Archive of SID

بررسی اثر سرب و مس بر محتوای کلروفیل، غشاء لیپیدی، محتوی آب نسبی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گونه گیاهی خلر(*Lathyrus sativus*)

سیده مهتاب بلادی[۱*]، داود حبیبی[۲]، علی کاشانی[۳]، فرزاد پاک نژاد[۲] و محیا گلشن[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج؛ s_mahtab_beladi@yahoo.com

۲- استادیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

۳- استاد دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

چکیده

بعضی از گونه های گیاهی از قابلیت مقاومت دربرابر شرایط تنش محیطی برخوردار بوده، به طوری که با مکانیزم عمل خود مانع از تولید بیشتر اکسیژن های رادیکال آزاد شده و یا با اکسیژن های رادیکال آزاد تولیدی مقابله میکنند.از آنجایی که اولین گام در اجرای استراتژی های گیاه پالایی شناسایی گونه های گیاهی است که قادر به مقاومت در برابر فلزات سنگین می باشد، این تحقیق به منظور بررسی اثرات سرب و مس بر روی گونه گیاهی خلر در خاک های آلوده به این عناصر صورت پذیرفت. بر این اساس به منظوربرآورد و شناسایی توانایی گیاه خلر نسبت به عناصر سنگین سرب و مس آزمایشی در پاییز ۱۳۸۷ برروی خلر رقم زنجان با نام علمی (*Lathyrus sativus*) انجام شد. در این راستا از چهار غلظت سرب ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و چهار غلظت مس ۰، ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک که به ترتیب نمک هر یک از آنها حاوی نیترات و سولفات بود، در قالب آزمایش فاکتوریل به صورت طرح کاملاً تصادفی و در ۴ تکرار استفاده شد که در این راستا به بررسی اثرات این آلاینده ها بر برخی از صفات فیزیولوژی گیاه مورد مطالعه پرداختیم. اگرچه نتایج آزمایش حاکی از افت محتوی کلروفیل کل و غشاء لیپیدی تحت سمیت عناصر سنگین سرب و مس بود اما فعالیت بیشتر آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) با افزایش سطوح سرب و مس در این گونه گیاهی مانع از تولید بیشتر اکسیژن های رادیکال آزاد تولیدی در این گونه گیاهی شد، به طوری که همبستگی منفی بین محتوی کلروفیل a کلروفیل b و کلروفیل کل با آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) مشاهده شد، همچنین همبستگی بین ظرفیت مالون دی آلدهید (MDA) که وسیله ای برای اندازه گیری فرایند پراکسیداسیون لیپید است با آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) مثبت بود بدین معنی که افزایش ظرفیت این بیومارکر که نشاندهندهء تولید بیشتر اکسیژن برای تخریب غشاء لیپیدی است با فعالیت بیشتر آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) برای هضم و حذف بیشتر اکسیژن های مخرب همراه بود. همچنین وضعیت آب در بافت برگها (RWC) تحت تاثیر این عناصر قرار نگرفت.

واژه های کلیدی: خلر، کلروفیل، مالون دی آلدهید(MDA)، غشاء لیپیدی ،سوپراکسید دیسموتاز(SOD)،آب نسبی(RWC).

مقدمه

فلزات سنگین آلاینده های محیطی مهمی هستند که در خاک وجود دارند به طوری که ممکن است در نتیجه فعالیت های بشری مقادیر این فلزات در نواحی طبیعی و کشاورزی به حد سمی برسد. این عناصر در ایجاد تنش

۱- آدرس نویسنده مسئول: کرج، مهرشهر، بلوار ارم، بلوار آزادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

* دریافت: ۸۹/۱/۳۰ و پذیرش: ۸۹/۵/۳

www.SID.ir

Archive of SID

اکسیدی در گیاهان مشارکت دارند (Groppa et al., 2007)، به این ترتیب که با ایجاد گونه های فعال اکسیژن (ROS) که محصول متابولیسم هوازی اند و شامل ترکیباتی مثل سوپراکسیدها، پراکسید، اکسیژن اتمی و رادیکال های هیدروکسیل می باشند طی واکنش های انتقال الکترون در میتوکندری ها، کلروپلاست ها و پراکسی زوم ها تولید می گردند و در صورتی که غلظت آنها تنظیم نشود می توانند سبب آسیب به پروتیین، غشا و DNA شوند (Davey et al., 2005). برخی از یون ها با ویژگی های شدید ردوکس مانند مس و شاید حتی یون هایی که فاقد این ویژگی ها هستند مانند روی و کادمیوم به عنوان آغاز کننده های پراکسیداسیون لیپید غشا و تحریک کننده های تولید گونه های فعال اکسیژن شناخته شده اند (Sharma et al., 2004). که گفته می شود غلظت اضافی مس به دلیل افزایش گونه های فعال اکسیژن (ROS) در بخش های زیر سلولی موجب افزایش تنش اکسیدی می شود (Khatun et al., 2008). سرب نیز یک عنصر غیر ضروری است که علاوه بر سمیت زیادی که برای انسان دارد اثرات سوئی نیز بر جوانه زنی بذر، رشد گیاه و فرایند فتوسنتز دارد (Lin et al., 2009)، همچنین سرب باعث کاهش طول ریشه، تولید بیومس، جلوگیری از سنتز کلروفیل ۲ و نیز تخریب سلول و آسیب به کروموزوم (Garnczarska and Ratajczak, 2000)، کاهش جذب مواد معدنی و عدم تعادل در آب و تغییر ساختمان و نفوذپذیری غشاء های سلولی می شود(Gomez et al., -Estrella 2009). یکی از مهمترین دلایل کاهش کلروفیل ها تخریب آنها بوسیله گونه های فعال اکسیژن (ROS) می باشد (Navari et al., 1998) پراکسیداسیون لیپید نیز به دلیل فعالیت لیپوکسی ژنازها افزایش می یابد، مالون دی آلدهید (MDA) فراوان ترین محصول حاصل از تجزیه لیپید آلدهیدی به شمار می آید (Davey et al., 2005)، در تحقیق Ali و همکاران (۲۰۰۳) بر گونه Salix acmophylla Bioss اثرات سرب، نیکل و مس بر این گونه گیاهی نشان داد که هر سه فلز مورد مطالعه سبب کاهش ظرفیت کل کلروفیل ۲ بسته به میزان غلظت فلز شدند. اثرات نامطلوب فلزات در این مورد به صورت Pb>Ni>Cu بود، به علاوه کاهش ظرفیت کل کلروفیل با افزایش سطح مالون دی آلدهید (MDA) همراه بود (Ali et al., 2003). بنابراین گیاهانی که در مجاورت تنش Heavy metal قرار دارند اغلب با تنش اکسیداتیو روبرو می شوند (Sharma et al., 2004). گیاهان برای محافظت از خود در مقابل آسیب های ناشی از رادیکال های اکسیژنی دارای یک سیستم آنتی اکسیدان هستند (Groppa et al., 2007). مقاومت گیاهان نسبت به سرب به توانایی آنها در محدود کردن سرب به دیواره های سلولی، سنتز اسمولیت ها و فعالسازی سیستم تدافعی آنتی اکسیدانی مربوط می باشد (Sharma and Dubey, 2007). از آنجایی که مس قادر به کاتالیز کردن و تسریع ایجاد ROS است عناصر و موادی که دارای قابلیت های آنتی اکسیدانی هستند، می توانند از بروز آسیب های اکسیدی ناشی از مس جلوگیری کرده و محافظت به عمل آورند (Gaetke and Chow, 2003). گفته می شود که آنزیم های آنتی اکسیدان، سیستم های تدافعی مهمی برای گیاهان و جهت مقابله با تنش اکسیدی ناشی از فلزات به شمار می آیند(ali et al., 2003). سوپراکسید دیسموتازها (SOD)، عبارت اند از آنزیم های فلزی که عدم تناسب رادیکالهای آزاد سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن کاتالیز می کند و به نظر می رسد که نقش مهمی را در حفاظت از سلولها در مقابل اثرات زیانبخش غیر مستقیم ناشی از این رادیکال ها بر عهده دارند (Luis et al., 1983). البته نرخ تولید(ROS) وابسته به گونه، مدت تنش، سن گیاه و مهمتر از همه شدت تنش می باشد (Navari et al., 1998). از آنجایی که گونه گیاهی خلر (*Lathyrus sativus*) یک گونه از گندمیان یکساله و همه جازی است که از قابلیت مقاومت در برابر شرایط بد رشد برخوردار بوده و به عنوان یکی از منابع ژنی قابل توجه

www.SID.ir

Archive of SID

محسوب می شود و از آنجا که از طریق حفظ تعادل سلولی با کمبود آب مقابله می کند و به طور کلی نسبت به تنش های غیر زنده و حتی زنده مقاومت ایجاد نماید (Brunet et al., 2008) در این تحقیق فرض کردیم که این گونه گیاهی به دلیل برخورداری از مقاومت قادر به مقابله با تنش فلزات سنگین در سطح سلولی در خاک های آلوده به این گونه عناصر است، بنابراین به بررسی میزان فعالیت مهمترین آنزیم آنتی اکسیدانی و برخی از صفات گیاهی و همبستگی بین این صفات پرداخته شده است.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر به صورت یک آزمایش گلخانه ای درپاییز ۱۳۸۷ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام پذیرفت. میزان رطوبت نسبی گلخانه ۶۰ درصد و حداقل وحداکثر درجه حرات به ترتیب برابربا ۱۶ و ۳۲ درجه سانتی گراد بود.در این آزمایش گونه گیاهی خلر (*Lathyrus sativus*) با استفاده از چهار غلظت سرب، ۸۰۰،۴۰۰،۲۰۰،۰وچهار غلظت صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و۴۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک که به ترتیب نمک هر یک از آنها حاوی نیترات وسولفات بود در قالب آزمایش فاکتوریل به صورت کرت کاملا تصادفی ودر ۴ تکرار به منظور بررسی قدرت تحمل فیزیولوژیکی گیاه مورد نظر در خاک های آلوده به سرب و مس مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه برداری از خاک مزرعه از عمق ۰-۳۰ سانتی متری خاک صورت گرفت و سپس به منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد نظر و همچنین وضعیت حاصلخیزی و عوامل محدود کننده، مخصوصاً عناصر سنگین سرب و مس آزمایش خاک انجام شد. بافت خاک مورد آزمایش لومی شنی بوده و میزان شوری خاک برابر ۵/۹۱ m/ds، pH خاک برابر۷/۷ درصد ازت کل۵۴ /۰ میزان مواد آلی۰/۰۶۰٪ میزان سرب ۵/۵ و مس ۰/۸۲ میلی گرم بر کیلوگرم. پس از اطمینان از عدم سمیت خاک به منظور عملیات آماده سازی کلوخه های خاک مورد نظر خرد و سپس از الک ۴ میلی متری عبور داده شد. به منظور بررسی تحمل فیزیولوژیکی، گیاهان مورد مطالعه ،غلظت فلزات سنگین آلاینده، چندین برابر بیشتر از حد مجاز آنها در نظر گرفته شد. بسته های حاوی نیترات سرب (۰ kg/mg ، ۲۰۰ ،۴۰۰، ۸۰۰) و سولفات مس (۰ kg/mg ،۱۵۰ ،۳۰۰، ۴۵۰) به تعداد تکرارها در یک لیتر آب حل شده و خاک با تیمارهایی بیشتر از حد مجاز آلوده شدند سپس به منظور کلاته شدن بیشتر این عناصر با کلوئیدهای خاک و فراهم شدن آلودگی با عناصر، گلدانهای تیمار شده به مدت ۳۰ روز در این وضعیت قرار گرفتند و بعد از این مدت به کاشت اقدام شد.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

جهت محاسبه این فاکتور ۳ عدد برگ از هر برگ فرعی در هنگام صبح برداشت شد. سعی بر آن بود که برگها کاملاً جوان و گسترده باشند برگها داخل نایلون اتیک ت گذاری شده قرار گرفت و در یخدانی که کف آن از یخ پوشیده شده بود قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس توسط روش Misra و همکاران (۱۹۷۲) میزان تغییرات این آنزیم تعیین شد. ابتدا محلول بافر تریس (حاوی فسفات، دی سدیک، pH = ۷/۲) به همراه ۱/۳ میلی مول EDTA و ۰/۱ میلی مول به عنوان سوبسترا استفاده شد، سپس محلول تهیه شده را به آن اضافه کرده، تغییرات جذب نوری حاصله از اکسید اکسیژن اپی نفرین، به عنوان فعالیت آنزیمی ارزیابی شده و از آنزیم استاندارد و خالص جهت استاندارد نمودن نتایج استفاده گردید که واحد آن قادر به اکسیداسیون ۰/۵ میلی مول اپی نفرین در یک دقیقه باشد (Misra and Fridovich, 1972).

سنجش مالون دی آلدئید

برای این منظور از روش کروماتورافی HPLC براساس روش Steven (۱۹۸۷) استفاده گردید. عصاره ای که

www.SID.ir

Archive of SID

برای سنجش dG-oH-8 مصرف شده است براساس روش تیو بار بتوریک اسید با MDA مورد استفاده قرار گرفت. محصول این واکنش پس از عاری شدن از پروتئین بوسیله تری کلرواستیک اسید ۱۲ مول به ستون سیلکاژل اکتادسیل منتقل شد. پس از به تعادل رسیدن ستون، این ستون با فاز متحرک شامل فسفات بافر خاصی متانول شستشو شد و پیک MAD در اسپکتروفتومتر با دتکتورمرئی در طول موج 532 نانو متر شناسائی و براساس سطح زیر منحنی پیک اندازه گیری می گردید. جهت استاندارد شدن مالون دی‌آلدئید خالص با نسبتهای مختلف در بافر شستشو و منحنی استاندارد رسم گردید (Steven and Sidney, 1987).

سنجش محتوی کلروفیل:

جهت سنجش محتوی کلروفیل a، b و کلروفیل کل (b+a) توسط روش Arnon (1949) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش استفاده شد (Arnon, 1949).

اندازه گیری آب نسبی:

محتوی آب نسبی برگ با استفاده از فرمول (Levitt, 1980) به شرح زیر اندازه گیری شد (Levitt, 1980).

$$RWC = WF-WD / WT-WD \times 100$$

WF: وزن تر بافت گیاه

WT: وزن آماس یافته گیاه(اشباء شده از آب)

WD: وزن خشک بافت گیاه

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات:

تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. با توجه به کمی بودن هر دو عامل مورد آزمایش (غلظت‌های سرب و مس) برای تجزیه داده‌ها، تجزیه سطح پاسخ (Response Surface Analysis) انجام گرفت.

نتایج

شکل (۱) که از تغییرات سرب و مس بر میزان کلروفیل a ناشی می شود، بیانگر این است که افزایش سطوح سرب و مس از میزان کلروفیل a کاسته است، به طوری که تیمار شاهد در مقایسه با تیمار تنش از محتوی کلروفیل a بالاتری برخوردار بود. البته سرب بیش از مس برکاهش ظرفیت کلروفیل a در این گونه گیاهی موثر بود، مقادیر سرب و مس کلروفیل b را در مقایسه با کلروفیل a بسیار کمتر تحت تاثیر قرار دادند و همان گونه که در شکل (۲) مشاهده می شود در تمامی سطوح سرب و مس روند تقریبا ثابتی برمیزان کلروفیل b مشاهده میشود هرچند که شیب این تغییرات برای تیمار مس به میزان اندکی در بالاترین غلظت محسوس تر است. همچنین هر دو فلز مورد مطالعه سبب کاهش ظرفیت کلروفیل کل بسته به میزان غلظت فلز شدند (شکل ۳). آلودگی خاک با دو فلز سنگین سرب و مس ظرفیت مالون دی آلدهید (MDA) که نشانگر پراکسیداسیون لیپید است را نیز به طور معنی داری تحت تاثیر قرار داد (شکل ۶)، که البته این تاثیرات در غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم سرب چشمگیرتر بود. میزان پراکسیداسیون لیپید در مورد گیاهانی که تحت تیمار سرب قرار داشتند چشمگیرتر از تیمارهایی بود که تحت تاثیر مس قرار داشتند. همان گونه که در شکل (۶) مشاهده می شود. بیشترین فعالیت از این آنزیم نیز در بالاترین غلظت این عناصر در خاک مشاهده شد، که کنترل سطح O^{+2} توسط این آنزیم (SOD) در شرایط ماندگار مکانیزم حفاظتی مهمی در مقابل تنش اکسیدی در سلول می باشد زیرا O^{+2} به عنوان پیشگامی برای مشتقات سمی تر یا فعال تر از جمله پراکسی نیتریت یا Ho^{-} عمل می کند. همچنین نتایج بدست آمده از آنالیز صفت محتوی آب نسبی در گونه گیاهی خلر نشان داد که وضعیت آب در بافت برگها تحت تاثیر تیمار سرب و مس قرار نگرفت زیرا مقدار RWC در هر دو گروه از گیاهان (تیمار شاهد و گیاهان تیمار شده با سرب و مس) تقریبا یکسان بود.

www.SID.ir

Archive of SID

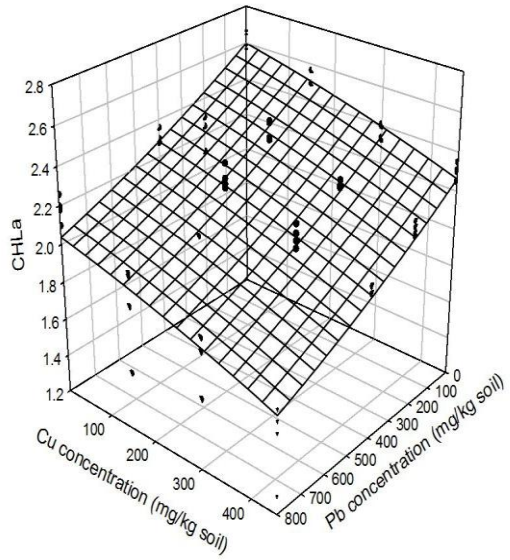
بحث

سمیت سرب و مس برای گیاه مورد مطالعه از طریق اندازه گیری غشا لیپیدی، محتوای کلروفیل و محتوی آب نسبی مورد ارزیابی قرار گرفت، در این راستا افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که حمایت کننده گیاهان تحت سمیت ناشی از عناصر سنگین است نیز برآورد گردید. بیشترین کاهش ظرفیت کلروفیل کل نیز در بالاترین سطح از سرب و مس خاک مشاهده شد، هر چند که در مجموع سرب بیش از مس بر کاهش کلروفیل کل موثر بود،سرب با جلوگیری از سنتز کلروفیل تاثیر منفی بر فرایند فتوسنتز دارد. سرب با جلوگیری از جذب عناصر ضروری مثل Mg و Fe از سنتز کلروفیل جلوگیری می کند، دستگاه فتوسنتز نیز به دلیل محدودیت لیگاندهای پروتئینی-N-S تخریب می شود و افزایش فعالیت کلروفیلاز نیز سبب افزایش تخریب کلروفیل در شرایط فراوانی سرب می شود (Sharma and Dubey, 2005). بنابراین احتمالا یکی از دلایل کاهش کلروفیل ها افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن ناشی از سرب و مس بوده است، به علاوه کاهش نسبت کلروفیل a به کلروفیل b می تواند به دلیل حساسیت و تخریب بیشتر کلروفیل a تحت اکسیژن های آزاد تولید شده ناشی از سرب و مس باشد. به نظر می رسد که تنش دو فلز سنگین سرب و مس در گیاه قادر به مهار بیوسنتز کلروفیل و تجزیه زیستی آن در گونه مورد مطالعه بوده است. در بررسی اثر کلرید نیکل و سولفات کادمیوم بر وضعیت کلروفیل گیاهان آبزی گونه هایی نظیر Ceratophyllum demersum، Lemna trisulca، Myriophyllum spicatum حاکی از آن بود که به دلیل جایگزینی این عناصر سنگین با منیزیوم موجود در مرکز حلقه پورفیرینی مقدارکلروفیل کاهش می یابد (Kupper et al., 1996). پراکسیداسیون لیپید تحت سمیت مس از یک معادله خطی پیروی می کند به طوری که با زیاد شدن مقادیر مس ظرفیت مالون دی آلدهید (MDA) نیز افزایش یافته است به نظر می رسد که این مشاهده به ماهیت فعالیت کاهشی Cu مربوط باشد چرا که این عنصر فرایند تولید رادیکال های بسیار فعال هیدروکسیل را کاتالیز می کند (Khatun et al., 2008). اما در مجموع سرب بیش از مس بر این فرایند موثر بود که این پراکسیداسیون به واسطه واکنش رادیکالهای لیپید و اکسیژن روی داده به طوری که رادیکال های پراکسی ایجاد می شوند، رادیکال های پراکسی لیپید نیز سیالیت و نفوذپذیری غشاء سلول ها را تغییر می دهند. مس و سرب سبب القاء فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در گونه خلر بسته به میزان غلظت فلز شدند (شکل ۵)، حداکثر فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در مورد سرب و مس در بالاترین سطح از این دو عنصر مشاهده شد. در اثر شرایط تنش، اکسیژن فعال در گیاه افزایش می یابد در این شرایط گیاه مکانیزم های متفاوتی را برای حذف و از بین بردن این گونه های فعال اکسیژن بکار می گیرد که به نظر می رسد که فعال شدن آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز(SOD) در پاسخ به اثرات مخرب اکسیژن های تولید شده از سرب و مس در این گونه گیاهی بوده است. به طور کلی نتایج نشان دهنده همبستگی منفی کلروفیل a ، کلروفیل b، کلروفیل کل با آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بود به طوری که با کم شدن مقدار کلروفیل فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته که احتمالا این افزایش در پاسخ به تولید اکسیژن های رادیکال آزاد ناشی از سرب و مس بوده است، به علاوه افزایش پراکسیداسیون لیپید نیز با افزایش این آنزیم همراه بود. کاهش کلروفیل a، کلروفیل b و در نتیجه کلروفیل کل را نیز تحت تاثیر خود قرار داد. همچنین کاهش ظرفیت کل کلروفیل با افزایش سطح مالون دی آلدهید(MDA) همراه بود که این مشاهده با تحقیق Ali و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت دارد. در شرایط تنش فلزات سنگین اثرات سمی پراکسیداسیون لیپید بر ظرفیت کلروفیل و کاهش سنتز کلروفیل در گونه های مختلف گیاهی به دلیل برهمکنش فلزات سمی با گروه SH- آنزیم های ضروری مشاهده

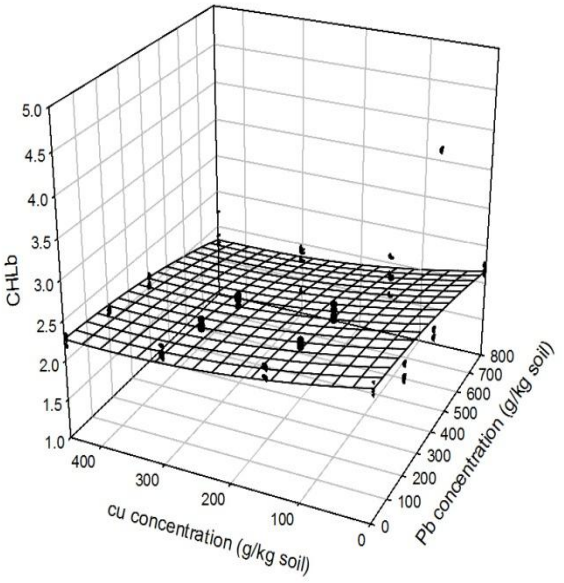
www.SID.ir

Archive of SID

شده است که چنین استنباط می شود که کاهش ظرفیت کل کلروفیل احتمالا به دلیل برهمکنش این فلزات با گروه SH- آنزیم های سنتز کلروفیل و نیز تخریب در نتیجه پراکسیداسیون لیپید بوده است. از آنجایی که آب نسبی در بافت های برگ گیاهانی که تحت تیمار سرب قرار داشتند تا حدی بیش از گیاهان شاهد بود (شکل ۴) احتمال می رود که روزنه های برگ در نتیجه تاثیر سرب بسته شده و فعالیت تثبیت کربن اتمسفر دچار لطمه شده باشد (Brunet et al., 2008). می توان انتظار داشت که در شرایطی که گیاهان می توانند محتوی نسبی آب خود را بیشتر حفظ کنند، تورژسانس بیشتری را نیز حفظ کرده و در نتیجه اندام های هوایی و ریشه های آنها بهتر رشد می کنند (Morgan, 1998). به نظر می رسد که این گونه گیاهان ماده خشک بیشتری را نیز در این شرایط تولید کنند.



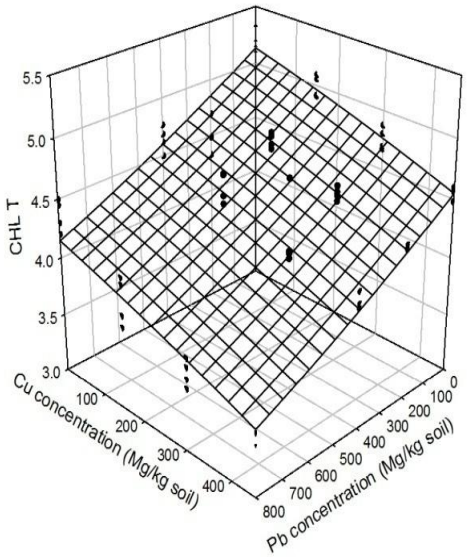
شکل ۱- روند تغییرات کلروفیل a تحت سطوح متفاوت سرب و مس



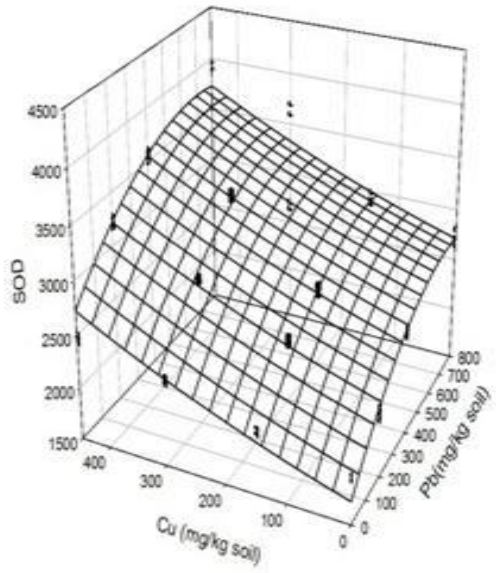
شکل ۲- روند تغییرات کلروفیل b تحت سطوح متفاوت سرب و مس

www.SID.ir

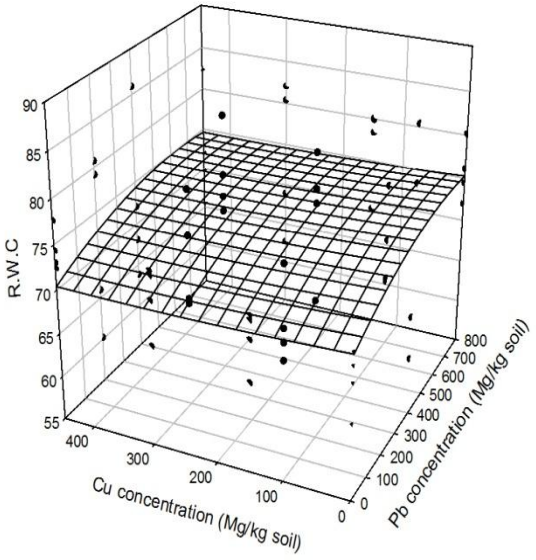
Archive of SID



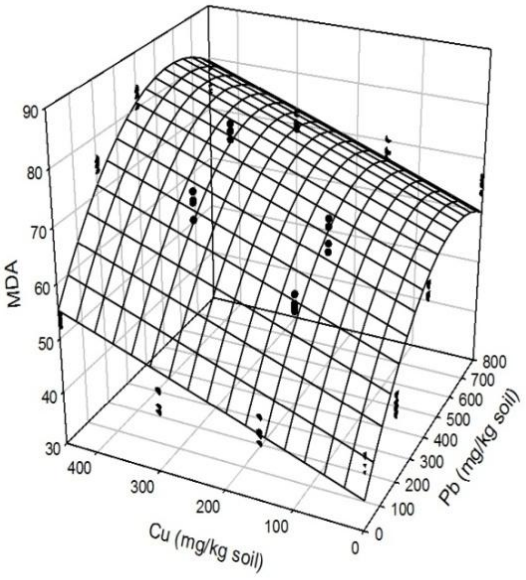
شکل ۳- روند تغییرات کلروفیل کل(b+a) تحت سطوح متفاوت سرب و مس



شکل ۵- روند تغییرات آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) تحت سطوح متفاوت سرب و مس



شکل ۴- روند تغییرات آب نسبی(RWC) تحت سطوح متفاوت سرب و مس



شکل ۶- روند تغییرات مالون دی آلدهید(MDA) تحت سطوح متفاوت سرب و مس

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- جدول ضرایب همبستگی بین صفات اندازه گیری شده

صفات	SOD	CHL a	CHL b	CHL T	MDA	RWC
SOD	۱					
CHL a	-۰/۷۵ **	۱				
CHL b	-۰/۵۱ **	۰/۵ **	۱			
CHL T	-۰/۸ **	۰/۸۹ **	۰/۶۳ **	۱		
MDA	-۰/۸۹ **	-۰/۶۸ **	-۰/۴۴ **	-۰/۷۱ **	۱	
RWC	۰/۱۳	-۰/۱۹	-۰/۲۷ *	-۰/۲۲	۰/۱۴	۱

* و ** به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح پنج و یک درصد می باشد.

فهرست منابع:

1. Ali, B .M .P., Vajpayee, R. D., Tripathi, U. N., Rai, S. N., Singht, S. P. and Singhg H., 2003. Phytoremediation of lead, nickel, and copper by salix acmophylla boiss: Role of Antioxidant Enzymes and Antixidant substances. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 70: 462-469.
2. Arnon, D. I., 1949. Copper enzyme in isolated chloroplast, polyphenol oxidase in betavulgaris. Plant physiology, 24: 1-15.
3. Brunet J., Repellin, A., Varrault, G., Terrync, N., and Zuily-fodi, Y., 2008. Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) anovel plant for phytoremediation systems? C. R. Biologies, 331: 859-864.
4. Davey, M. W. E., Stals, B., Panis, J., Keulemans, R. and Swennen, L., 2005. High Throughput determination of mabndialdehyde in plant tissues .Analytical Biochemistry, 347 :201-207.
5. Estrella-Gomez, N., Mendoza–Cozatl, D., Moreno–Sanchez, R., Gonzalez–Mendoza, D., Zapata–Perez, O., Martinez–Hernandez, A., Santamaria, J. M., 2009. The pb-hyperaccumulator aquatic fern salvinia minima baker, responds to pb 2 +by increasing phytochelatins via changes in smpcs expression and in phytochelatin synthase activity . Aquatic Toxicology, 91: 320-328.
6. Gaetke, L. M. and Chow, C. K., 2003. Copper toxicity oxidative stress and antioxidant nutrients. Toxicology, 189: 197-163.
7. Garnczarska, M. and Ratajczak, D., 2000. Metabolic responses of lemna minor to lead ions, II .Induction of antioxidant enzymes in roots .Acta Physiologiae Plantarum, 22: 429-432.
8. Groppa, M. D., Tomaro, M.L and Benarides, M. P., 2007. Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in cadmium – and copper – treated wheat leaves. Biometals, 20:185-195.
9. Khatun, S., Babar Ali, M., Hahn, E. J. and Paek, K. Y., 2008. Cooper toxicity in withania somnifera: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Environmental and Experimental Botany, 64: 279-285.

www.SID.ir

10. Kupper, H., Kiipper, F. and Spiller, M., 1996. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. Journal of Experimental Botany, 47: 259-266.
11. Levitt, J., 1980. Response of Plants to Environmental Stresses, Vol .2, Water, Radiation, Salt and Other Stresses, Academic Press, New York, 650p.
12. Lin, C. J., Liu, L., Liu, T., Zhu, L., Sheng, D. and Wang, D., 2009 .Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. Environmental and Experimental Botany, 65: 410-416.
13. Luis, A., Del Rio, D., Lyon, I., Bruce, G. and Marvinl, S., 1983. Immunocyto chemical evidence for a peroxisomal localization of manganese superoxide dismutase in leaf protoplasts from a higher plant. Planta, 158: 216-224.
14. Misra, H. and Fridovich, I., 1972. The generation of superoxide radical during auto oxidation. J. Biol. Chem. 247: 6960-6966.
15. Morgan, J. M., 1988. The use of coleoptile responses to osmoregulation; growth and yield. Annals of Botany, 62:193-8.
16. Navari-Izzo, F., Quartacci, M. F., Pinzino, O., Dalla Vecchia, F. and Sgherii C .L .M., 1998. Thilakoid-bound and stromal antioxidative enzymes in wheat treated with exess copper .Plant physiology, 104: 630-638.
17. Sharma P. and Dubey, R. S., 2005. Lead Toxicity in plants. Plant physiol, 17: 35-52.
18. Sharma, S. S., Kaul, S., Metwally, A., Goyal, K. C., Finkemeier, I. and Dietz, K. J., 2004. Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgar*) as affected by varying Fe nutritional status. Plant science, 166:1287-1295.
19. Steven, H. and Sidney, M. H., 1987. Lipid peroxidase in samples as measured by liquid chromatography. Separeathion or malondialdehyde tiobarbituric acid. Elin. Chem. 32: 214-220.

www.SID.ir