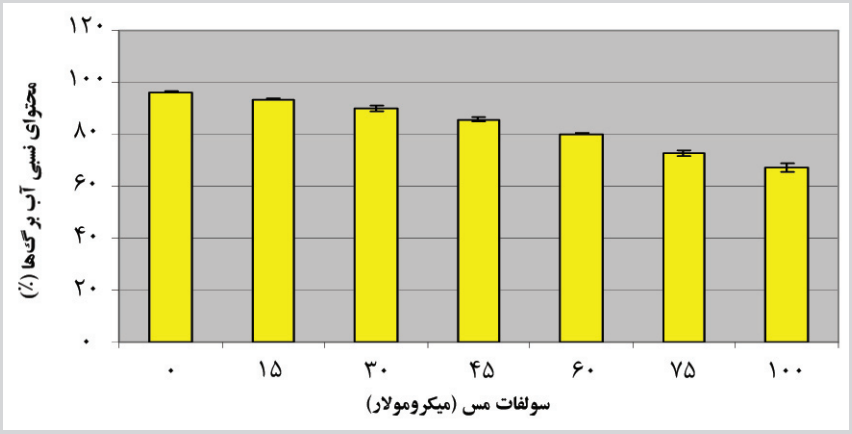
تحلیل آماری: بررسی‌ها بر اساس آنالیز واریانس یک عاملی توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۵ و در سطح احتمال P<۰/۰۵ صورت گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

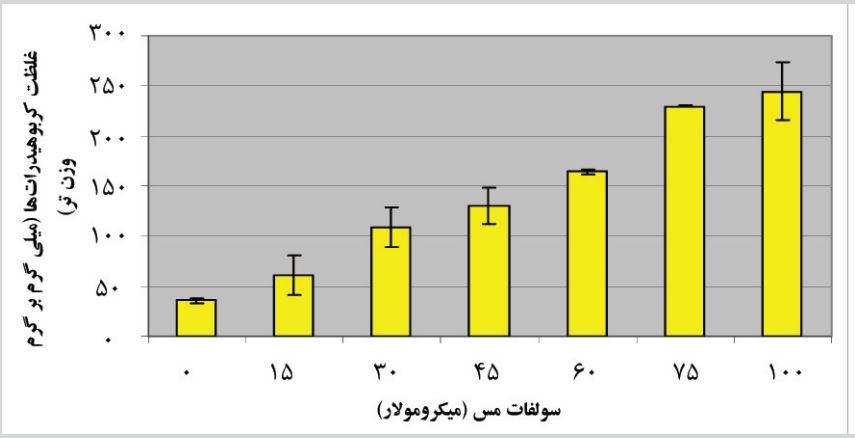
نتایج مربوط به سنجش محتوای نسبی آب برگ‌ها (RWC): با افزایش غلظت CuSO۴ از صفر (نمونه شاهد) تا ۱۰۰ میکرومولار، میزان RWC کاهش می‌یابد. کاهش میزان RWC در غلظت‌های ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس نسبت به محتوای RWC در غلظت صفر معنی دار بوده است. (نمودار ۱)

نتایج مربوط به سنجش قندهای احیا کننده برگ: همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سولفات مس از صفر (نمونه شاهد) تا ۱۰۰میکرومولار، غلظت کربوهیدرات‌ها افزایش می‌یابد. افزایش میزان غلظت کربوهیدرات در غلظت‌های ۴۵،۶۰،۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس نسبت به غلظت کربوهیدرات در غلظت صفر میکرومولار معنی دار بوده است. (نمودار ۲)

نتایج مربوط به سنجش پراکسیداسیون لیپیدها (مالون دی آلدهیدMDA): با افزایش غلظت CuSO۴ از صفر (نمونه شاهد) تا ۱۰۰میکرومولار، میزان مالون دی آلدهید افزایش می‌یابد. افزایش میزان غلظت کربوهیدرات در غلظت‌های ۶۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرو مولار سولفات مس نسبت به غلظت کربوهیدرات در غلظت صفر میکرو مولار معنی



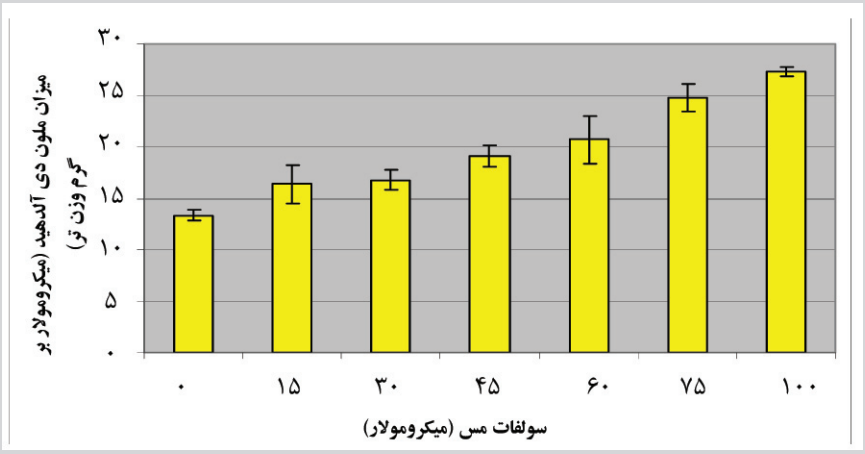
نمودار ۱- اثر غلظت‌های مختلف(CuSO٤) بر محتوای نسبی آب برگ (RWC) (٪)



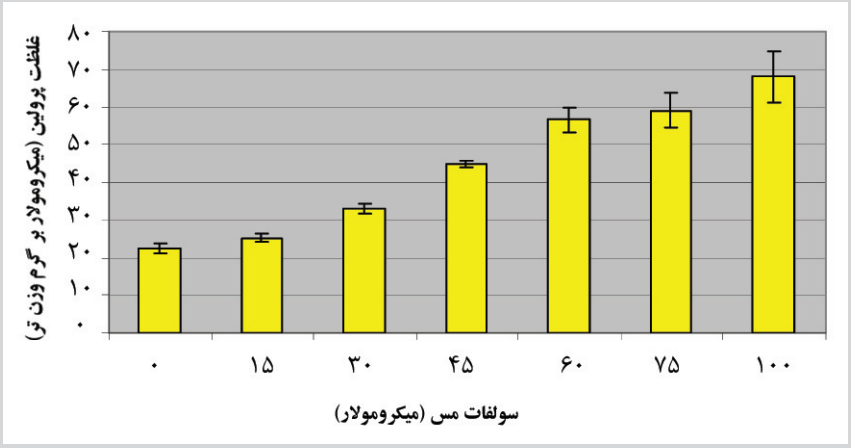
نمودار۲- اثر غلظت‌های مختلف (CuSO٤) بر میزان کربوهیدرات‌های برگ

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳- اثر غلظت‌های مختلف ($CuSO_4$) بر میزان مالون دی آلدهید



نمودار ٤- اثر غلظت‌های مختلف ($CuSO_4$) بر میزان پرولین برگ‌ها

دار بوده است. (نمودار ۳)

نتایج مربوط به سنجش پرولین: با افزایش غلظت $CuSO_4$ از صفر (نمونه شاهد) تا ۱۰۰میکرومولار، میزان پرولین افزایش می‌یابد. افزایش غلظت پرولین در غلظت‌های ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرو مولار سولفات مس نسبت به غلظت پرولین در غلظت صفر میکرو مولار معنی دار بوده است. (نمودار ۴)

بحث و نتیجه‌گیری

تأثیر سولفات مس بر محتوی نسبی آب برگ‌ها(RWC): تقریباً هر فرآیند گیاهی به طور مستقیم یا غیر مستقیم تحت تأثیر محتوی آب گیاه بوده و می‌توان آب را یک عامل اساسی در تنظیم رشد گیاه محسوب نمود. بنابراین در اغلب پژوهش‌ها در ارتباط با پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی، توجه ویژه‌ای به روابط آبی از سطح سلولی تا کل گیاه می‌شود. روابط آبی گیاه، نتیجه سه فرآیند وابسته به هم جذب، انتقال و اتلاف آب از گیاه می‌باشد. در تحقیق حاضر، محتوی نسبی آب برگ‌ها (RWC) تحت تأثیر سمیت مس کاهش یافته است. نتیجه مشابهی درباره تأثیر فلز سنگین بر رویRWC در گندم و ذرت گزارش شده است(۹،۲۹). هم‌چنین تأثیر آرسنیک بر RWC در گیاه لوبیا هم نتیجه مشابهی داشته است(۲۸). مس از جذب پتاسیم جلوگیری می‌کند(۱) و نیز سمیت مس باعث نشت K^+ از سلول‌ها می‌شود، به این ترتیب میزان مهم‌ترین یونی که در تورژسانس و گسترش سلول‌های برگ نقش دارد، تحت تأثیر سمیت مس کاهش می‌یابد. هم‌چنین کاهش محتوای آبی گیاه می‌تواند در

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه و یا کاهش جریان آب از ریشه به بخش هوایی باشد(۲۹). می‌توان بیان کرد که احتمالا آکوآپورین‌های ریشه تحت تأثیر مس قرار گرفته‌اند، که این اثر بر روی کانال‌های آبی می‌تواند در سطح پروتئین و یا در سطح بیان ژن باشد. آکوآپورین‌ها به مولکول‌های آب اجازه می‌دهند که آزادانه در خلال غشاهای سلولی براساس شیب فشار هیدروستاتیک و یا اسمزی عبور کنند(۸). افزایش مقاومت روزنه‌ای و به دنبال آن کاهش تعرق و در نتیجه کاهش جذب و انتقال آب(۴) و نیز کاهش کشسانی دیواره سلول از علل مهم کاهش محتوی نسبی آب برگ‌ها(RWC) است(۵). بررسی‌ها نشان می‌دهد که کاهش سطح انتقال موثرتر از افزایش مقاومت روزنه‌ای می‌باشد.

تأثیر سولفات مس بر میزان قندهای احیاء کننده: نتایج حاصل از تحقیق ما نشان می‌دهد که میزان قندهای احیاء کننده تحت تأثیر سمیت مس افزایش یافته است. نتیجه به دست آمده با گزارش حاصل از تیمار مس بر روی Cucumis sativus مطابقت دارد(۱). افزایش مقدار قندهای احیاکننده تحت شرایط تنش شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است(۳۰). افزایش قندها می‌تواند در اثر انباشتگی آن‌ها باشد. انباشتگی در برگ‌ها می‌تواند به دلیل کاهش بارگیری فلوئمی و کاهش ظرفیت انتقال آسیمیلات‌ها و یا کاهش سرعت استفاده از آن‌ها در اندام‌های مخزن باشد(۱). انباشتگی کربوهیدرات‌ها در برگ‌های تحت تنش به نوبه خود باعث القاء فیدبک بازدارنده بر روی فتوسنتز می‌شود(۹)، میزان تولید قندها باRWC رابطه معکوس دارد که نشان می‌دهد هرچه محتوای نسبی آب پایین باشد، امکان تولید قندها، افزایش پیدا می‌کند. علت افزایش قندها برای بالابردن مقاومت گیاه به دلیل تنظیم فشار اسمزی سلول‌ها می‌باشد(۲۷). محتوای آب و املاح با کمک هم میزان فشار تورژسانس را تعیین می‌کنند و موجب تعدیل اسمزی و جذب آب توسط ریشه می‌شوند. فلز سنگین با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسم قند می‌شود. با کاهش انتقال آب به قندها به دنبال تجمع فلز سنگین در سلول‌ها، محتوای قندهای احیاکننده در گیاه افزایش می‌یابد. این پدیده احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت با فلز سنگین است. علاوه بر نقش قندها در تنظیم فشاراسمزی، تصور می‌شود با افزایش قندها، گیاه بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب نگه دارد(۳۰).

تأثیر سولفات مس بر میزان پراکسیداسیون لیپیدها در ریشه(مالون دی آلدهیدMDA): برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها در ریشه‌ها از تست اسید تیوباربیتوریک (TBA) برای تعیین سطح مالون دی آلدهید استفاده شد. تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که سطوح MDA در گیاهان تحت تیمار با فلزات سنگین، افزایش می‌یابد(۷،۱۸)، که با نتایج کار ما مطابقت دارد. فلزات سنگین مانند مس می‌توانند باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید بالایROS و به دنبال آن پاسخ‌های آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی و آنزیمی و پراکسیداسیون لیپیدها، در گیاهان شوند(۲۳). ROS همان اشکال مختلف اکسیژن واکنش پذیر می‌باشند که در صورت فعالیت، سبب آسیب‌های شدید به ماکرومولکول‌ها، از جمله لیپیدهای غشایی می‌شود. اگر گیاهان در یک محیط تنش زا رشد کنند، رادیکال‌های آزاد زیادی در سلول‌ها جمع می‌شوند، چون مکانیسم نگهدارنده رادیکال‌های آزاد، در حال تعادل، درخطر می‌باشد. پر ا کسید ا سیو ن چربی تولید شده با رادیکال‌های آزاد بالا، یک نشانه از حضور ماده سمی در محیط هست، که محصول نهایی آن مالون دی آلدهید(MDA) می‌باشد. MDA افزایش یافته یک شاخص از تنش فیزیولوژیکی هست(۱۸). گزارش

www.SID.ir

Archive of SID

شده است که با افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدها، که به دنبال سمیت با فلز سنگین و ایجاد رادیکال‌های آزاد اتفاق می‌افتد، فعالیت لیپواکسیژناز افزایش می‌یابد(۲۳). این آنزیم اکسیژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره طولانی را کاتالیز می‌کند. لینولئیک اسید و لینولنیک اسید، بیشترین اسیدهای چرب غیراشباع در ساختمان سلول گیاهی هستند که سوبسترای ایده آلی برای این آنزیم می‌باشند.

تأثیر سولفات مس بر میزان پرولین در برگ: نتایج تحقیق نشان می‌دهد که تیمار مس باعث افزایش میزان پرولین در برگ‌های لوبیا شده است. انباشتگی پرولین در اثر القاء فلزات سنگین در تحقیقات دیگری نیز گزارش شده است(۳،۲۱،۲۲). انباشتگی پرولین در بافت گیاهی می‌تواند درنتیجه کاهش تجزیه پرولین، افزایش بیوسنتز پرولین، کاهش در استفاده از پرولین و هیدرولیز پروتئین‌ها باشد(۶). پرولین، نسب به تنش بسیار حساس می‌باشد. از آن جائی که مس باعث افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود، پرولین به عنوان یک آنتی اکسیدان در جهت کاهش رادیکال‌های آزاد، عمل می‌کند. مکانیسم‌هایی که پرولین به وسیله آن‌ها باعث کاهش آسیب رادیکال‌های آزاد می‌شود، شامل خاموش سازی فیزیکی اکسیژن منفرد و واکنش شیمیایی با رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشد که این کار برای حفظ غشای سلولی امری ضروری است(۲۴). هم‌چنین اهمیت تجمع پرولین در حفظ وضعیت آبی گیاه بیشتر از اهمیت سایر مواد آلی است و پرولین به عنوان وسیع ترین اسمولیت انباشته شده در شرایط تنش عمل می‌کند(۲۵). مولکول‌های پرولین شامل قسمت‌های آب دوست و آب گریز می‌باشد. پرولین محلول، می‌تواند حلالیت پروتئین‌های مختلف را تحت تأثیر قرار داده و جلوی غیر طبیعی شدن آلبومین را بگیرد. این ویژگی پرولین بدان جهت است که رابطه متقابل بین پرولین و سطح پروتئین‌های آب گریز برقرار شده و به علت افزایش سطح کل مولکول‌های پروتئین آب دوست، پایداری آن‌ها افزایش یافته و از تغییر ماهیت آن‌ها جلوگیری می‌کند. آنزیم‌ها نیز به دلیل ساختمان پروتئینی خود تحت تأثیر این ساز و کار پرولین قرار گرفته و محافظت می‌شوند(۱۳).

منابع:

1.Alaoui-Sosse B., Genet P., Vinit-Dunand F., Toussaint A.L., Epron D. (2004). Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. Plant Sci. 166; 1213-1218.

2.Arnon, D.I., Stout, P.R. (1939). The essentially of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. Plant Physiol, 14; 371-375

3.Backor, M., Fhselt, D., T.W.C. (2004). Free proline content is positively correlated with copper tolerance of the lichen photobiont *Trebouxia erici* (chlorophyta). Plant Sci, 167; 151-157.

4.Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39; 205-207.

5. Becerril, J.M., Gonzalez-Murua, C., Munoz-Rueda, R., De Felip, M.R. (1998). The changes indused by lead and cadmium in gas exchange and water relations in clover and lucerne. Plant. Physiol. Biochem, 27; 913-918.

6.Charest, C., Phan, C.T. (1990), Cold accumulation of weat (*Triticum aestivum*): properties of enzymes involved in proline metabolism. Physiol. Plant, 80; 159-168

7.Costa, G., Spitz, E. (1997). Influence of

www.SID.ir

Archive of SID

cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*. Plant Sci, 128; 131-140.

8.Demirevska-kepova, K., Simova-Stoilova, L., Stoyanova, Z., Holzer, R., Feller, U. (2004). Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. Environ. Exp. Bot, 52; 253-266

9.Dube, B.K., Tewari, K., Chatterjee, J., Chatterjee, C. (2003). Excess chromium alters uptake and translocation of certain nutrients in citrullus. Chemosphere, 53; 1147-1153.

10. Foyer, C. (1988). Feedback inhibition of photosynthesis through source-sink regulation in leaves. Plant Physiol. Biochem, 26;483-492.

11. Health , R.L., Packer, L. (1968). Phytoperoxidation in isolated chloroplast.I.kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys, 125;182-198

12. Henriques, F.S. (1989). Effects of copper deficiency on the photosynthetic apparatus of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). J. Plant Physiol, 135; 453-458

13. Kuznetsov, V.I., Shevykova, N.I. (1999). Proline Under Stress: Biological role, metabolism, and regulation. Russ. J. Plant Physiol, 46; 274-287

14. Lidon, F.C., Henriques, F.S. (1991). Limiting step photosynthesis of rice plants treated with varying copper levels. J. Plant Physiol, 138; 115-118.

15. Lin, J., Jiany, W.S., Liu, D.H. (2003). Accumulation of copper by roots, hypocotyls, and leaves of sunflower (*Helianthus annus* L.). Bioresource Technol, 86; 151-155.

16. Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London.

17. Ouzounidou, G., Moustakas, M., Lannoye, R. (1995). Chlorophyll fluorescence and photoacoustic characteristics in relationship to changes in chlorophyll and Ca content of a Cu-tolerant *Silene* compacta ecotype under Cu treatment. Physiol. Planta. J., 93; 551-557.

18. Pourakbar, L., Khayami, M., Khara J., Farbodnia, T. (2007). Copper-Induse change in antioxidative system in maize (*Zea mays* L.). Pak. J. Biol. Sci, 10;3662-3667.

19. Prasad, M.N.V., Strzalka, K. (1999). Impact of heavy metals on photosynthesis. In heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems (EDS) Prasad M.N.V. and Hagemeyer J. , Springer, Berlin.

20. Quartacci, M.F., Pinzino, C., Sgherri, C.L.M., Dalla, Vecchia, F., Navari-Izzo, F. (2000). Growth in excess copper induces changes in the lipid composition and fluidity of PSII-enriched membranes in Wheat. Physiol. Plant, 108;87-93

21. Sanchez, E., Lopez-Lefebre, L.R., Garcia, P.C., Rivero, R.S., Ruiz, J.M., Romero, L. (2001). Proline metabolism in response to highest nitrogen dosages in green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.cv. Strike). Plant Physiol. 158: 593-598.

22. Sanchez, E., Manuel, Ruiz, J., Romero, L. (2002). Proline metabolism in response to nitrogen toxicity in fruit of French Bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv Strike). Horticulture Sci, 93; 225-233

23. Sanita, D., Toppi, L., Gabbrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants-review. Environ. Exp. Bot, 41;105-130.

24. Schaller, H. (2003). The role of sterol-

www.SID.ir

Archive of SID

sin plant growth and development.Progrss in Lipid Res. Planta, 42; 63-175.

25. Shah, K., Kumar, R. G., Verma, S., Dubey, R.S. (2001). Effect of cadmium on lipid peroxidation,superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing riceseedlings. Plant Sci, 161;1135–1144.

26. Somogyi, M. (1952). Notes on sugar dtermination. J.Biol. Chem, 195; 19-29

27. Subbaro, G., Nam, N.H., Chauhan Y.S., Johansen, C. (2000). Oosmotic adjustment, water relation and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. J. Plant Physiol, 157; 651- 659.

28. Stoeva, N., Berova, M., Zlatev, Z. (2005). Effect of arsenic on some physiological parameters in bean plants. Biol. Plant, 49; 293-296.

29. Teh Chen, C., Chen, L.M., Lin, C.C., Huei Kao, C. (2001). Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. Plant Sci, 160; 283-290

30. Verma, S., Dubey, R.S. (2001). Effect of cadmiumon soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biologia. Planta, 44; 117-123

31. Walker, C.D., Webl, J. (1981). Copper in plants. Form and behaviours, in: Loneragan J.F., Robson A.D. and Graham R.D. (Eds.) , Copper in soils and plants. Academic Press, London, 189-212.

32. Weatherley, P.E. (1950). Some aspects of water relations. Advance Bot. Res, 3; 171-206.

33. Yurekli, F., Porgali, Z. (2006). The effects of excessive exposure to copper in bean plants. ACTA Biological Cracoviensia Series Botanica, 48; 7-13

34. Zohary, D., Hopf, M. (2000). Domestication of plants in the old world. Plant System. and Evolution, 336(3-4);227-228

www.SID.ir