

تأثیر برهمکنش کروم و اسیدسیتریک بر برخی از شاخص‌های رشد فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در ارقام D81083 و درخشان در گیاه لویا (*Phasaeolus vulgaris L.*)

پری شریفی^{۱*}، فرانسواز برنارد^۲، حمیدرضا قاسمپور^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

۲- دانشیار، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

۳- استادیار، دانشکده علوم پایه، دانشگاه رازی

چکیده

کروم یک فلز سنگین سمی برای محیط زیست محسوب می‌شود که به علت استفاده‌های وسیع صنعتی به یک آلاینده جدی محیط تبدیل شده است. غلظت بالای کروم به عنوان عاملی تنش‌زا برای گیاهان به شمار می‌رود. این تحقیق با هدف بررسی اثر اسیدسیتریک بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بر روی گیاه لویا *phasaeolus vulgaris* ارقام D81083 و درخشان رقم لویا در شرایط تنش کروم انجام شد. پس از ۱۰ روز از زمان کاشت تحت تیمار ۶۰ میلی‌گرم در لیتر کروم و ۱۰ میلی‌گرم اسیدسیتریک و هم-چنین اثر متقابل این دو تحت تیمارهای جداگانه بر روی گیاه بررسی شد. تیمار کروم باعث کاهش وزن تر ریشه و ساقه گردید. کاهش مقدار کاروتنوئید و افزایش مقدار PAL مشاهده گردید. تیمار اسیدسیتریک سبب افزایش میزان رشد و افزایش مقدار کاروتنوئید و بر مقدار فنیل آلانین آمونیلاز اثر قابل ملاحظه‌ای نداشت، در حالی که اثر متقابل هر دو فاکتور باعث کاهش رشد نسبت به کنترل گردید اما نسبت به تیمار کروم بهبود رشد مشاهده گردید. مقایسه دو رقم گیاه نشان داد که در کل گیاه درخشان در مقابل تنش حاصل از فلز سنگین مقاوم‌تر است.

کلمات کلیدی: اسیدسیتریک، کاروتنوئید، PAL، درخشان، D81083، کروم

مقدمه

فلزات سنگین از جمله کروم از آلاینده‌های مهم برای محیط محسوب می‌شوند و بسیاری از آن‌ها حتی در غلظت‌های بسیار کم، سمی هستند (Chen et al., 2001). در سال‌های اخیر استفاده از گیاه‌پالایی برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده استفاده می‌شود. در این روش از گیاهان بیش‌انباشتگر فلز استفاده می‌شود. کلاتورها به طور مؤثر حلالیت فلزات را در خاک و به دنبال آن جذب آن‌ها را توسط گیاهان افزایش می‌دهند (Romkens et al., 2002). با توجه به این که توانمندی گیاه لویبا نسبت به انباشت کروم ثابت شده است توانایی مقاومت و انباشت کروم و اثر کلاتور اسیدسیتریک به طور همزمان و نیز تأثیر این عنصر بر تعدادی از پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در دو رقم لویبا در این پژوهش بررسی شد. در کشت گلدانی نمونه‌های گیاهی (ارقام درخشان و D81083 گیاه لویبا) به صورت همزمان بعد از ده روز با کروم و کلاتور اسیدسیتریک تیمار شدند و بعد از سه هفته از آغاز تیمار با کروم برداشت شدند و پارامترهای مختلف بر آن‌ها اندازه‌گیری شد.

مواد و روش‌ها: بذر گیاه لویبا (*Phasaeolus vulgaris*) از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی تهیه گردید. ابتدا بذر گیاه را با سدیم هیپوهیپوکلریت ۳٪ به مدت ۱۲ دقیقه ضدعفونی کرده سپس ۶ بار با آب مقطر شستشو شدند در هر یک از گلدان‌های پلاستیکی تعداد ۷ بذر کاشته شد، ترکیب گلدان‌ها حاوی کود برگ، خاک و ماسه به مقدار مساوی بود. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای قرار داده شدند. گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار آبیاری شدند. گیاهچه‌های ده روزه در گلدان‌ها که تیمارهای مختلف (Cr ۶۰ mg/L) به صورت دی‌کرومات پتاسیم، کلاتور اسید سیتریک (۱۰ mg/L) و تیمار همزمان کروم کلاتور به آن‌ها داده شد. گیاهان مورد نظر پس از سه هفته به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی برداشت شدند. برای اندازه‌گیری وزن تر گیاهان ابتدا اندام هوایی هر گیاه از ریشه جدا شده و وزن تر هر یک از گیاهان با ترازوی Sartorius مدل BPSIID با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. برای تعیین محتوای کاروتنوئید به روش (Arnon., 1949) اندازه‌گیری شد. برای بررسی فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) با تغییراتی از روش Tanaka و همکارانش (1974) استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مراحل مختلف این تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد. و برای مقایسه میانگین‌ها بر پارامترهای مورد بررسی از آزمون دانکن استفاده شد. نمودارها توسط نرم افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج

وزن تر ریشه گیاه لویبا در هر دو رقم در گیاهان تحت تیمار کروم و کروم-کیلات کاهش رشد معنی‌دار نسبت به کنترل مشاهده می‌شود. در تیمار کیلات افزایش رشد معنی‌دار دیده شد. در تیمار کروم-افزایش معنی‌دار رشد نسبت به کروم مشاهده نشد. رشد طولی ساقه گیاه لویبا در هر دو رقم تحت تیمار کروم و کروم-کیلات کاهش رشد معنی‌دار نسبت به کنترل مشاهده می‌شود. در تیمار کیلات افزایش رشد معنی‌دار دیده شد. در تیمار کروم-کیلات افزایش معنی‌دار رشد نسبت به کروم مشاهده نشد. بر اساس نتایج به دست آمده مقدار کاروتنوئید در هر دو رقم در تیمار کروم و کروم-کیلات نسبت به شاهد کاهش یافته است تیمار کیلات باعث افزایش مقدار کاروتنوئید نسبت به شاهد شده است از طرفی کاهش رشد معنی‌دار در تیمار کروم و کروم-کیلات نسبت به شاهد مشاهده شد. نتایج حاصل نشان داد که اثر تیمارها بر مقدار فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) در ریشه گیاه هر دو رقم معنی‌دار می‌باشد. مقدار فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) در تیمار کروم نسبت به شاهد افزایش یافته است در تیمار کیلات تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد در

تیمار کروم-کیلات اختلاف معنی دار نسبت به شاهد مشاهده شد، مقدار فنیل آلانین آمونیا لاز (PAL) در تیمار کروم - کیلات نسبت به کروم افزایش معنی داری دیده نشد. نتایج حاصل نشان داد که اثر تیمارها بر مقدار فنیل آلانین آمونیا لاز (PAL) ساقه در هر دو رقم معنی دار می باشد. مقدار فنیل آلانین آمونیا لاز (PAL) در تیمار کروم نسبت به شاهد افزایش یافته است در تیمار کیلات تفاوت معنی داری نسبت به شاهد مشاهده نشد در تیمار کروم-کیلات اختلاف معنی دار نسبت به شاهد مشاهده شد، مقدار فنیل آلانین آمونیا لاز (PAL) در تیمار کروم - کیلات نسبت به کروم افزایش معنی داری دیده نشد

بحث

شاخص های رشد ریشه و ساقه تحت اثر کروم: به نظر می رسد که سیستم ریشه ای اولین جایی است که تحت تأثیر فلز سنگین کروم قرار می گیرد. کاهش رشد ریشه ها که با کاهش طول و وزن خشک آن مشخص می شود، منجر به عدم توسعه و گسترش مناسب سیستم ریشه ای شده، با کاهش سطوح جذب کننده و تغییر در ساختار غشای سلولی، جذب آب کاهش یافته، محتوای آب گیاه افت می کند که این امر بر فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر تعرق، تنفس و فتوسنتز اثر کرده نهایتاً موجب کاهش رشد در سایر بخش های گیاه خواهد شد. از طرفی گزارش شده است که تیمار کروم موجب کاهش جذب و تثبیت نیترات می شود (Sanita et al., 2002; Sharma et al., 1995). کروم با ممانعت از فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز موجب کاهش احیا و تثبیت ازت جذب شده به فرم نیترات و در نتیجه باعث کاهش ورود آن به ترکیبات آلی نظیر انواع اسیدهای آمینه و پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک می گردد. از آنجا که ازت یک عنصر مرکزی و ضروری در ساختار بسیاری از مولکول های زیستی است، هر گونه تغییر در محتوای آن می تواند به شدت مانع از رشد گیاه شود (Shi-rong, T. and X. Lei., 2002; Vajpayee et al., 1999). اثر بهبودی کیلات کننده هایی چون سالیسیلیک اسید بر رشد گیاهان تحت تنش غیرزیستی می تواند به نقش آن در جذب مواد غذایی، ارتباط آبی، تنظیم روزنه ای، نرخ فتوسنتز و مقدار کلروفیل باشد (Noreen and Ashraf., 2008). که در توافق با نتایج به دست آمده از این تحقیق است. کاهش وزن تر ریشه چه و ساقه چه در تیمار کروم و کروم کیلات در هر دو رقم مشاهده شد و افزایش رشد در تیمار کیلات در هر دو رقم نسبت به شاهد مقایسه شد. مقایسه اثر کروم روی وزن تر و خشک ریشه چه و ساقه چه هر دو رقم نشان می دهد که کاهش رشد در رقم D81083 بیشتر است. کاهش مقدار کاروتنوئید در اثر تیمار کروم در هر دو رقم مشاهده شد، افزایش مقدار رنگیزه در هر دو رقم در تیمار کیلات مشاهده گردید، از طرفی افزایش مقدار کاروتنوئید در تیمار کروم - کیلات نسبت به شاهد مشاهده گردید اما این افزایش معنی دار نبود. مقایسه اثر کروم روی مقدار کاروتنوئید در هر دو رقم نشان می دهد که کاهش کاروتنوئید در رقم درخشان بیشتر است. وجود کروم در سلول های برگ باعث کاهش میزان کاروتنوئیدها می شود، کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو القاء شده دارند و به همین دلیل از بین می روند. این رنگیزه ها در سمیت زدایی کلروفیل نقش دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال های آزاد می شوند (Sanitata & Gabbrielli., 1999). که در توافق با نتایج به دست آمده از این تحقیق است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار کروم موجب افزایش فنیل آلانین آمونیا لاز در ریشه و ساقه گیاه لویا می شود، افزایش (PAL) در تیمار کیلات نسبت به شاهد مشاهده شد اما این افزایش معنی دار نبود، از طرفی افزایش مقدار (PAL) در تیمار کروم - کیلات نسبت به کروم مشاهده شد، مقایسه اثر کروم روی مقدار (PAL) در هر دو رقم نشان می دهد که در ریشه افزایش (PAL) در رقم D81083 بیشتر است در حالی که در ساقه افزایش PAL در

رقم درخشان بیشتر است. تجمع ترکیب‌های فنلی در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی متعددی گزارش شده است. این ترکیب‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند که با سازوکارهای متعددی مثل خوردگی رادیکال آزاد، دادن هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی و یا قرار گرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. هم‌چنین پلی-فنل‌ها در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن بسیار اهمیت دارند (Chu & Park., 2000). فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز، آنزیمی کلیدی در متابولیسم فنیل پروپانوئیدهاست که تبدیل L- فنیل‌آلانین به ترانس- سینامیک‌اسید، اولین مرحله در متابولیسم فنولیک‌ها را انجام می‌دهد. این مرحله یک واکنش بیوشیمیایی کلیدی در نمو و دفاع گیاهان به شمار می‌رود (Chang et al., 2008). افزایش فعالیت آنزیم PAL در بسیاری از تنش‌ها گزارش شده است (Dixon & Paira., 1995). در گیاه بابونه تحت تنش کادمیم و مس افزایش فعالیت PAL گزارش شده است (Kovacic & Backor., 2007). که در توافق با نتایج به دست آمده از این تحقیق است.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان گفت که فلز کروم در غلظت‌های بالا به عنوان مهار کننده رشد عمل کرده، سبب بروز اثرات سمی بر گیاه لویا می‌شود. از اثرات بارز سمی کروم بر هر دو رقم کاهش وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه اشاره کرد. غلظت بالای کروم متابولیسم را مختل کرده و با القای تنش اکسیداتیو، میزان رادیکال‌های آزاد را به حدی افزایش داده که بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه غلبه نموده، باعث کاهش مقدار کاروتنوئید در هر دو رقم می‌شود. تجمع ترکیب‌های فنلی در هر دو رقم تحت استرس کروم مشاهده گردید. استفاده از کلاتور اسید سیتریک همراه با کروم تا حدودی باعث تعدیل اثرات فلز سنگین شد که به علت غلظت بالای کروم تفاوت معنی‌داری با تیمار کروم مشاهده نشد. بررسی اثرات هر سه تیمار نسبت به شاهد نشان داد که در اغلب موارد مقاومت رقم درخشان در آن نسبت به رقم D81083 بیش تر بود.

منابع

- Arnon D.T 1949. C0pper enzymes in islated chloroplast oxidase in Beta vulgaris. Plant Physiol.24:1-15.
- Chang, A., Lim, M. H., Lee, S. W., Robb, E. J. and Nazar, R. N. (2008) Tomato PAL gene family: highly redundant but strongly underutilized. Journal of Biology and Chemistry 283: 33591-33601.
- Chen H., Cutright T. (2001) EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr and Ni uptake by Helianthus annuus. Chemosphere. 45 (1): 21-28.
- Chu, Y.H., Chang, C.L. and Hsu, H.F., 2000. Flavonoid content of several vegetable and their antioxidant activity. Journal of Sciences of Food and Agriculture, 80(5): 561-566.
- Costa, M., Civell, P. M., Chaves, A. R. and Martinez, G. A. (2005) Effects of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (Brassica oleracea L.) at 20°C. Post harvest Biology and Technology 35: 191-199.
- Dixon, R.A. and Paira, N.L., 1995. Stress induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell, 7(7): 1085-1097.
- Kovacic, J. and Backor, M., 2007. Phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds in chamomile tolerance to cadmium and copper excess. Water, Air, and Soil Pollution, 185: 185-193.
- Noreen, S. and Ashraf, M. (2008) Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (Helianthus annuus L.) by exogenous application of salicylic acid: growth and photosynthesis. Pakistan Journal of Botany 40(4): 1657-1663.

Römkens Paul, Lucas Bouwman, Jan Japenga, Cathrina Draaisma (2002) Potentials and drawback of chelate-enhanced phytoremediation of soils, *Environmental Pollution*, 116 (1): 109-121 .

Sanita L., Fossati., Musetti R., Mikerezi I., Favali M. A. 2002. Effect of hexavalent chromium on maize and cauliflower Plants. *Journal of Plant Nutrition*. 25(4): 701-717.

Sanitata, L. Gabriella, R., 1999. Response to Cd in higher plants—Review *Envi Exp Bot* 45: 105-130.

Sharma, D.C., C. Chatterjee and C.P. Sharma, (1995), Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism. *Plant Science* 111:145-151.

Shi- rong, T. and X Lei, (2002), Accumulation of chromium by *Commelina communis* L.grown in solution with different concentrations of Cr and L-histidine. *Journal of Zhejiang University Science* 3(2):332-236.

Vajpayee, P., Sc.Sharma, R.D. Tripathi, U.N.Rai and M. Yunus, (1999), Bioaccumulation of chromium and toxicity to Photosynthetic Pigments, nitrate reductase activity and Protein content of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *Chemosphere* 39(12):2159-2169.