اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت آنزیمی و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه *Phaseolus vulgaris* L.

رضوان حیدری*، مسعود گودرزی و حسین لاری یزدی

بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، دانشکده علوم،گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۸

چکیده

آلومینیوم یکی از فلزات سنگین است که اثرات سمی آن در گیاهان متفاوت از جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، مولکولی و سایر موارد مهم مورد بررسی و قابل توجه است. با کاهش pH خاک انحلال‌پذیری این یون افزایش می‌یابد و از طریق ریشه جذب شده و بدین ترتیب بر رشد گیاهان تأثیر می‌گذارد. در این پژوهش اثر سمی آلومینیوم بر برخی فعالیتهای آنزیمی و فیزیولوژیکی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) مورد بررسی قرار گرفت. دانه‌رست‌های لوبیا در محیط جوانه‌زنی و محیط کشت هیدروپونیک کشت داده شد و تحت تیمارهای مختلف آلومینیوم (۴۰،۳۰ و ۵۰ میلی مولار) قرار گرفتند. براساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، نیترات آلومینیوم موجب کاهش جوانه‌زنی، سرعت و طول ریشه و ساقه و قند نامحلول ریشه گردید. از سوی دیگر میزان فعالیت کاتالاز، پراکسیداز، قند محلول و محتوای پروتئین کل در ریشه گیاه مورد بررسی تحت تنش آلومینیوم در مقایسه با گیاهان گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد که می‌تواند مربوط به مکانیسم‌های مقابله با تنش و تولید پروتئینهای سم‌زدا باشد که در برخی گزارشهای پیشین نیز وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: *Phaseolus vulgaris* ، آلومینیوم، پراکسیداز، کاتالاز، کربوهیدرات، پروتئین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۶۶۴۲۵۱۸۰۳۸ ، پست الکترونیکی: rezvanheidari1392@gmail.com

مقدمه

لوبیا یکی از پرمصرف‌ترین مواد غذایی کشت شده در دنیا است که محتوای مقادیر فوق العاده از فیبر، پروتئین و کربوهیدرات می‌باشد. خاک های اسیدی حدود ۴۰٪ از زمین های دنیا را شامل می شوند و اسیدیته خاک به عنوان یک عامل اصلی محدود کننده رشد برای گیاهان محسوب می شود. رشد لوبیا به شدت توسط تنشهای غیر زیستی مثل کمبود فسفر و یا سمیت آلومینیوم در مناطق گرمسیری و نواحی حاره محدود می شود (۱۱). آلومینیوم از فراوانترین عناصر پوسته زمین است که تقریبا ۷٪ از این پوسته را به خود اختصاص داده است. با کاهش pH خاک انحلال‌پذیری Al^{+3} افزایش می‌یابد و به شکل فیتوتوکسیک خود در می‌آید و از طریق ریشه جذب می‌شود و بر رشد گیاهان تأثیر می‌گذارد (۱۲ و ۲۶). از علائم سمیت آلومینیوم توقف رشد در نوک ریشه گیاهان حساس است (۲۹). آزادسازی اسیدهای آلی از ریشه‌ها یکی از روشهای مقابله با اثرات سمی آلومینیوم است. برخی محققان دفع سیترات از ریشه لوبیا را به عنوان عاملی برای کاهش اثرات سمی آلومینیوم گزارش کرده اند (۲۰،۲۱). pH بهینه برای رشد گیاه لوبیا ۷-۶/۵ است (۱). با کاهش pH خاک، pH سیتوزولی تغییر یافته و به دلیل آسیب سلولی ناشی از آن، طویل شدن سلولهای ریشه متوقف می‌شود (۳۱). یکی از فرایندهای بیوشیمیایی گیاهان در شرایط تنش، تولید مقادیر فراوان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و در نتیجه آن تنش اکسیداتیو است (۲۵). مکانیسم فیزیولوژیک سمیت آلومینیوم به طور کامل مشخص نشده است؛ با وجود این،

در اغلب پژوهشها بر نقش آن در تولید گونه‌های فعال اکسیژن مولکولی و ایجاد تنش اکسیداتیو تأکید شده است. در کشت سلولی گیاه آرابیدوپسیس و تنباکو، تیمار آلومینیوم سبب افزایش بیان ژنهای مختلف (پراکسیداز، گلوتاتیون S-ترانسفراز و سوپراکسید دیسموتاز) شد (۳۲). هدف از این پژوهش، بررسی پاسخ گیاه مورد نظر به افزایش میزان آلومینیوم در مراحل جوانه‌زنی و مطالعه خصوصیات فیزیولوژیک دخیل در مقاومت به تنش و تغییرات میزان فعالیت برخی آنزیم‌ها، محتوای کربوهیدرات‌ها و پروتئین کل تحت تأثیر تنش آلومینیوم می‌باشد.

مواد و روشها

مواد گیاهی و تیمارها: بذرهای گیاه لوبیا واریته صیاد از مرکز تحقیقات اصلاح و نباتات استان البرز تهیه گردید. بذرها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ ضدعفونی سطحی شدند. به منظور انجام تیمار محلولهایی با غلظتهای ۳۰ میلی مولار، ۴۰ میلی مولار و ۵۰ میلی مولار تهیه شد. در داخل هر پتری تعداد ۱۰-۸ بذر قرار داده، به پتریهای شاهد مقدار ۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید و سایر پتریها با غلظت‌های ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی مولار نیترات آلومینیوم تیمار شدند. پتریهای فوق در شرایط تاریکی و دمای مناسب ۲۵ درجه سانتیگراد در داخل انکوباتور به مدت یک هفته قرار گرفت و میزان آب پتریها هر روز تنظیم شد و تعداد بذرهای جوانه زده در هر پتری به فواصل یک روزه شمارش گردید. همچنین پارامترهایی مانند درصد جوانه‌زنی مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس گیاهچه‌های همگن از نظر اندازه انتخاب شدند و به‌محلول هوگلند انتقال یافتند و تحت تیمار با غلظت‌های ذکر شده نیترات آلومینیوم قرار گرفتند. مدت تیماردهی ۱۰ و ۲۰ روز بود، برای تمامی تیمارها سه تکرار در نظر گرفته شد.

سنجش کربوهیدرات‌ها: برای سنجش قندهای محلول و نامحلول از روش فنل- اسید سولفوریک استفاده شد. به همین منظور ۰/۱ گرم ماده خشک گیاهی (ریشه و برگ) را وزن کرده و در لوله آزمایش ریخته و بر روی آن ۱۰ میلی-لیتر اتانول ۷۰٪ اضافه کرده و به‌مدت یک هفته در یخچال قرار داده شد تا قندهای محلول آن حل شوند. سپس محلول رویی را برداشته و بروی آن ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک اضافه کرده و با تکان دادن لوله‌ها و پس از انتشار یکسان رنگ قهوه‌ای روشن پدید آمده در لوله آزمایش، جذب نوری محلول در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Biowave II, England) خوانده شد و بعد غلظت قند با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم بر وزن خشک ارزیابی شد. برای اندازه‌گیری قندهای نامحلول (نشاسته) محلول اتانول محتوی نمونه‌های گیاهی را صاف کرده، سپس رسوب حاصل را خشک کرده و در لوله آزمایش ریخته و بروی آن ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده و به‌مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری قرار داده شد و بعد آن را صاف کرده و میزان جذب نوری محلول محتوی قندهای نامحلول به روش فنل- اسیدسولفوریک در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد (۱۷).

سنجش پروتئین کل: سنجش پروتئین نمونه های مورد مطالعه به روش Lowry و همکاران (۱۹) انجام شد. ۰/۲ گرم ماده خشک در یک هاون چینی توسط ۰/۵ میلی‌لیتر بافر تریس سائیده شده و بعد محتویات به لوله سانتریفوژ منتقل گردید. عصاره به مدت ۴۰ دقیقه در 5000 g سانتریفوژ شد و از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. ۵۰ میکرولیتر از محلول رویی را برداشته و مقدار ۹۵۰ میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه شد، آنگاه در یک لوله آزمایش دیگر به عنوان شاهد ۱ میکرولیتر بافر تریس اضافه شد. به هر دو لوله یک میلی‌لیتر معرف D (۱۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۱۰٪، ۰/۵ میلی‌لیتر سولفات مس ۱٪، ۰/۵ میلی‌لیتر سدیم-پتاسیم تارتارات ۲٪) اضافه شد، سپس مقدار ۳ میلی‌لیتر معرف E (فولین ۲ نرمال رقیق شده با با آب مقطر با نسبت ۱۰) اضافه شد و به‌شدت تکان داده

شد. در نهایت لوله‌های مذکور به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری و در حرارت ۴۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و بعد از سرد شدن جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت پروتئین کل، از محلولهای با غلظتهای مختلف سرم آلبومن گاوی تهیه و با استفاده از جذب نوری آنها، نمودار استاندارد تهیه شد. با استفاده از نمودار استاندارد رسم شده، غلظت پروتئین به ازای هر گرم بافت تر در نمونه های مورد مطالعه محاسبه گردید.

سنجش فعالیت‌های آنزیمی

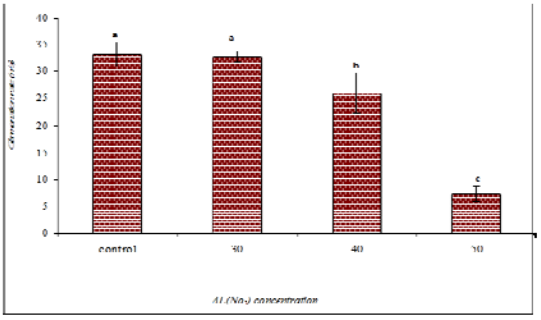
سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: به منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Koroi (۶) استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره گیری (حاوی آنزیم پراکسیداز) را با ۲ میلی‌لیتر بافر استات ۰/۲ مولار، ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳٪ و از ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین ۰/۰۲ مولار در متانول ۵۰٪ مخلوط کرده و میزان جذب آن با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. مقدار فعالیت آنزیم برحسب واحد جذب در دقیقه به ازاء هر میلی گرم پروتئین در گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: بدین منظور از روش Chance (۱۰) استفاده شد. ۲/۵ میلی‌لیتر تامپون فسفات و ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳٪ به همراه ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی را مخلوط کرده و میزان جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد.

آنالیزهای آماری: کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار مستقل انجام گردید. آنالیز داده ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس انجام شد. از نرم افزار Excel برای محاسبه میانگین، انحراف معیار و رسم نمودارها استفاده شد. تحلیل داده‌ها و معنی‌دار بودن اختلاف بین آنها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

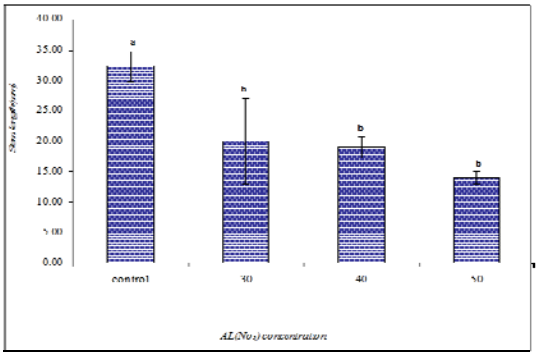
نتایج

نتایج تغییرات سرعت جوانی‌زنی: طبق آزمون دانکن مشاهده شد که سرعت جوانه‌زنی بذرهای گیاه لوبیا که تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات آلومینیوم قرار گرفته‌اند نسبت به شاهد روند کاهشی را نشان می‌دهد ($P\leq0.01$). بنابراین میزان جوانه زنی دانه ها در تیمار (۳۰) ۲ درصد، تیمار (۴۰) ۲۲ درصد و تیمار (۵۰) ۷۸ درصد جوانه زنی نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است (نمودار ۱).



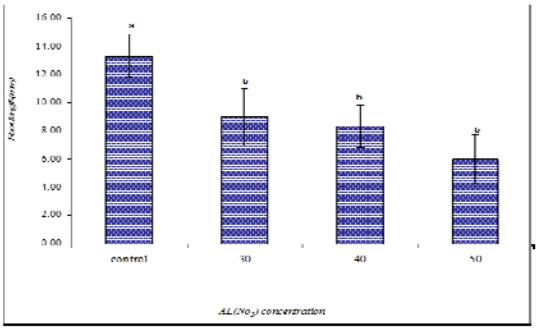
نمودار ۱- اثر غلظت‌های مختلف نیترات آلومینیوم بر سرعت جوانه‌زنی گیاه لوبیا ۱۰ روزه (هرستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۳ تکرار است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آزمون دانکن است)

نتایج تغییرات طول ساقه: تغییرات طول ساقه در فاصله زمانی ۲۰ روزه در تیمارهای مختلف نیترات آلومینیوم نسبت به شاهد روند کاهشی داشت، به طوری که تیمار (۳۰) ۳۸ درصد، تیمار (۴۰) ۴۱ درصد و تیمار (۵۰) ۵۷ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته است ($P\leq0.01$) (نمودار ۲).



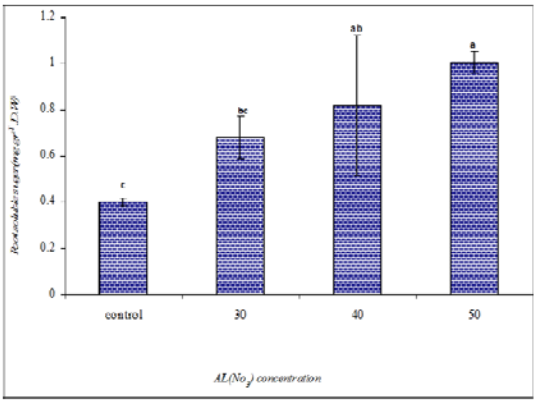
نمودار ۲- اثر غلظت‌های مختلف نیترات آلومینیوم بر طول ساقه گیاه لوبیا ۲۰ روزه (هرستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۳ تکرار است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آزمون دانکن است).

نتایج تغییرات طول ریشه: در هر دو فاصله زمانی ۱۰ و ۲۰ روزه شاهد روند کاهشی طول ریشه در گیاه لوبیا تحت تیمار غلظت‌های مختلف نیترات آلومینیوم بودیم، به‌طوری که در ۱۰ روزه تیمار (۳۰) ۳۴ درصد، تیمار (۴۰) ۶۳ درصد و تیمار (۵۰) ۷۴ درصد و در ۲۰ روزه تیمار (۳۰) ۳۲ درصد، تیمار (۴۰) ۳۳ درصد و تیمار (۵۰) ۵۷ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته است ($P\leq0.01$) (نمودار ۳).

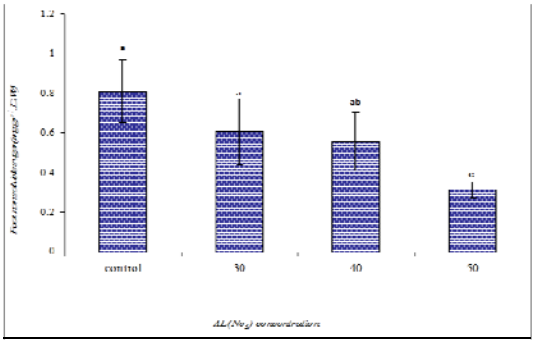


نمودار ۳- اثر غلظت‌های مختلف نیترات آلومینیوم بر طول ریشه گیاه لوبیا ۲۰ روزه (هرستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۳ تکرار است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آزمون دانکن است).

نتایج مربوط به سنجش کربوهیدراتهای ریشه: طبق آزمون دانکن مشاهده شد که تغییرات قندهای محلول ریشه گیاه تحت تأثیر غلظتهای مختلف نیترات آلومینیوم بدین صورت می‌باشد: تیمار (۳۰) ۷۰ درصد، تیمار (۴۰) ۱۰۴ درصد و تیمار (۵۰) ۱۵۲ درصد که نسبت به شاهد افزایش یافته است ($P\leq0.01$) (نمودار ۴). همچنین در مورد تغییرات قندهای نامحلول مشاهده می‌شود که تیمار (۳۰) ۲۵ درصد، تیمار (۴۰) ۳۱ درصد و تیمار (۵۰) ۶۱ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته است ($P\leq0.05$) (نمودار ۵).

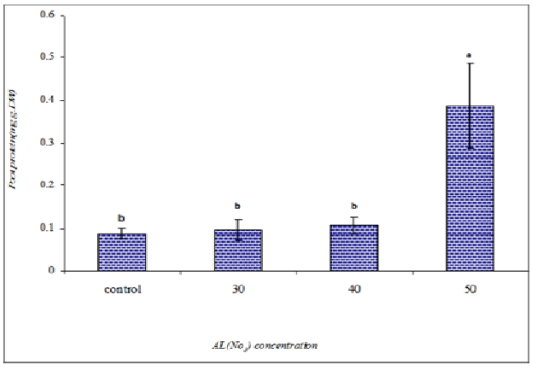


نمودار ۴- اثر غلظت‌های نیترات آلومینیوم بر قندهای محلول ریشه لوبیا ۲۰ روزه (هرستون نمودار معرف میانگین± انحراف معیار ۳ تکرار است. حرف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آزمون دانکن است).



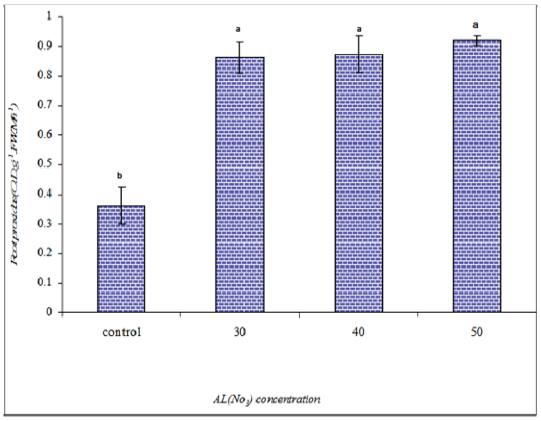
نمودار ۵- اثر غلظت‌های نیترات آلومینیوم بر قندهای نامحلول ریشه لوبیا ۲۰ روزه (هرستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۳ تکرار است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آزمون دانکن است).

نتایج مربوط به سنجش پروتئین‌ها: بر اساس آزمون دانکن تغییر محتوای پروتئین ریشه گیاه لوبیا رقم صیاد ۲۰ روزه تحت تأثیر غلظتهای مختلف نیترات آلومینیوم قرار گرفته، به طوری که نسبت به شاهد روند افزایشی را نشان می‌دهند ($P\leq0.01$). بنابراین تیمار (۳۰) ۹ درصد، تیمار (۴۰) ۳۱ درصد و تیمار (۵۰) ۳۳۵ درصد نسبت به شاهد افزایش یافته است (نمودار ۶).



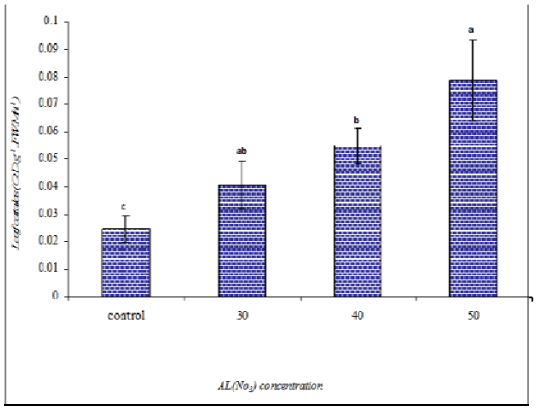
نمودار ۶- اثر غلظت‌های نیترات آلومینیوم بر محتوای پروتئین کل ریشه لوبیا ۲۰ روزه (هرستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۳ تکرار است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آزمون دانکن است).

نتایج مربوط به سنجش فعالیت آنزیمی: نتایج سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه: مطابق با آنالیز داده‌ها توسط آزمون دانکن مشخص شد که تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه گیاه در فاصله زمانی ۱۰ و ۲۰ روزه تحت تیمار به ترتیب در غلظت‌های مختلف (۳۰) ۸ درصد، تیمار (۴۰) ۱۸ درصد و تیمار (۵۰) ۴۷ درصد و (۳۰) ۱۳۸ درصد ($P\leq0.05$)، تیمار (۴۰) ۱۴۱ درصد و تیمار (۵۰) ۱۵۴ درصد ($P\leq0.01$) نسبت به شاهد افزایش یافته است (نمودار ۷).



نمودار ۷- اثر غلظت‌های مختلف نیترات آلومینیوم بر میزان فعالیت پراکسیداز در ریشه لوبیا ۲۰ روزه (هرستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۳ تکرار است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آزمون دانکن است).

نتایج فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه: طبق آزمون دانکن مشاهده می‌شود که تغییرات میزان فعالیت کاتالاز ریشه گیاه تحت تأثیر غلظتهای مختلف نیترات آلومینیوم در فاصله زمانی ۱۰ و ۲۰ روزه روند افزایشی را نشان می-دهند. بطوری که در فاصله زمانی ۱۰ روزه تیمار (۳۰) ۲۰۶ درصد، تیمار (۴۰) ۲۳۸ درصد و تیمار (۵۰) ۳۴۷ درصد و در فاصله زمانی ۲۰ روزه تیمار (۳۰) ۲۵۴ درصد، تیمار (۴۰) ۳۳۱ درصد و تیمار (۵۰) ۵۲۴ درصد نسبت به شاهد افزایش یافته است (نمودار ۸).



نمودار ۸- اثر غلظت‌های مختلف نیترات آلومینیوم بر فعالیت کاتالاز در ریشه لوبیا ۲۰ روزه (هرستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۳ تکرار است. حروف مشترک معرف عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آزمون دانکن است).

بحث

سمیت آلومینیوم یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد محصولات زراعی در خاک‌های اسیدی است. گونه‌های گیاهی مقاوم به آلومینیوم با مکانیسم‌های متعدد با اثرات سمی آن مقابله می‌کنند. بسیاری از گیاهان با ترشح اسیدهای کربوکسیلیک مانع از ورود آلومینیوم به درون سلول‌های ریشه می‌شوند، بدین ترتیب، با ایجاد ترکیبات پایدار و غیرسمی، موجب انباشتگی آلومینیوم در نوک ریشه می شوند (۲۷).

جوانه‌زنی یکی از مراحل مهم و حیاتی در رشد گیاهان بوده که تولید و بهره‌وری هر چه بیشتر گیاه توسط این

مرحله مشخص می‌گردد (۷). با توجه به بررسیهای انجام شده در این تحقیق، مشخص شد که آلومینیوم اثرات منفی بر جوانه‌زنی دانه‌های لوبیا رقم صیاد دارد. نتایج مشابهی درباره اثرات بازدارندگی آلومینیوم بر جوانه‌زنی گیاهان مختلف بدست آمده است. البته کاهش سرعت جوانه‌زنی در اثر تنشهای حاصل از فلزات سنگین در کلم، گندم، شلغم و کاهو نیز گزارش شده است (۱). تنش آلومینیوم بر جوانه‌زنی صنوبر سفید (۲۴)، نخود (۲۳) و رقم های مختلف گندم (۱۸) گزارش شده است.

غلظتهای بالای فلزات سنگین به روند رشد گیاه آسیب می رساند. و برخی از آنها مانند مس و آلومینیوم مانع از جذب سایر عناصر ضروری مانند کلسیم ، آهن و پتاسیم شده و از رشد گیاه می کاهد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، شاخص های متعدد رشد از جمله طول ریشه و ساقه، وزن تر ریشه و اندام هوایی، وزن تر کل گیاه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، وزن کل خشک گیاه تحت تیمارهای مختلف نیترات آلومینیوم نسبت به شاهد مورد بررسی قرار گرفتند که نتیجه این سنجش‌ها کاهش معنی دار فاکتورهای فوق را در تیمار با غلظتهای بالای آلومینیوم نشان داد ($P\leq0.01$). نتایج مشابهی درباره اثرات بازدارندگی فلزات سنگین از جمله آلومینیوم بر رقم های چای و کلم قرمز توسط قناتی و همکاران (۵) و لوبیا توسط خاوری نژاد و همکاران (۲) گزارش شده است. Hegedus و همکاران (۱۶) بیان کردند که به طور کلی فلزات سنگین، فعالیت نیتریت ردوکتاز در ریشه و ساقه را کم می‌کند و محتوای کل کلروفیل و همچنین طول ریشه و برگ ها را کاهش می‌دهند که با یافته های این پژوهش مطابقت دارد. تنش فلزات سنگین ازجمله عوامل محدود کننده رشد ریشه، تقسیم سلولی و کاهش گسترش سلولی در منطقه طویل شدن است و از آن جا که مقدار آب و غذای معدنی قابل دسترس برای گیاه از روی حجم خاک یا محلول در تماس با ریشه‌ها تعیین می شود، کاهش رشد ریشه‌ها سایر فعالیت‌های رشدی گیاه را تحت تأثیر قرار خواهد داد (۴). اثر آلومینیوم در بازدارندگی رشد شبیه اثر فلزات سنگین به‌ویژه کادمیوم است (۳).

در این پژوهش، میزان قندهای محلول در ریشه و اندام هوایی گیاهان تحت تیمار ۲۰ روزه نیترات آلومینیوم، افزایش معنی‌داری ($P\geq 0.05$) را نشان داد که می‌توان نتیجه گیری کرد که مقاومت گیاه به دلیل ساخت کربوهیدرات‌های محلول تحت تنش فلز سنگین می‌باشد. اما میزان قندهای نامحلول در ریشه و اندامهای هوایی نسبت به شاهد دارای روند کاهشی است که این کاهش در سطح ($P\geq 0.05$) معنی‌دار است. بنابراین می توان گفت با افزایش غلظت آلومینیوم، تعادل آب درون سلول مختل می‌شود و در نتیجه تغییراتی در آنزیمهای مسیر متابولیسم قندها ایجاد می‌شود، به عنوان نمونه میزان فعالیت آنزیم اینورتاز کاهش می‌یابد (۲۸). به دنبال کاهش میزان انتقال آب و تجمع این فلز در سلول، میزان کربوهیدراتها افزایش می‌یابد. از این‌رو به نظر می رسد این رخداد یک نوع مکانیسم سازشی برای حفظ پتانسیل اسمزی تحت تنش آلومینیوم است (۳۰). این نتایج با پژوهشهای انجام شده روی گیاه جو *Hordeum vulgar* (۲۲) و لوبیا *Phaselous vulgaris* (۲) مطابقت دارد.

مقدار پروتئین ریشه در گیاهانی که ۲۰ روز تحت تیمار آلومینیوم بودند، با افزایش غلظت آلومینیوم در محلول غذای هوگلند افزایش معنی‌داری یافت. افزایش مقدار پروتئین‌ها با وجود کاهش رشد در گیاهان تیمار شده بیانگر افزایش پروتئینهایی با وزن مولکولی کم می‌باشد که سنتز این نوع پروتئینها در شرایط تنشی افزایش پیدا می‌کند. افزایش مقدار پروتئینها می‌تواند به دلیل سنتز بیشتر آنزیمهایی مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و دهیدروآسکوربات ردوکتاز باشد (۱۵)، که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد.

براساس نتایج به دست آمده غلظت ۳۰ میلی مولار نیترات آلومینیوم باعث افزایش مقدار پروتئین کل شده است، اما

در غلظتهای (۴۰ و ۵۰ میلی مولار) مقدار پروتئین نسبت به شاهد و غلظت ۳۰ میلی مولار کاهش یافته است. گزارشهایی حاکی از تولید باندهای پروتئینی جدید در گیاهان تحت تیمار با آلاینده های مختلف وجود دارد (۳۳). نقش احتمالی پروتئینهای جدید تولید شده، نقش و عملکرد سم زدایی آنهاست. گرچه همه تیمارها موجب مسمومیت گیاهان تحت تیمار شده‌اند اما به نظر می‌رسد فقط تیمار ۳۰ میلی مولار توانسته موجب القای ژنی و تولید پروتئینهای سم زدا گردد.

با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش، همزمان با افزایش غلظتهای نیترات آلومینیوم، افزایش معنی‌دار ($P\geq 0.05$) میزان فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز در ریشه گیاه لوبیا مشاهده شد. Gossett و همکاران (۱۵) با مطالعه روی لاین‌های متحمل به شوری در پنبه گزارش کردند که با افزایش غلظت نمک محیط، میزان فعالیت پراکسیداز افزایش یافته و حذف تنش این فعالیت را کم می‌کند. افزایش میزان فعالیت پراکسیداز زمینه را برای تجزیه متابولیت‌های ثانویه در گیاه فراهم می‌کند (۲۳). افزایش فعالیت کاتالاز با افزایش سطح آلومینیوم در رقم‌های گندم، ممکن است نشانه‌ای از منع تولید ROS تحت یک تنش اضافی آلومینیوم باشد (۲۳). تیمار آلومینیوم سبب تجمع پراکسیدهای لیپیدی در بافت‌ها می‌شود که نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو است (۹). با وجود آنکه مطالعات متعددی در ارتباط با سمیت آلومینیوم انجام شده است، بررسی چگونگی تخریب اکسیداتیو اجزای سلولی، اثر آن بر سیستم آنتی‌اکسیدان و ایجاد ROS ضروری به نظر می‌رسد. ممانعت از ایجاد سمیت توسط این ترکیبات با وجود نقش مؤثر آنها در رشد، توسعه و سیگنال دهی گیاه حائز اهمیت است (۱۳). افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان در تیمار آلومینیوم در گیاه لیسیانتوس نشان می‌دهد که مکانیسم تحمل در آن با سرکوب تخریب اکسیداتیو و با تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز همراه است (۱۴). در برخی گزارشهای پیشین کاهش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین مانند کادمیوم وجود دارد (نورانی آزاد وکفیل زاده، ۱۳۹۰) که با یافته های این پژوهش در تضاد است.

نتیجه نهایی

یافته های این پژوهش نشان می دهد که آلومینیوم در غلظتهای مورد استفاده در تیمار گیاهان، اثرات سوء بر مؤلفه های رشد مانند جوانه زنی بذر، سرعت رشد و قندهای محلول دارد. میزان پروتئین کل و فعالیت آنزیمهای با نقش آنتی اکسیدانی در گیاهان تحت تیمار آلومینیوم افزایش یافته است که می‌تواند به عنوان مکانیسم‌های سم زدا و ضد تنش قلمداد شوند.

منابع

۱- تاج بخش، م.، قیاسی، م. ۱۳۸۷. اکولوژی بذر، انتشارات جهاد دانشگاهی، واحد آذربایجان غربی.

۲- خاوری نژاد، ر. ع.، نجفی، ف.، صالحی، م. ۱۳۸۹. اثر غلظت های مختلف کلرور آلومنیوم بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L)، فصل نامه علوم زیستی، دانشگاه آزاد واحد زنجان، شماره پیاپی ۹: ۱۷-۹.

۳- صارمی راد، ب.، اسفنیاری، ع.، شکرپور، م.، سفالیان، ا.، آوانس، آ.، موسوی، س. ب. ۱۳۹۳. اثر کادمیوم روی برخی از ویژگیهای ریخت شناسی و فیزیولوژک گندم در مرحله گیاهچه ای. مجله پژوهشهای گیاهی. جلد ۲۷: ۱۱-۱.

۴- علی پور، ح. ۱۳۸۵. مطالعه تجمع نیکل و کادمیوم و فعالیت پراکسیدازی در تربچه (*Cultivated radish*) در شرایط مزرعه و گل خانه، پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی.

۵- نورانی آزاد، ح، کفیل زاده، ف (۱۳۹۰). تاثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه های فتوسنتزی و برخی آنزیمها در

گلرنگ (*tinctorius Carthamus*). مجله زیست شناسی ایران. ۲۴: ۸۵۸ـ۸۶۸ .

۶- قناتی، ف. و نعمتی، ف. ۱۳۸۹. تأثیر مثبت آلومنیوم در فعال کردن سیستم آنتی اکسیدان ریشه های گیاه لیسیانتوس (*Eustoma grandiflova* L.)، زیست شناسی گیاهی ایران، سال دوم، شماره دوم، (پیاپی ۴): ۵۳-۴۱.

7- Almansouri, M., J.M. Kinet and S. Lutts. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (Triticum durum Desf.). Plant and Soil. 231: 243-254.

8- Ajungla, L., P. Patil, R.B. Barmukh and T.D. Nikam. 2009. Influence of biotic and abiotic elicitors accumulation of hyoscyamine and scopolamine in root cultures of *Datura metel* L., Indian Journal of Biotechnology. 8: 317-322.

9- Becana, M. 2007. Oxidative stress as a response to salinity and aluminum. Lotus Newsletter. 37(3): 98-100.

10- Chance, B. and C. Maehly. 1995. Assay catalase and peroxidase methods. Enzymol. 11: 764-775.

11- Ciat, F. and A. Cali. 1999. Bean improvement for sustainable productivity, inpuuse efficiency, and poverty alleviation. Ann. Report of the project. 1: 14–23.

12- Foy, C.D., R.L. Chaney and M.C. White. 1978. The Physiology of metal toxicity. Plant Physiology. 29: 511-566.

13- Dat, J., S. Vandenabeele, E. Vranova, M. Van Montagu, D. Inze and F. Van Breusegem. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cellular and Molecular Life Science. 57: 779-795.

14- Ghanati, F., A. Morita and H. Yokota. 2005. Effect of aluminum on the growth of tea plant and activation of antioxidant system. Plant and Soil. 276: 133-141.

15- Gossett, D. R., S. W. Banks, and M.C. Lucus. 1996. Antioxidant response to NaCl stress in a control and a Nacl tolerance cotton cell line grown in the presence of paraquat. Plant Physiol. 12: 803-809.

16- Hegedűs, A., S. Erdei and G. Horváth. 2001. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. Plant Science. 160: 1085–1093.

17- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid method. In: Hellebust, J.A. and J.S. Craige (eds). Handbook of Physiological and Biochemical Methods, pp. 95-97. London: Cambridge University Press.

18- Lima, M. L., and L. Copeland. 1990. The effect of aluminum on the germination of wheat seeds. J. Plant Nutr. 13 (12): 1489-1491.

19- Lowry, O.H., N.H. Rosebrough and A.L. Fair. 1969. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

20- Ma, J.F. 2000. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. Plant Cell Physiol. 41: 383–390.

21- Ma, J.F, S.J. Zheng, H. Matsumoto and S. Hiradate. 1997. Detoxifying aluminum with buck wheat. Nature. 390: 569-570.

22- Mona M.A. 2008). Physiological aspects of aluminum toxicity on some metabolic and hormonal contents of *Hordeum vlgaris* L. Seedlings. Australian J. Basic and Applied Sciences. 2 (3): 549-560.

23- Naragana, L. and H. Sayamala. 1989. Response of Pigeon pea (*Cajanes cajan* L.) genotypes to aluminum toxicity, Indian. J. Plant Physiol. 32: 17-24.

24- Nosko, P.P., J.R. Brassard, K. Kramer and A. Kershaw. 1988. Germination and early seedling establishment, growth and respiration of white spruce (*Picea glavca*). Can. J. Bot. 6: 2305-2310.

25- Ogawa, T., C. Matsumoto and T. Tezuka. 2000. Effect of Ca on Al-induced activation of antioxidant enzymes in the needles of Hinoki Cypress (*Chamaecyparis obtuse*). Journal of Forest Research. 5: 81-85.

26- Pinachable, M. and S. Sotomoyor. 2001. Phospholipase activity from *Cathuranthes reseustrans* formed roots, aluminum effect prostaglandins and other lipid mediators. 65: 45-56.

27- Pineros, M. A., G.M.A. Cancxado and L.V. Kochian. 2008. Novel properties of the wheat aluminum tolerance organic acid transporter (TaALMT1) revealed by electrophysiological characterization in Xenopus oocytes: Functional and structural implications. Plant Physiology 147: 2131-2146.

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

29- Ryan, P.R., J.M. Ditomaso and L.V. Kochian. 1993. Aluminum toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. Botany. 44: 437-446.

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

31- Schubert, S. and F. Yan. 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.

32- Yamamoto, Y., Y. Kobayashi, R.S. Devi, S. Rikiishi and H. Matsumoyo. 2002. Aluminum toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and production of reactive oxygen species in plant cells. Plant Physiology. 128: 63-72.

33- Yousefi, N.O., F. Etemadi, M.A. Bahrami, A.A. Fatehezade, K. Ahmadi and K. Beshlideh. 2009. Structural relationships between Self-differentiation and subjective wellbeing. Mental health and marital quality “Fitting Bowen's Theory”. Iranian J. Psychiatry and Behavioral Sciences. 3: 4–14.

The effect of different concentrations of aluminum on the enzymatic activity and some physiological parameters of *Phaseolus vulgaris* L.

Heidari R., Goudarzi M. and Lari Yazdi H.

Biology Dept., College of Science, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, I.R. of Iran

Abstract

Aluminum is one of the metals that showed toxic effects on various plants. Decreasing of pH in the soil will cause to solve Al^+ ions, and absorbed by the roots of the plants; thus it can influence the growth of the plant. In this research, the toxic impact of aluminum on some physiological functions of the bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) is studied. Bean seeds were germinated on the wet papers and cultured in the hydroponics environment, and then treated by various aluminum concentrations (30, 40 and 50 millimolar). Results showed that aluminum cause to decrease of germination, length of the root and stem and insoluble sugars in the root of the Al-treated plants under 10 and 20 days. The activity of catalase and peroxidase, and the amounts of soluble sugars and total proteins were increased in the roots of the aluminum-treated plants. The later one can be related to production of detoxifying proteins that were reported in some prior reports.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, Aluminum, Peroxidase, Catalase, Carbohydrate, Protein