

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

شماره پیاپی ۹، جلد ۳، شماره ۲، بهار ۸۹، صفحه ۹ تا صفحه ۱۷

اثر غلظت‌های مختلف کلرور آلومینیوم بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris L.*)

رمضانعلی خاوری نژاد^۱، فرزانه نجفی^۲، معصومه صالحی^۳

۱- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت معلم تهران.

۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت معلم تهران.

۳- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران - ایران.

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۲

چکیده

تأثیر کلرور آلومینیوم ($AlCl_3$) در غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰ و ۷۵۰ میکرومولار بر روی برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris L.*) طی ۲۵ روز دوره رشد (۱۵ روز تیماردهی) در محیط کشت هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت. با افزایش غلظت آلومینیوم در محیط کشت محتوای کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها افزایش یافت. غلظت پروتئین کل برگ‌ها در حضور آلومینیوم افزایش نشان داد. در غلظت‌های بالای آلومینیوم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت، در صورتی که در تیمارهای ۵۰ و ۱۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم نسبت به تیمار شاهد کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز مشاهده شد و هم‌چنین با افزایش غلظت آلومینیوم میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ‌ها افزایش یافت و در ۶۰۰ و ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده گردید.
کلید واژه: آلومینیوم، پراکسیداز، پروتئین، کاتالاز، کربو هیدرات و لوبیا.

مقدمه

اسیدهای آلی از ریشه‌ها به عنوان یکی از راهکارها جهت مقابله با اثرات سمی آلومینیوم توسط دانشمندان شناسایی شده است. برای نمونه دفع سترات از لوبیا (*Phaseolus vulgaris L.*) به عنوان عاملی برای بهبود و کاهش اثرات فیتو توکسیته از آلومینیوم گزارش شده‌اند (۱۵، ۱۶) هرچه pH خاک پایین‌تر می‌رود حالت اسیدی تر پیدا می‌کند و میزان طویل سازی ریشه کاهش می‌یابد که pH بهینه برای رشد گیاه لوبیا ۷-۶/۵ می‌باشد که اگر pH از ۶ به ۴/۵ کاهش یابد این اثر بازدارندگی روی طویل سازی سلول‌های ریشه به علت وجود بالای اسیدیته خاک بیشتر به چشم می‌خورد و کاهش pH در گیاه لوبیا ممکن است منجر به کاهش عملکرد $H^+ - ATPase$ غشای

لوبیا که یکی از پر مصرف ترین مواد غذایی کشت شده در دنیا می‌باشد دارای منبعی فوق العاده از فیبر، پروتئین و کربوهیدرات می‌باشد.
خاک‌های اسیدی شامل ۴۰٪ از زمین‌های دنیا را شامل می‌شوند و اسیدیته خاک به عنوان یک عامل اصلی محدود کننده رشد برای گیاهان محسوب می‌شود. لوبیا شدیداً توسط تنش‌های غیر زیستی مثل کمبود فسفر و یا سمیت آلومینیوم در مناطق گرمسیری و نواحی فوق گرمسیری محدود می‌شود (۴). از علائم سمیت آلومینیوم باز دارندگی رشد ریشه در گیاهان حساس به خصوص در نوک ریشه‌ها می‌باشد که این نشانه‌ها تقریباً ۳۰ دقیقه الی ۲ ساعت بعد از تیمار نمایان می‌شود (۲۵). آزاد سازی

لیپیدهای غشایی و آپوپتوزیس یا مرگ برنامه ریزی شده سلول می‌شود (۲۱). در گیاهان اثر سمی آلومینیوم با علائمی از کمبود فسفر (برگ‌ها سبز تیره، کوچک شدن برگ‌ها و تأخیر در بلوغ برگ‌ها، ظهور رنگ ارغوانی در ساقه‌ها و قهوه‌ای شدن برگ‌ها، رگبرگ‌ها و از بین رفتن نوک‌های برگ) همراه می‌باشد. در برخی موارد، سمیت آلومینیوم منجر به کمبود کلسیم یا سبب ممانعت از انتقال کلسیم (پیچ خوردن برگ‌های جوان، از بین رفتن برگچه‌ها و بتأخیر انداختن رشد برگ‌ها) می‌شود (۹، ۱۲).

مواد و روش‌ها

روش کاشت و تیماردهی گیاهان

تعداد ۲۰۰ عدد بذر یکنواخت و همگن انتخاب شده و در داخل هر پلیت 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 مناسب در داخل انکوباتور قرار داده شدند و آب پتری‌ها هر روز تنظیم شده و به مدت ۴ روز همین عمل را تکرار کرده و بعد از جوانه زنی بذرها، گیاهک به محیط هوگلند، منتقل شدند و بعد از مدت ۳ روز به محیط هوگلند کامل منتقل گردیدند. سپس از بین آنها گیاهان یکنواخت از نظر اندازه انتخاب گشته و به لیوان‌های پلاستیکی انتقال یافتند و با محلول هوگلند کامل آبیاری شدند. گیاهان ۱۱ روزه تحت تیمار کلرور آلومینیوم قرار گرفتند. در این هنگام چهار گیاه برای آنالیزهای اولیه انتخاب شدند و به آزمایشگاه انتقال یافتند. برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد و در هر لیوان سه گیاه قرار داده شد. در طول تیمار دهی محلول غذایی هر سه روز یکبار تعویض شد.

آنالیز رشد

گیاهان ۲۵ روزه جهت آنالیز رشد برداشت شدند و وزن تر اندام هوایی (برگ و ساقه)، ریشه و سطح برگ بلافاصله پس از برداشت اندازه‌گیری شدند و برای بدست آوردن وزن خشک، برگ، ساقه و ریشه هر یک از تیمارها در آون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و بعد از خارج شدن نمونه‌ها از آون وزن

پلاسمایی شود، بنابراین اختلال در pH سیتوزولی منجر به آسیب سلولی می‌شود (۲۷). آلومینیوم متعلق به گروه ۳A جدول تناوبی عناصر با عدد اتمی ۱۳، وزن اتمی ۲۶/۹۸، نقطه ذوب ۹۳۴/۴۳۷k و نقطه جوش ۲۷۹۲k می‌باشد، آلومینیوم فلزی با چگالی نسبی ۲/۷ می‌باشد. افزایش حلالیت ترکیبات آلومینیوم بر اساس میزان اسیدیفیکاسیون خاک می‌باشد که با شستشوی یون‌های فلزی قلیایی از قبیل: سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم از خاک و کاهش pH محلول‌های خاکی صورت می‌گیرد و یون‌های آلومینیوم به بخش‌های بالاتری از گیاه جابجا می‌شوند (۱۶). در گیاهان تحت تنش آلومینیوم در گونه‌های حساس به آلومینیوم، زردی برگ (Chlorosis) مشاهده می‌شود، کاهش غلظت آهن در قسمت رأسی، کاهش کلسیم و منیزیم در هر دو قسمت رأسی و ریشه‌ها، تمایل به سمت تجمع فسفر، آلومینیوم و آهن در ریشه‌ها و کاهش منگنز در قسمت رأسی در آنها نیز مشاهده می‌شود (۵، ۶، ۱۴). یکی از علائم بازدارنده از طویل سازی ریشه تحت تأثیر آلومینیوم، کوتاه شدن ریشه می‌باشد. ریشه‌ها معمولاً پرزدار و شکننده هستند و نوک ریشه‌ها و نواحی جانبی ریشه‌ها ضخیم و معمولاً قهوه‌ای متمایل به خاکستری می‌باشند. این علائم بعد از تیمار گیاهان با آلومینیوم حتی در غلظت کم که در محلول‌های هیدروپونیک قرار گرفته اند دیده می‌شود (۱۹). واکنش اندام‌های هوایی نسبت به آلومینیوم شامل: تغییرات سلولی و فرا ساختاری در برگ‌ها، افزایش میزان مقاومت انتشار، کاهش دستگاه روزنه‌ای، کاهش فعالیت فتوسنتز، کلروز و نکروز شدن برگ‌ها، کاهش در تعداد و اندازه برگ و کاهش در بیومس اندام‌های هوایی می‌باشد (۲۴). آلومینیوم در عملکرد طبیعی دستگاه گلزی مداخله کرده و از فعالیت میتوزی و سنتز DNA نیز ممانعت می‌کند و مکانیسم‌هایی که عمل سازماندهی میکروتوبول‌های اسکلت سلولی، همانند پلی مریزاسیون توبولین را که با به تأخیر انداختن در طی عمل میتوز انجام می‌دهند را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۱). آلومینیوم سبب پراکسیداسیون

خشک هر یک اندازه گیری شد.

سنجش کربوهیدرات‌ها

با استفاده از روش Somogy در سال ۱۹۵۲ اندازه گیری شد. ۰/۰۲۵ گرم از بافت تر گیاهی با ۵ میلی لیتر آب مقطر درهاون چینی ساییده شد. سپس محتوای هاون توسط کاغذ صافی واتمن صاف گردید. ۲ میلی لیتر از عصاره به لوله آزمایش منتقل شد و به آن ۲ میلی لیتر محلول محتوی 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 شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۸ دقیقه در بن ماری با درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. احیای Cu^{2+} اساس تعیین مقدار قند در این روش می‌باشد. پس از سرد شدن لوله‌ها ۲ میلی لیتر محلول اسید فسفر مولیبدیک (۷۰ گرم اسید مولیبدیک، ۱۰ گرم تنگستات سدیم در ۷۰۰ میلی لیتر سود ۵ درصد به مدت ۴۰ دقیقه حرارت و سپس ۲۵۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵٪ اضافه گردید) به آن‌ها اضافه شد. پس از تکان دادن لوله‌ها و پخش یکسان رنگ آبی پدید آمده در لوله آزمایش، جذب در طول موج‌های ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد و غلظت قند با استفاده از منحنی استاندارد قند گلوکز بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید (۲۸).

سنجش پروتئین کل

به روش Bradford در سال ۱۹۷۶ انجام شد. ۰/۵ گرم برگ تازه را در ۵ میلی لیتر با فرسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH ۷/۵) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) ۱٪ و EDTA ۱ میلی مولار بود ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۰۰۰۰ g و در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند و از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استخراج شده مرحله قبل در یک لوله آزمایش ریخته و به آن ۵ میلی لیتر معرف براد فورد یا بیوره افزوده و محلول آبی رنگ شد. پس از گذشت حداقل ۲۵ دقیقه از شروع

آزمایش جذب نور هر لوله در طول موج ۵۹۵ نانومتر در مقابل شاهد اندازه گیری شد. برای محاسبه غلظت پروتئین کل، از غلظت‌های مختلف سرم آلبومن گاوی منحنی استاندارد تهیه شد و غلظت پروتئین به ازای هر گرم بافت تر محاسبه گردید (۲).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

به منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Pereira و همکارانش در سال ۲۰۰۲ استفاده شد. بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با مطالعه تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر تریس ۵۰ میلی مولار یا بافر فسفات پتاسیم pH ۷/۵، ۱۰۰ میلی مولار و آب اکسیژنه ۲۵ میلی مولار می‌باشد. فرآیند با افزودن ۰/۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی پروتئینی به مخلوط واکنش آغاز شد. بلافاصله پس از افزودن عصاره آنزیمی به مخلوط فرآیند، کاهش جذب در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه بوسیله اسپکتروفتومتر ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد (Unit μg^{-1} Pr.) محاسبه گردید (۲۲).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

به منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Mac-Adam and Nelson در سال ۱۹۹۲ استفاده شد. ابتدا لوله‌های آزمایش را در یخ قرار داده و به هر کدام ۴ میلی لیتر بافر استات ۰/۴ مولار با pH ۵، ۴/۰ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین ۲٪ در متانول ۵۰٪ افزوده شد و در نهایت ۰/۲ میلی لیتر از عصاره آنزیمی پروتئینی به هر لوله افزوده شد و تغییرات جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد و در نهایت میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد (Unit μg^{-1} Pr.) محاسبه گردید (۱۷).

تحلیل آماری

بررسی‌های آماری بر اساس آنالیز واریانس یک عاملی توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۵ در سطح احتمال $P < 0/05$ صورت گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

نتایج مربوط به سنجش کربوهیدرات‌های برگ

در پژوهش مربوطه در تیمار صفر کمترین میزان و در تیمار ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم بیشترین میزان برای کربوهیدرات مشاهده گردید. به طوری که میزان کربوهیدرات در نمونه شاهد از ۰/۰۳۷ به ۰/۵۰۱ میلی گرم بر گرم در واحد وزن تر در تیمار ۷۵۰ میکرو مولار رسید که از غلظت صفر به غلظت ۷۵۰ میکرو مولار باعث افزایش کربوهیدرات شده است. افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در غلظت‌های ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰ و ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم نسبت به محتوای کربوهیدرات‌ها در گروه شاهد معنی دار بوده است (نمودار ۱).

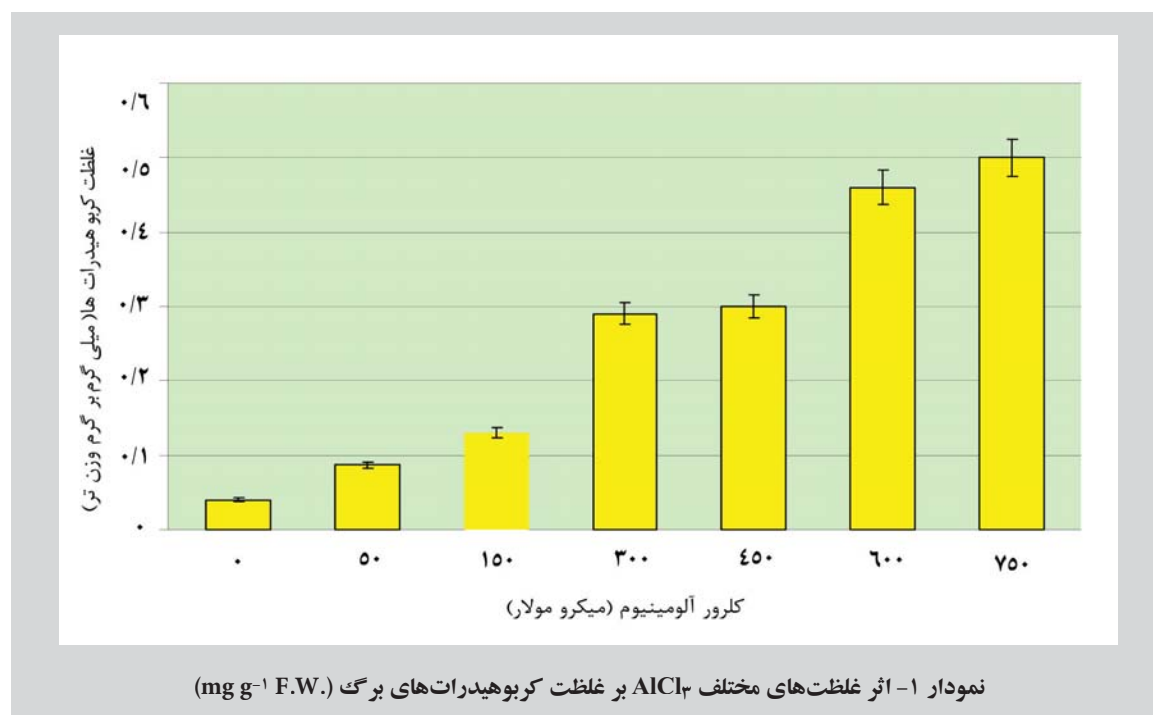
نتایج مربوط به سنجش پروتئین‌ها

در پژوهش مربوطه در تیمار صفر کمترین میزان و در تیمار ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم بیشترین میزان برای پروتئین‌ها مشاهده گردید. به طوری که میزان پروتئین‌ها در نمونه شاهد ۴۰۱/۲۵ میکرو گرم بر گرم و در تیمار ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم ۹۷۰ میکرو گرم بر گرم وزن تر بدست آمد. بنابراین با افزایش غلظت

کلرور آلومینیوم میزان پروتئین افزایش یافت. افزایش میزان پروتئین‌ها در غلظت‌های ۵۰، ۱۵۰، ۴۵۰، ۶۰۰ و ۷۵۰ میکرو مولار نسبت به محتوای پروتئین‌ها در گروه شاهد معنی دار است (نمودار ۲).

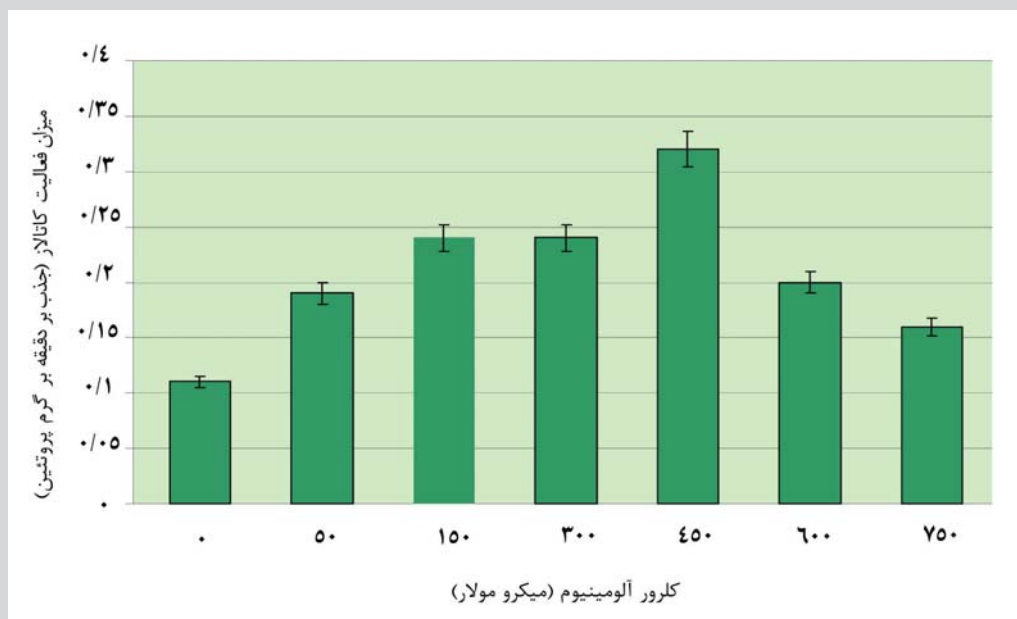
نتایج مربوط به سنجش آنزیم کاتالاز

در پژوهش مربوطه در گیاهان، کنترل فعالیت آنزیم کاتالاز کمترین میزان و در تیمار ۴۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم بیشترین میزان برای فعالیت کاتالاز مشاهده گردید. به طوری که میزان فعالیت کاتالاز در نمونه شاهد از ۰/۱۱ به ۰/۳۱ تغییرات جذب بر دقیقه بر گرم پروتئین در تیمار ۴۵۰ میکرو مولار رسید که از غلظت صفر به غلظت ۴۵۰ میکرو مولار باعث افزایش فعالیت کاتالاز شده است و از غلظت‌های ۶۰۰ تا ۷۵۰ میکرو مولار نسبت به غلظت ۴۵۰ میکرو مولار روند کاهشی داشته است که کاهش فعالیت کاتالاز در غلظت ۷۵۰ میکرو مولار نسبت به فعالیت کاتالاز در غلظت ۴۵۰ میکرو مولار معنی دار بوده است. فعالیت کاتالاز در تیمارهای ۶۰۰ و ۷۵۰ میکرو مولار نسبت به تیمار شاهد بیشتر است که این روند افزایشی معنی دار نمی‌باشد (نمودار ۴).





نمودار ۲- اثر غلظت‌های مختلف $AlCl_3$ بر میزان پروتئین برگ‌ها ($\mu g g^{-1} F.W.$)



نمودار ۳- اثر غلظت‌های مختلف $AlCl_3$ بر فعالیت آنزیم کاتالاز ($Unit \mu g^{-1} Pr.$)

میکرو مولار کلرور آلومینیوم نسبت به تیمار ۵۰ میکرو مولار افزایش یافت ولی این افزایش نسبت به تیمار صفر هنوز کمتر است و از تیمار ۳۰۰ تا تیمار ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم، فعالیت آنزیم پراکسیداز روندی افزایشی پیدا کرده که این افزایش نسبت به تیمار صفر

نتایج مربوط به سنجش آنزیم پراکسیداز در پژوهش مربوطه در تیمار ۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم کمترین فعالیت پراکسیداز و در تیمار ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم بیشترین فعالیت پراکسیداز مشاهده گردید. میزان فعالیت پراکسیداز در غلظت ۱۵۰

و نگهداری پتانسیل اسمزی تحت تنش آلومینیوم می‌باشد در واقع کاهش پتانسیل آب، موجب تجمع و افزایش میزان قندهای محلول می‌شود. تجمع کربوهیدرات‌ها در حفظ غشای سلولی و تنظیم اسمزی موثر می‌باشد (۲۶).

تأثیر کلرور آلومینیوم بر میزان پروتئین برگ

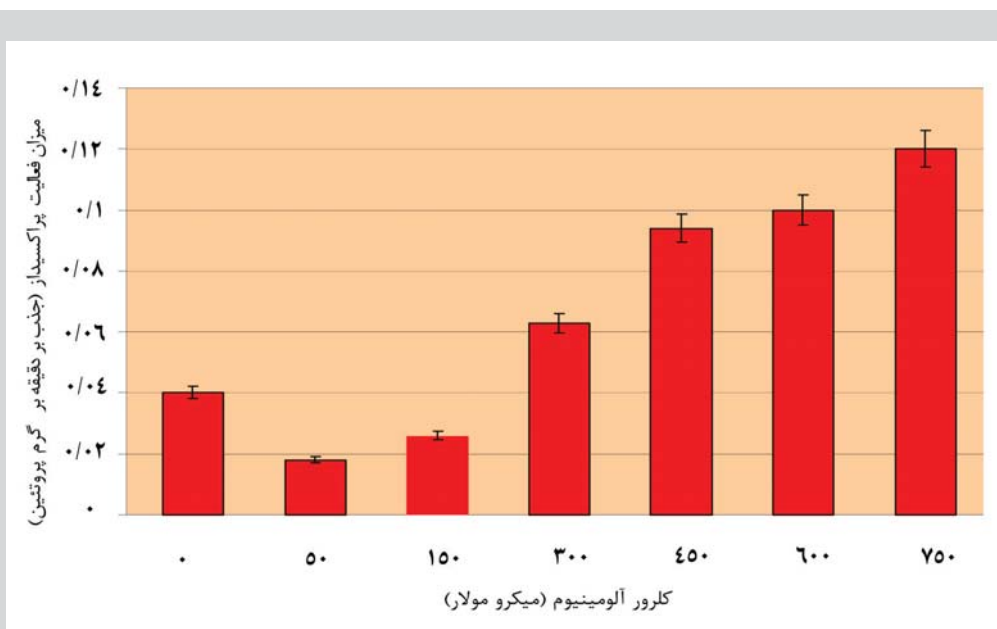
در اندام گیاهی تحت تنش عناصر سنگین محتوای پروتئین موجود در گیاه افزایش می‌گردد. محل تجمع بیشتر پروتئین‌ها در اندام‌هایی است که تحت تأثیر مستقیم عناصر سنگین قرار گرفته اند. اگر عناصر سنگین به صورت باران اسیدی سطح برگ گیاهان را تحت تأثیر قرار دهند، تجمع پروتئین در اندام هوایی بیش از ریشه خواهد بود. افزایش میزان پروتئین حتی در غلظت بالای آلومینیوم به دلیل تشکیل کمپلکس‌های پایدار پروتئین - فلز در سیتوزول می‌باشد. فیتو کلاتین‌ها سبب مقاومت به فلزات سنگین در گیاهان از قبیل آلومینیوم می‌شوند. آلومینیوم تمایل بالایی برای پیوند شدن به فسفات یا گروه کربوکسیل در تشکیلات سلولی مثل پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه نسبت به گروه تیول مخصوصاً کلاتین‌ها دارد (۸). پروتئین‌هایی نظیر متالوتیونین‌ها و فیتو کلاتین‌ها

نیز معنی دار می‌باشد. افزایش فعالیت پراکسیداز در غلظت ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم نسبت به فعالیت پراکسیداز در غلظت صفر معنی دار می‌باشد (نمودار ۴).

بحث و نتیجه گیری

تأثیر کلرور آلومینیوم بر مقدار کربوهیدرات‌های برگ

در گیاه لوبیا تحت تأثیر تنش کلرور آلومینیوم میزان قندهای محلول در برگ‌ها افزایش می‌یابد. در این آزمایش در غلظت‌های بالاتر نسبت به تیمار شاهد میزان کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها افزایش می‌یابد و در گیاه برنج (*Oryza sativa L.*) نیز با افزایش آلومینیوم میزان کربوهیدرات‌ها افزایش می‌یابد. در واقع با افزایش غلظت آلومینیوم، میزان تعادل آب درون سلول دچار مشکل شده و در نتیجه تغییرات فرا ساختاری در اندامک‌های سلولی از قبیل تونوپلاست و آنزیم‌های مسیر متابولیسم قندها ایجاد می‌شود و با افزایش غلظت آلومینیوم میزان فعالیت آنزیم اینورتاز کاهش می‌یابد (۲۳). به دنبال کاهش میزان انتقال آب به برگ‌ها و تجمع این عنصر سنگین در سلول، میزان کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها افزایش می‌یابد. در واقع این یک نوع مکانیسم تطابقی و سازگار یافته برای حفظ



نمودار ۴- اثر غلظت‌های مختلف $AlCl_3$ بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (Pr) (Unit $\mu g^{-1} Pr$)

تیمار ۴۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم حالت افزایشی مشاهده می‌شود ولی در دو غلظت بالاتر یعنی ۶۰۰ و ۷۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم حالت کاهش‌ی نسبت به سایر تیمارهای آلومینیوم ولی حالت افزایشی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شده است. یعنی در غلظت‌های بالاتر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافته و توانایی کمتری برای تجزیه (H_2O_2) در آن مشاهده می‌گردد. کاهش در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز حتی تحت تنش‌های محیطی از قبیل شوری، خشکی، دمای بالا، تنش، پرتوهای مضر خورشیدی، سرما، فلزات سنگین نیز مشاهده شده است که بدلیل ممانعت از سنتز آنزیم یا تغییر در تجمع زیر واحدهای این آنزیم می‌باشد (۱۳).

تأثیر کلرور آلومینیوم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز

در برگ

جهت محافظت بر علیه سمیت فلز در گیاهان تصور می‌شود که از طریق یک تعدادی از ساز و کارها از قبیل کنترل جذب، سمیت‌زدایی توسط فیتو کلاتین‌ها یا کلاته شدن توسط اسیدهای آلی یا اسیدهای آمینه صورت گیرد. در غیر این صورت آسیب بافتی القا شده توسط فلز، سطوح افزایش یافته پراکسیداسیون لیپید، تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و سطوح بالای آنتی‌اکسیدانت مشاهده خواهد شد (۳). آنزیم‌ها حساس‌ترین شاخص برای سازش و پاسخ گیاهان تحت عوامل تنش‌زا به خصوص عناصر سنگین هستند. در میان اثرات زیادی که فلزات سمی بر گیاهان دارند تولید ROS ایجاد شده توسط فلز شناخته شده که تعدادی از فرآیندهای سلولی را مختل می‌کند. برای دفاع بر علیه تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاه فعالیت آنزیم‌هایی از قبیل سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز، گلوکاتایون S- ترانسفراز و کاتالاز افزایش می‌یابد. از آن جایی که آنزیم پراکسیداز مرتبط با تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد، آلومینیوم افزایش واکنش‌های رادیکال آزاد را موجب می‌شود. بنابر این تعدیل و تنظیم اجزاء سطوح آنتی‌اکسیدانت یک پاسخ

ممکن است نقشی در مقاومت به آلومینیوم ایفا کنند. در این آزمایش در غلظت‌های بالاتر تحت تیمار کلروآلومینیوم افزایش سنتز پروتئین در برگ‌ها نسبت به تیمار شاهد مشاهده می‌گردد، که این روند افزایشی بدلیل سنتز افزایش یافته پروتئین یا کاهش فرایندهای کاتابولیکی صورت می‌گیرد. فسفریلاسیون پروتئین نقش مهمی در تنظیم فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف در گیاهان بازی می‌کند. باز دارنده‌های مختلف از فسفریلاسیون یا دفسفریلاسیون پروتئین سبب ممانعت از جریان و انتقال مالات تحت تیمار آلومینیوم در گیاه برنج (*Oryza sativa L.*) می‌شود که با فسفریلاسیون پروتئین آمیزش یافته است که این عمل با یک کانال مخصوص آنیونی یا توسط یک پروتئین کیناز همراه می‌باشد (۲۰).

تأثیر کلرور آلومینیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

در برگ

در محیط، گیاهان تحت تنش‌های زیستی و غیر زیستی قرار می‌گیرند. یک پاسخ مهم به تنش توسط سلول‌های هوازی تولید ROS است که یک نمونه از آن (H_2O_2) می‌باشد. این اشکال ROS در سلول تولید می‌شوند و مسمومیت آن‌ها توسط هر دو نوع سیستم آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیر آنزیمی رفع می‌گردد (۷). فعالیت کاتالاز در برابر تنش‌های اکسیداتیو تحت تأثیر فلزات سنگین در گیاهان دارای مکانیسم دفاعی افزایش می‌یابد. کاتالاز به همراه پراکسیداز مرحله بعدی سم‌زدایی از رادیکال‌های آزاد سمی اکسیژن ROS را به عهده دارد. کاتالاز سبب تجزیه آب اکسیژنه (H_2O_2) در گیاهان می‌شود. حذف مقادیر اضافی و دخالت در تنظیم ظرفیت مقادیر مناسب از (H_2O_2) سلولی به عهده دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد ولی آنزیم کاتالاز در این عملکرد نقش موثری را ایفا می‌کند (۲۹). کاتالاز دارای گروه هم (Heme) می‌باشد و فرایند تبدیل (H_2O_2) به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند. کاتالازهای گیاهی بیشتر در پراکسی زوم‌ها و گلی‌اکسی زوم‌ها جای گرفته‌اند. در این آزمایش از تیمار شاهد تا

سلول‌های برگ می‌باشد. افزایش میزان فعالیت پراکسیداز بدلیل افزایش فلز سنگین در سلول است که یک نقش کلیدی مهم در مکانیسم دفاع سلولی در برابر سمیت فلز می‌باشد و یک واکنش عمومی گیاهان نسبت به تنش فلز، تولید پراکسیداز است و فعالیت پراکسیداز ارتباط نزدیکی با تغییرات در فرایندهای فیزیولوژیکی مثل تنفس، فتوسنتز و تعرق از خود نشان می‌دهد (۲۹).

منابع

1. Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil.*, 39: 205-207.
2. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annal.Bioch.*, 72: 225-260.
3. Briat, J.F and Lebrun, M. (1999). Plant responses to metal toxicity. *Critical Rev. the Academy ssci.*, 322: 43-54.
4. Ciat and Cali.(1999). Bean improvement for sustainable productivity, inpuuse efficiency, and poverty alleviation. *Ann. Report of the project IP.*, 1: 14-23.
5. Cumming, J.R., Eckert, R.T. and Evans, L.S. (1985). Effect of aluminium on potassium uptake by red spruce seedlings, *Can. J. Bot.*, 63: 1099-1103.
6. Elstner, E. F. (1982). Oxygen activation and oxygen toxicity. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 33: 78-96.
7. Faquin, V., Malavolta, E. and Murakua, T. (1990). Cinética da absorção defosfato em soja sob influência de micorriza vesículo-arbuscular. *Revista Brasileira de Ciência do Solo.*, 14: 41-48.
8. Foy, C.D., Chaney, R.L. and White, M.C. (1978). The physiology of metal toxicity in

سازشی مهم برای مقاوم کردن به شرایط تنش زا می‌باشد (۱۰). افزایش فعالیت پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه سویا تحت تنش آلومینیوم مشاهده شده است. در این آزمایش در غلظت‌های ۵۰ و ۱۵۰ میکرو مولار کلرور آلومینیوم نسبت به تیمار شاهد حالت کاهش ولی در غلظت‌های بالاتر حالت افزایشی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شده است که به دلیل افزایش فعالیت پراکسیداز در

- plants, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 29: 511-566.
9. Foy, C.D. and Fleming, A.L. (1982). Aluminium tolerance of two wheat cultivars related to nitrate reductase activities. *J. Plant Nutr.*, 5: 1313-1333.
 10. Foyer, C.H., Lopez-Oelgado, L., Dat, J.F. and Scott, I.M. (1997). Hydrogen peroxide and glutation associated mechanism of asslimatory stress tolerance and signaling. *Physiol. Plant* .,100: 241-254.
 11. Frantzios, G., Galatis, B. and Apostolakis, P. (2000).Aluminium effects on microtubule organisation individing root-tip cells of *Triticum turgidum*. I. Mitoticcells, *New Phytol.*, 145: 211-224.
 12. Furlani, R.R., and Clark, R.B. (1981). Screening Sorghum foraluminium tolerance in nutrient solution, *Agron. J.*, 73: 587-594.
 13. Kavita, S., Ritambhara, G.K., Shalini, V. and Dubey, R.S. (2001). Effect of cadmium on lipid peroxidasion ,superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings.*Plant Sic.*
 14. Lance, J.C., and Pearson, R.W. (1969). Effect of low concentrations of aluminium on growth and water and nutrient uptake by cotton roots, *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 33: 95-98.
 15. Ma, J.F. (2000). Role of organic acids in detoxification of aluminiuhigher plants. *Plant*

Cell Physiol., 41: 383–390.

16. Ma, J.F, Zheng, S.J., Matsumoto, H. and Hiradate, S. (1997a). Detoxifying aluminum with buckwheat. *Nature.*, 390: 569-570.

17. Macadam, J. W. R., and Nelson, C. J. (1992). Peroxidase activity in the leaf enlargement of detached radish cotyledons. *Plant physiology.*, 73: 304-308.

18. Miyasaka, S.C., Buta, J.G., Howell, R.K. and Foy, C.D. (1991). Mechanism of aluminium tolerance in snapbeans. Root exudation of citric acid. *Plant Physiol.*, 96: 737–743.

19. Nosko, P., Brassard, P., Kramer, J.R. and Kershaw, A. (1988). The effect of aluminium on seed germination and early seedling establishment growth and respiration of white spruce (*Picea glauca*), *Can. J. Bot.*, 66: 2305–2310.

20. Osawa, H. & Matsumoto, H. (2001). Possible involvement of protein phosphorylation in aluminium-responsive malate efflux from wheat root apex. *Plant Physiol.*, 126: 411-420.

21. Pan, J.W., Zhu, M.Y. and Chen, H. (2001). Aluminum-induced cell death in root tip cells of barley. *Environ. Exp. Bot.*, 46: 71-79.

22. Pereira, G.J.G, Molina, S.M.G., Lea, P.J. and Azevedo, R.A. (2002). Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *C. jun-*

cea. *Plant Soi.*, 1239: 123-132.

23. Prasad, M.N.N. (1995). Cadmium Toxicity and tolerance in vascular Plants. *Environ. Exp. Bot.*, 35: 525-545.

24. Rout, G., Samantaray, S. and Das, P. (2001). Aluminium toxicity in plants: a review. *Agronomie.*, 21: 3-21.

25. Ryan, P.R., DiTomaso, J.M. and Kochian, L.V. (1993). Aluminium toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *Bot.*, 44: 437–446.

26. Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A. and Tokud, S. (2004). Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. *Sci. Horticulture.*, 101: 349-357.

27. Schubert, S. and Yan, F. (1997). Nitrate and ammonium nutrition of plants: effects on acid/base balance and adaptation of root cell plasmalemma H^+ -ATPase. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.*, 160: 275–281.

28. Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 195: 19-29.

29. Van, F. and Clijsters, H. (1990). Biotechnology for the production of secondary metabolites. *Plant Cell. Environ.*, 13: 195-206.

