



فصلنامه علمی - پژوهشی گیاه و زیست بوم

سال ۸، شماره ۳۰، بهار ۱۳۹۱

بررسی اثرات آلودگی سرب بر محتوی پروتیین‌ها و میزان قندهای محلول و نامحلول تحت تیمار اسید سالیسیلیک در گیاه کلزا رقم اکاپی

شیدا برومند جزی^{۱*}، منیره رنجبر^۱، حسین لاری یزدی^۲

چکیده

در پژوهش حاضر تاثیر غلظت‌های مختلف نیترات سرب ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار و اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۱۰ و ۵ میکرومولار بر محتوی پروتیین‌ها و تغییرات قندهای محلول و نامحلول (نشاسته) گیاه کلزا *Brassica napus L.* رقم اکاپی در محیط کشت هیدروپونیک و با استفاده از محلول غذایی هوگلند انجام گرفت. دوره‌ی رشد گیاهان ۱۰ روز بود. آنالیزهای آماری به وسیله نرم افزار SPSS و آزمون دانکن انجام گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب میزان قندهای محلول و نامحلول در ریشه و اندام هوایی به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.01$)، همچنین محتوی پروتیین‌ها با افزایش غلظت نیترات سرب در ریشه‌ها افزایش و در اندام هوایی کاهش یافت. افزایش میزان قندهای محلول و نامحلول در ریشه و اندام هوایی گیاهانی که تحت تیمار توام سرب و اسیدسالیسیلیک بودند نشان‌دهنده‌ی نقش اسیدسالیسیلیک در افزایش مقاومت این گیاه در برابر تنش می‌باشد. کاهش میزان پروتیین‌ها در ریشه و افزایش آن در اندام هوایی تحت تیمار سرب و اسیدسالیسیلیک نیز نشان‌دهنده‌ی کاهش خسارت اکسیداتیو در این گیاه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسیدسالیسیلیک، پروتیین، سرب، قند محلول، نشاسته، کلزا

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، گروه زیست شناسی، فلاورجان، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، گروه زیست شناسی، بروجرد، ایران

* مکاتبه کننده. (sheida_bg@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: تابستان ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: بهار ۱۳۹۰

مقدمه

فکر امروز بشر برای نجات محیط زیست از خطرات ناشی از فلزات سنگین بیش تر معطوف به فلز سرب است. وجود آلاینده‌های سربی در خاک بر میزان تولید محصولات کشاورزی اثرات فاحشی دارد. بیش ترین میزان سرب از طریق سیستم‌های ریشه‌ای جذب گیاهان می‌شود و مقدار ناچیزی هم از طریق برگ به‌ویژه برگ‌های دارای کرک، جذب گیاهان می‌گردد (Kabata, 2001). سرب بعد از جذب توسط گیاه موجب مسمومیت آن می‌شود، مسمومیت سرب نیز موجب کاهش رشد، زردی برگ‌های جوان، کاهش فتوسنتز و کاهش محتوای کربوهیدرات‌ها می‌گردد (Lin et al., 2009).

گیاهان برای کاهش سمیت سرب دارای مکانیسم‌های متفاوتی هستند که شامل تولید عوامل پروتیین‌های باندشونده به فلزات سنگین (متالوتیونین و گلوکاتینون)، جلوگیری از ورود فلزات سنگین به سلول‌ها به وسیله‌ی انتخاب انتقال یون فلز و دفع فلز یا کده‌بندی کردن در واکوئل می‌باشند (Hu & Lau, 2001). یکی دیگر از مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش، بیوسنتز و تجمع مواد آلی با وزن مولکولی کم است که کربوهیدرات‌های احیاکننده‌ی داخل سلول‌ها از این دسته‌اند. در بین قندهای محلول، سوکروز و فروکتان‌ها نقش مهمی در سازش با تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند (Zhu, 2002).

سالیسیلیک اسید به عنوان یک مولکول مهم در پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش‌های محیطی محسوب می‌شود و همچنین تنظیم‌کننده‌ی فرآیندهای فیزیولوژیکی متعددی است (Popova, 1997). اکنون این ماده به عنوان شبه هورمون معرفی شده است که نقش مهمی در تنظیم

و نمو گیاهی، نسخه‌برداری، عملکرد روزنه‌ها، محتوی کلروفیل، جوانه‌زنی، میوه‌دهی، گلیکولیز، گلدهی، تقسیم سیتوپلاسم، تاثیر بر جذب مواد، جذب یون‌ها توسط ریشه، انتقال یون، جلوگیری از جذب پتاسیم و فسفر، جلوگیری از سنتز اتیلن، افزایش میزان رشد، فتوسنتز و تولید گرما ایفا می‌کند (Horvath & Szalai, 2007). از آنجایی که اسید سالیسیلیک، یک تنظیم‌کننده‌ی مهم برای القا مقاومت گیاه در برابر تنش‌های زیستی (پاتوژن‌ها) و غیر زیستی (خشکی، سرما و شوری) می‌باشد (Korkmaz & Uzunlu, 2007) در نتیجه بیوسنتز و تنظیم آن به میزان زیادی مورد توجه قرار گرفته است.

کلزا با نام علمی *Brassica napus* L. گیاهی علفی و از مهم‌ترین گیاهان زراعی دانه روغنی محسوب می‌شود که به دلیل داشتن کم‌ترین میزان اسید چرب اشباع امروزه مورد توجه قرار گرفته است (صفا، ۱۳۸۲).

اگر چه پیرامون اثرات سمی سرب و همچنین ترکیبات حاوی آن بر میزان محصول و رشد گیاهان زراعی تحقیقاتی صورت گرفته است (حیدری و خیامی، ۱۳۸۴؛ Azza, 2006)، لیکن در مورد این عنصر سمی به همراه اسیدسالیسیلیک بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه مورد بررسی پژوهشی صورت نگرفته بنابراین انجام این تحقیق ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

پس از تهیه‌ی بذرهای گیاه کلزا رقم اکاپی از موسسه جهاد کشاورزی استان لرستان به کشت آن‌ها اقدام شد.
ابتدا بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ ضد

اضافه گردید. بدین ترتیب محلول زرد رنگی بدست آمد که به مرور زمان تغییر رنگ می‌دهد و به قهوه‌ای روشن تمایل پیدا می‌کند، سپس این محلول نیم ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفت و شدت رنگ بدست آمده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد. برای اندازه‌گیری قندها ابتدا منحنی استاندارد گلوکز تهیه گردید و سپس با قرار دادن مقدار OD خوانده شده در معادله، میزان تغییرات قندها مشخص گردید که مقدار قند نمونه با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی گردید.

اندازه‌گیری قند نامحلول (نشاسته)

محلول اتانول محتوی نمونه‌های گیاهی که برای قندهای محلول استفاده گردید را صاف نموده و سپس از رسوب باقی‌مانده بر روی کاغذ صافی برای اندازه‌گیری نشاسته موجود در اندام‌های گیاهی استفاده شد. ابتدا رسوب را خشک و سپس آن را وزن و در لوله‌ی آزمایش ریخته و به آن ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری آب جوش قرار گرفت و سپس آن را صاف و حجم محلول عبور کرده از صافی را با آب مقطر به ۲۵ میلی‌لیتر رساندیم، در نهایت ۲ml از این محلول برداشت گردید و قندهای نامحلول را به روش فنل-اسید سولفوریک که در بالا ذکر شد و در طول موج ۴۸۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد و معادله بدست آمده میزان قندهای نامحلول را تعیین کردیم.

اندازه‌گیری پروتئین

۰/۲ گرم از ماده‌ی خشک ریشه و اندام هوایی را به‌طور جداگانه در یک هاون چینی به کمک

عفونی سطحی شدند و سپس بر روی سبدهایی به ابعاد ۲×۴ mm تا ظهور مرحله‌ی دو برگگی رشد کردند، سپس به ظروف تیره ۶۵۰ میلی‌لیتری حاوی محلول هوگلند نیم قدرت انتقال یافتند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت تحت تیمارهای مختلف نیترات سرب با غلظت‌های (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار) و سرب با غلظت‌های فوق به همراه اسیدسالیسیلیک (۱۰ μM و ۵) در سه تکرار درون ژرمیناتوری تحت دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. طول دوره‌ی روشنایی و تاریکی به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت بود. دوره‌ی رشد گیاهان ۱۰ روز در نظر گرفته شد. بعد از گذشت ۱۰ روز گیاهان به منظور سنجش تغییرات قندهای محلول و نامحلول (نشاسته) و همچنین میزان تغییرات پروتئین مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاه جدا شدند و در آن ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری گردیدند، سپس سنجش قندها با استفاده از روش (Kochert, 1978) و سنجش پروتئین‌ها با استفاده از روش (Lowry, 1951) انجام گرفت.

اندازه‌گیری قندهای محلول

۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی (ریشه و اندام هوایی) را وزن و در لوله آزمایش ریخته و بر روی آن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ اضافه گردید و به مدت یک هفته در یخچال قرار گرفت تا قندهای محلول آن حل شوند. پس از گذشت یک هفته برای ساقه و برگ ۰/۵ میلی‌لیتر و برای ریشه‌ی ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی نمونه برداشته و حجم آن را با آب مقطر به ۲ میلی‌لیتر رسانده و سپس بر روی آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد اضافه و خوب هم‌زده و به روی آن ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ با فشار

محیط Excel ترسیم شدند و نتایج به صورت نمودارهای مقایسه‌ای آرایه شد.

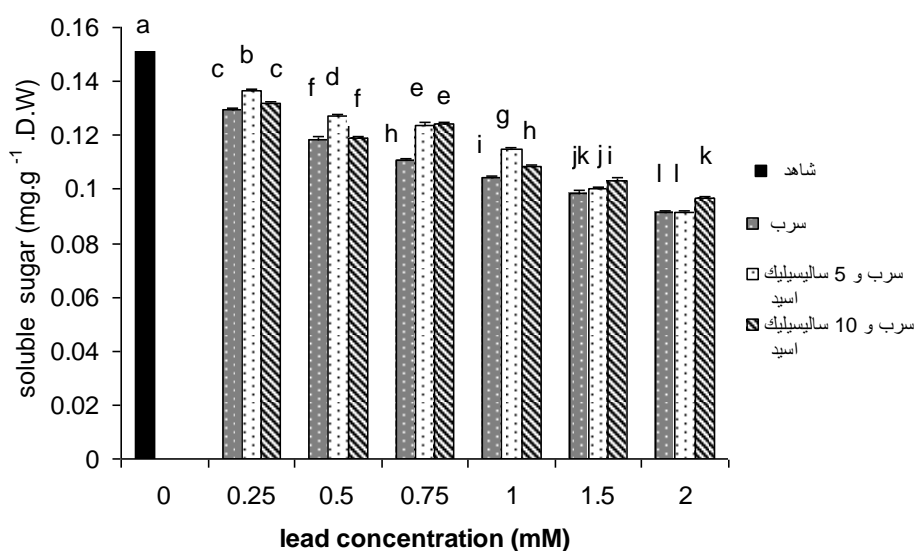
نتایج

تغییرات مقدار قندهای محلول در ریشه

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت نیتрат سرب، مقدار قندهای محلول در ریشه کاهش معنی‌داری یافتند ($P < 0.01$). میانگین قند محلول در ریشه‌ی گیاهان ۱۰ روزه‌ی اکاپی تحت تیمارهای نیترات سرب از $0.151 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DW}$ در شاهد به $0.129 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DW}$ در غلظت 0.25 میلی‌مولار سرب و سرانجام به $0.091 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DW}$ در غلظت ۲ میلی‌مولار سرب کاهش یافت. کاربرد توام سرب و اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0.01$) میزان قندهای محلول در ریشه نسبت به تیمارهای سرب گردید. تفاوت اثرات دو غلظت اسید سالیسیلیک به کاررفته در سطح ($P < 0.05$) معنی‌دار بوده است (شکل ۱).

۱ میلی‌لیتر بافرتریس ساییده و سپس محتویات به درون لوله‌ی سانتریفوژ منتقل و به مدت ۴۰ دقیقه با دور 5000 g سانتریفوژ شد، پس از آن ۵۰ میکرولیتر از محلول رویی هر نمونه برداشته شد و به روی آن ۹۵۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه گردید، سپس ۱ میلی‌لیتر معرف لوری اضافه شد و سپس ۳ میلی‌لیتر معرف فولین به آن افزوده گردید و لوله‌ها در بن‌ماری قرار گرفتند و پس از خارج شدن از بن‌ماری جذب نوری محلول در طول موج 750 نانومتر خوانده و سپس با رسم منحنی استاندارد پروتیین، میزان پروتیین بر اساس میلی‌گرم در لیتر و سپس براساس میلی‌گرم در گرم ماده خشک بدست آمد.

آزمایش‌های مختلف در قالب طرح کامل تصادفی به صورت فاکتوریل در سه تکرار به اجرا در آمده است. سپس به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی‌های آماری از نرم‌افزار SPSS و جدول آنالیز واریانس و آزمون Duncan استفاده و نمودارها در



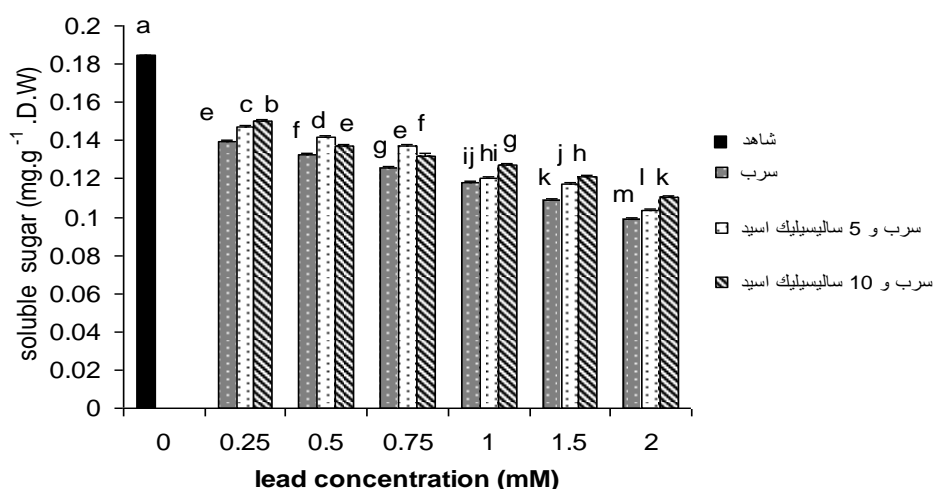
شکل ۱- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار قندهای محلول در ریشه رقم اکاپی

کاهش یافت. با به کارگیری اسید سالیسیلیک توام با سرب، میانگین قندهای محلول اندام هوایی نسبت به تیمارهای سرب افزایش معنی داری یافت ($P < 0.01$). بر اساس جدول آنالیز واریانس، بین دو غلظت اسید سالیسیلیک اختلاف معنی داری در سطح ($P < 0.05$) مشاهده شد (شکل ۲).

تغییرات مقدار قندهای محلول

در اندام هوایی

قندهای محلول در اندام هوایی گیاهان ۱۰ روزهی اکاپی با افزایش غلظت نیترات سرب در محلول غذایی هوگلند، کاهش معنی داری یافتند ($P < 0.01$). در گیاهان ۱۰ روزهی اکاپی میانگین قند محلول در اندام هوایی، تحت تیمارهای نیترات سرب از $0.184 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DW}$ در شاهد به



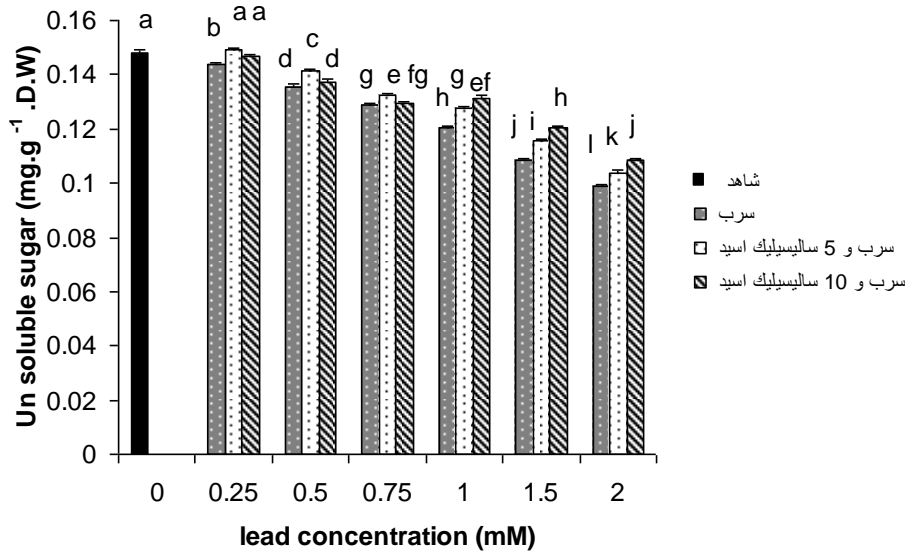
شکل ۲- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار قندهای محلول در اندام هوایی رقم اکاپی

کاربرد اسید سالیسیلیک با دو غلظت ۱۰ و ۵ میکرومولار توام با غلظت‌های مختلف سرب میزان قندهای نامحلول اندام هوایی را نسبت به تیمارهای سرب افزایش داد ($P < 0.01$). براساس آزمون دانکن به جز غلظت توام 0.25 میلی مولار سرب با دو غلظت ۱۰ و ۵ میکرومولار اسید سالیسیلیک، سایر غلظت‌ها با شاهد اختلاف معنی داری را نشان دادند (شکل ۳).

تغییرات مقدار قندهای نامحلول

در اندام هوایی

مقدار قندهای نامحلول (نشاسته) نیز با افزایش غلظت نیترات سرب در اندام هوایی کاهش معنی داری یافت ($P < 0.01$) و این کاهش در تمام غلظت‌ها نسبت به شاهد معنی دار بوده است و بیشترین کاهش مربوط به غلظت ۲ میلی مولار سرب با مقدار $0.098 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DW}$ بوده است.

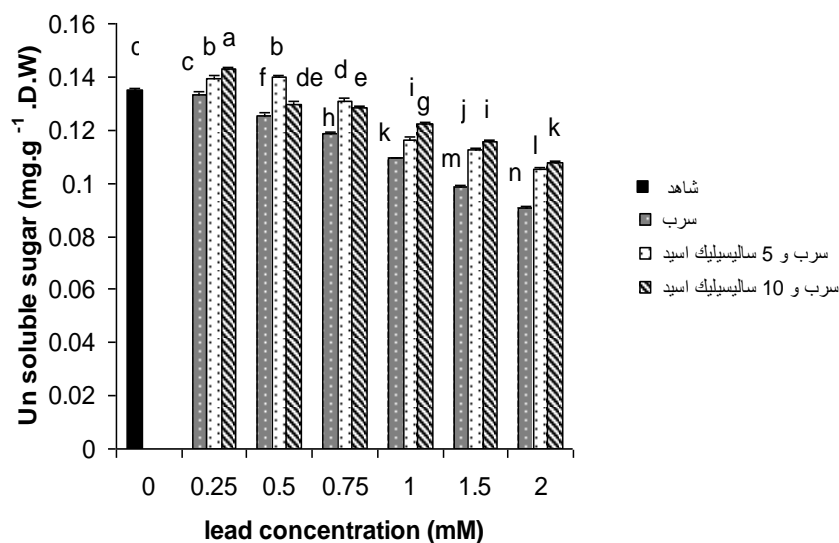


شکل ۳- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار قندهای نامحلول در اندام هوایی رقم اکاپی

در نهایت در غلظت ۲ میلی مولار سرب به $0.090 \text{ mg.g}^{-1} \text{DW}$ کاهش یافت. براساس آزمون دانکن به جز غلظت ۰/۲۵ میلی مولار سرب، سایر غلظت‌ها با شاهد اختلاف معنی داری را نشان دادند. تحت تیمار توام سرب و اسید سالیسیلیک، میانگین نشاسته در ریشه به طور معنی داری نسبت به تیمارهای سرب افزایش یافت ($P < 0.01$) (شکل ۴).

تغییرات مقدار قندهای نامحلول در ریشه

مقدار نشاسته در ریشه ی رقم اکاپی همزمان با بالا رفتن غلظت نیترات سرب، کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0.01$). میانگین مقدار نشاسته در ریشه ی گیاه، تحت تیمارهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی مولار سرب از $0.134 \text{ mg.g}^{-1} \text{DW}$ در شاهد به ترتیب به ۰/۱۳۳، ۰/۱۲۵، ۰/۱۱۸، ۰/۱۰۹، ۰/۰۹۸ و

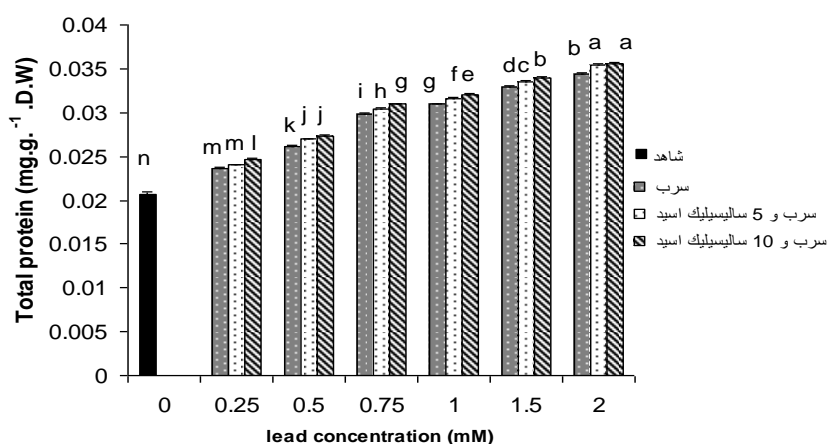


شکل ۴- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار قندهای نامحلول در ریشه رقم اکاپی

۲ میلی مولار سرب با مقدار $0.34 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ بوده است. تحت تیمارهای نیترا سرب به همراه اسید سالیسیلیک، میزان پروتئین‌ها در ریشه نسبت به تیمارهای سرب کاهش یافت ولی کاهش حاصل شده معنی‌دار نبوده است ($P < 0.05$) (شکل ۵).

تغییرات میزان پروتئین در ریشه

با افزایش غلظت نیترا سرب، میزان پروتئین در ریشه افزایش معنی‌داری یافت ($P < 0.01$). این افزایش در همه ی غلظت‌ها نسبت به شاهد معنی‌دار بوده است. بیش‌ترین افزایش پروتئین در ریشه ی گیاهان ۱۰ روزه ی اکاپی مربوط به غلظت

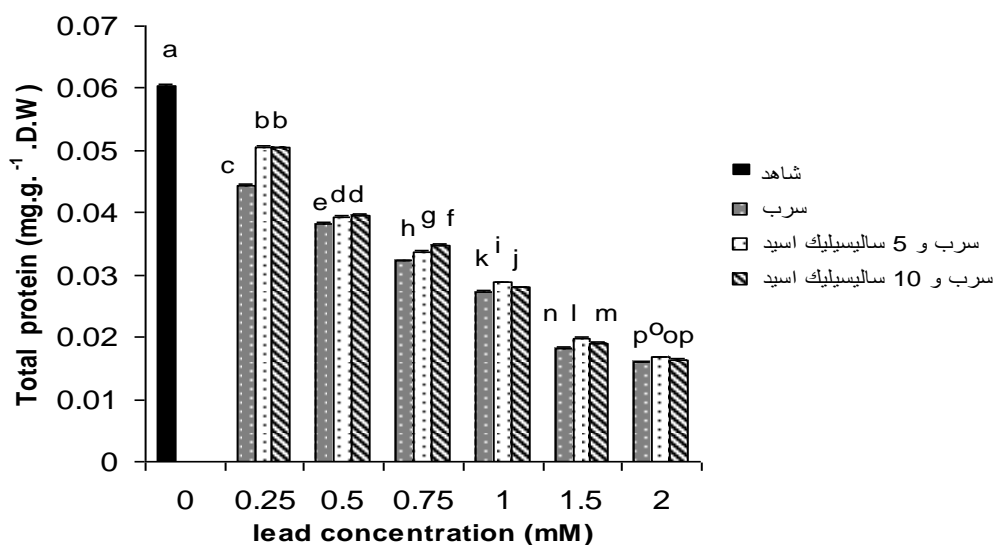


شکل ۵- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار پروتئین‌های کل در ریشه رقم اکاپی

تغییرات میزان پروتئین در اندام هوایی

با افزایش غلظت نیترات سرب در محلول غذایی هوگلدن، میزان پروتئین در اندام هوایی گیاهان ۱۰ روزه‌ی اکاپی به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<0.01). در برگ گیاهان ۱۰ روزه‌ی اکاپی بیش‌ترین کاهش مربوط به غلظت ۲ میلی‌مولار

سرب با مقدار $0.15 \text{ mgg}^{-1} \text{DW}$ و کم‌ترین کاهش مربوط به غلظت 0.25 میلی‌مولار سرب با مقدار $0.44 \text{ mgg}^{-1} \text{DW}$ بوده است. تحت تیمارهای نیترات سرب به همراه اسید سالیسیلیک، مقدار پروتئین برگ نسبت به تیمارهای سرب افزایش معنی‌داری یافت (P<0.05) (شکل ۶).



شکل ۶- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار پروتئین‌های کل در اندام هوایی رقم اکاپی

کلیه داده‌ها در جدول‌های ۱ تا ۷ ارائه شده است.

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر

قندهای محلول در ریشه گیاهان رقم اکاپی

میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منابع تغییرات
0.002^{**}	۶	0.014	سرب
$2/53 * 10^{-5}$	۱	$2/53 * 10^{-5}$	اسید سالیسیلیک
$3/70 * 10^{-5}$	۶	0.000	سرب × اسید سالیسیلیک
$2/02 * 10^{-6}$	۲۸	$5/64 * 10^{-5}$	خطا
	۴۲	0.618	کل

★★ در سطح ۱ درصد معنی‌دار و ★ در سطح ۵ درصد معنی‌دار و NS معنی‌دار نبوده است.

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر

قندهای محلول در اندام هوایی گیاهان رقم اکاپی

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
سرب	۰/۲۳	۶	۰/۰۰۴**
اسید سالیسیلیک	۲/۶۱*۱۰ ^{-۵}	۱	۲/۶۱*۱۰ ^{-۵} *
سرب × اسید سالیسیلیک	۰/۰۰۰	۶	۳/۷۲*۱۰ ^{-۵} **
خطا	۵/۰۱*۱۰ ^{-۵}	۲۸	۱/۷۹*۱۰ ^{-۶}
کل	۰/۸۰۸	۴۲	

★ ★ در سطح ۱ درصد معنی‌دار و ★ در سطح ۵ درصد معنی‌دار و NS معنی‌دار نبوده است.

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر

قندهای نامحلول در اندام هوایی گیاهان رقم اکاپی

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
سرب	۰/۰۰۹	۶	۰/۰۰۱**
اسید سالیسیلیک	۳/۱۵*۱۰ ^{-۶}	۱	۳/۱۵*۱۰ ^{-۶} *
سرب × اسید سالیسیلیک	۰/۰۰۰	۶	۲ / ۱۳*۱۰ ^{-۵} **
خطا	۴/۴۸*۱۰ ^{-۵}	۲۸	۱/۶۰*۱۰ ^{-۶}
کل	۰/۷۳۵	۴۲	

★ ★ در سطح ۱ درصد معنی‌دار و ★ در سطح ۵ درصد معنی‌دار و NS معنی‌دار نبوده است.

جدول ۴- جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر

قندهای نامحلول در ریشه گیاهان رقم اکاپی

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
سرب	۰/۰۰۶	۶	۰/۰۰۱**
اسید سالیسیلیک	۱/۰۷*۱۰ ^{-۶}	۱	۱/۰۷*۱۰ ^{-۶} *
سرب × اسید سالیسیلیک	۰/۰۰۰	۶	۴/۱۱*۱۰ ^{-۵} **
خطا	۵/۳۲*۱۰ ^{-۵}	۲۸	۱/۹۰*۱۰ ^{-۶}
کل	۰/۶۷۰	۴۲	

★ ★ در سطح ۱ درصد معنی‌دار و ★ در سطح ۵ درصد معنی‌دار و NS معنی‌دار نبوده است.

جدول ۵- جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر پروتیین در ریشه گیاهان رقم اکاپی

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
سرب	۰/۰۰۱	۶	۰/۰۰۰***
اسید سالیسیلیک	۱/۴۱*۱۰ ^{-۶}	۱	۱/۴۱*۱۰ ^{-۶} ***
سرب×اسید سالیسیلیک	۵/۶۰*۱۰ ^{-۷}	۶	۹/۳۳*۱۰ ^{-۸} *
خطا	۱/۸۲*۱۰ ^{-۶}	۲۸	۶/۵۰*۱۰ ^{-۸}
کل	۰/۰۳۷	۴۲	

*** در سطح ۱ درصد معنی‌دار و * در سطح ۵ درصد معنی‌دار و NS معنی‌دار نبوده است.

جدول ۶- جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر

پروتیین در اندام هوایی گیاهان رقم اکاپی

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
سرب	۰/۰۰۹	۶	۰/۰۰۲***
اسید سالیسیلیک	۶/۸۸*۱۰ ^{-۸}	۱	۶/۸۸*۱۰ ^{-۸} *
سرب × اسید سالیسیلیک	۳/۴۹*۱۰ ^{-۶}	۶	۵/۸۲*۱۰ ^{-۷} *
خطا	۳/۰۳*۱۰ ^{-۶}	۲۸	۱/۰۸*۱۰ ^{-۷}
کل	۰/۰۶۲	۴۲	

*** در سطح ۱ درصد معنی‌دار و * در سطح ۵ درصد معنی‌دار و NS معنی‌دار نبوده است.

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های صفات مورد مطالعه در کلزا رقم اکاپی ۱۰ روز پس از تیمار

پروتیین اندام هوایی (mg.g ⁻¹ DW)	پروتیین ریشه (mg.g ⁻¹ DW)	قند نامحلول ریشه (mg.g ⁻¹ DW)	قند نامحلول اندام هوایی (mg.g ⁻¹ DW)	قند محلول اندام هوایی (mg.g ⁻¹ DW)	قند محلول ریشه (mg.g ⁻¹ DW)	سرب (mM) / اسید سالیسیلیک (μM)
۰/۰۶۰a	۰/۰۲۱n	۰/۱۳۵c	۰/۱۴۸a	۰/۱۸۴a	۰/۱۵۱a	۰ - ۰
۰/۰۵۰b	۰/۰۲۵l	۰/۱۴۳a	۰/۱۴۷a	۰/۱۵۰b	۰/۱۳۲c	۰/۲۵ - ۱۰
۰/۰۵۱b	۰/۰۲۴m	۰/۱۴۰b	۰/۱۴۹a	۰/۱۴۷c	۰/۱۳۷b	۰/۲۵ - ۵
۰/۰۴۴c	۰/۰۲۳m	۰/۱۳۳c	۰/۱۴۴b	۰/۱۳۹e	۰/۱۳۰c	۰/۲۵
۰/۰۴۰d	۰/۰۲۷j	۰/۱۳۰de	۰/۱۳۸d	۰/۱۳۸e	۰/۱۱۹f	۰/۵ - ۱۰
۰/۰۳۹d	۰/۰۲۷j	۰/۱۴۰b	۰/۱۴۲c	۰/۱۴۲d	۰/۱۲۷d	۰/۵ - ۵
۰/۰۳۸e	۰/۰۲۶k	۰/۱۲۶f	۰/۱۳۶d	۰/۱۳۳f	۰/۱۱۹f	۰/۵
۰/۰۳۵f	۰/۰۳۱g	۰/۱۲۸e	۰/۱۳۰fg	۰/۱۳۲f	۰/۱۲۴e	۰/۷۵ - ۱۰
۰/۰۳۴g	۰/۰۳۰h	۰/۱۳۱d	۰/۱۳۳e	۰/۱۳۷e	۰/۱۲۴e	۰/۷۵ - ۵

ادامه جدول ۷

پروتیین اندام هوایی (mg.g ⁻¹ DW)	پروتیین ریشه (mg.g ⁻¹ DW)	قند نامحلول ریشه (mg.g ⁻¹ DW)	قند نامحلول اندام هوایی (mg.g ⁻¹ DW)	قند محلول اندام هوایی (mg.g ⁻¹ DW)	قند محلول ریشه (mg.g ⁻¹ DW)	سرب (mM) اسید سالیسیلیک (μM)
۰/۰۳۲ h	۰/۰۳۰ i	۰/۱۱۹ h	۰/۱۲۹ g	۰/۱۲۶ g	۰/۱۱۱ h	۰/۷۵
۰/۰۲۸ j	۰/۰۳۲ e	۰/۱۲۲ g	۰/۱۳۲ e f	۰/۱۲۷ g	۰/۱۰۸ h	۱ - ۱۰
۰/۰۲۹ i	۰/۰۳۲ f	۰/۱۱۷ i	۰/۱۲۸ g	۰/۱۲۰ h i	۰/۱۱۵ g	۱ - ۵
۰/۰۲۷ k	۰/۰۳۱ g	۰/۱۰۹ k	۰/۱۲۰ h	۰/۱۱۸ i j	۰/۱۰۴ i	۱
۰/۰۱۹ m	۰/۰۳۴ b	۰/۱۱۶ i	۰/۱۲۰ h	۰/۱۲۱ h	۰/۱۰۳ i	۱/۵ - ۱۰
۰/۰۲۰ l	۰/۰۳۴ c	۰/۱۱۲ j	۰/۱۱۵ i	۰/۱۱۷ j	۰/۱۰۰ j	۱/۵ - ۵
۰/۰۱۸ n	۰/۰۳۳ d	۰/۰۹۹ m	۰/۱۰۸ j	۰/۱۰۹ k	۰/۰۹۹ j k	۱/۵
۰/۰۱۶ o p	۰/۰۳۶ a	۰/۱۰۷ k	۰/۱۰۹ j	۰/۱۱۰ k	۰/۰۹۷ k	۲ - ۱۰
۰/۰۱۷ o	۰/۰۳۵ a	۰/۱۰۵ l	۰/۱۰۴ k	۰/۱۰۳ l	۰/۰۹۲ l	۲ - ۵
۰/۰۱۶ p	۰/۰۳۴ b	۰/۰۹۱ n	۰/۰۹۹ l	۰/۰۹۹ m	۰/۰۹۱ l	۲

آزادکننده اکسیژن در فتوسیستم II نقش دارند (از طریق رقابت) جلوگیری می کند و در نتیجه اتصال سرب به ساختار LHC II ساختار این کمپلکس از حالت طبیعی خارج شده به این ترتیب میزان قندهای محلول حاصل از فتوسنتز کاهش پیدا می کند که با یافته های ما همسو است. تحت تیمارهای سرب به همراه اسید سالیسیلیک، میانگین قندهای محلول در ریشه و اندام هوایی نسبت به تیمارهای سرب افزایش یافت. سالیسیلیک اسید باعث تاخیر در کاهش مقدار رنگیزه های فتوسنتزی در شرایط تنش شده بنابراین به دلیل تعدیل در کاهش مقدار رنگیزه های فتوسنتزی و شاید حفظ روبیسکو باعث افزایش مقدار قندها می شود (Popova et al., 2003).

بحث و نتیجه گیری

تغییرات قندهای محلول

در پژوهش حاضر میزان قندهای محلول در برگ و ریشه کاهش معنی داری یافتند ($P < 0.01$) علی رغم وجود گزارش هایی در مورد افزایش مقادیر قندهای محلول تحت تنش مس (Hendry & Baker, 1992) گزارشی نیز حاکی از کاهش میزان قند محلول در اثر تنش سرب در گیاهان مختلف وجود دارد (Sharma & Dubey, 2004; Oliver & Nadiv, 2003; Saleh & Al-Garni, 2006). Sharma & Dubey (2004) و Oliver & Nadiv (2003) علت این پدیده را این گونه توجیه کردند که سرب از جذب عناصری مثل Mn, Fe, Mg که در ساختار کلروفیل و کمپلکس

تغییرات قندهای نامحلول (نشاسته)

مقدار نشاسته نیز در ریشه و اندام هوایی با افزایش غلظت نیترات سرب کاهش یافت که با یافته‌های (Azza, 2005) مطابقت دارد که بیان می‌کند با افزایش غلظت سرب در گیاه نامحلول و محلول در مقایسه با گیاه شاهد کاسته شد.

کاهش مقدار نشاسته بر اثر افزایش غلظت نیترات سرب که به صورت معنی‌داری ($P < 0.01$) در ریشه و اندام هوایی دیده شد دلیلی بر این ادعاست که فلزات سنگین اثر منفی و بازدارنده روی فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز منبع نشاسته ایجاد می‌کنند و با بازدارندگی عمل آنزیم‌ها مانع از سنتز نشاسته در گیاهان می‌شوند (Van Huylenbroeck & Debergh, 1996).

تحت تیمارهای نیترات سرب به همراه اسید سالیسیلیک مقدار نشاسته در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت همچنین در گیاهانی مانند جو، گندم، لوبیا و گوجه فرنگی طی تنش اکسایشی مقدار تجمع قندها با تیمار اسید سالیسیلیک افزایش یافت و افزایش مقدار قندها و ایجاد شیب اسمزی در گیاهان منجر به مقاومت در برابر از دست رفتن آب و تسریع رشد گیاهان در شرایط تنش می‌شود (Inze & Montagu, 2000). تیمار اسید

سالیسیلیک سیستم آنزیمی هیدرولیزکننده‌ی پلی ساکاریدها را مهار و مختل می‌کند یا به عبارت دیگر، تبدیل قندهای محلول به نامحلول (نشاسته) را تسریع می‌کند (Khodary, 2004).

تغییرات مقدار پروتیین‌ها

با مقایسه‌ی میانگین پروتیین‌ها مشخص گردید که

با افزایش غلظت نیترات سرب، مقدار پروتیین‌ها در ریشه افزایش و در اندام هوایی کاهش یافت. افزایش پروتیین‌ها علی‌رغم کاهش رشد در گیاهان تیمار شده بیانگر افزایش پروتیین‌هایی با وزن مولکولی کم می‌باشد که سنتز این نوع پروتیین‌ها در شرایط تنش افزایش پیدا می‌کند. وقتی گیاهان در معرض سمیت فلزات سنگین مثل سرب قرار می‌گیرند سنتز پلی‌پتیدهای غنی از سیستمین مانند فیتوکلانتین و متالوتیونین‌ها افزایش پیدا می‌کند (Cobbett, 2000; Gaspar & Anton, 2002).

در حالی که کاهش میزان پروتیین در اندام هوایی ممکن است ناشی از باند شدن سرب با اسیدهای نوکلئیک که سبب تجمع و تراکم کروماتین و تثبیت مارپیچ مضاعف DNA و به دنبال آن مانع از فرایندهای رونویسی و ترجمه می‌گردد باشد (Valle & Ulmer, 1972). همچنین John *et al* (2008) کاهش میزان پروتیین‌ها را ناشی از کاهش سنتز پروتیین‌ها، مهار رشد گیاه بر اثر سمیت با سرب بیان کردند. بنابراین مقایسه نتایج ریشه و اندام هوایی نشان می‌دهد که در اثر تنش اعمال شده، برخی پروتیین‌ها افزایش یافته و فعال‌تر می‌شوند و برخی دیگر مانند پروتیین‌های غشایی و دیواره‌ای به علت نشست سرب بر دیواره و آسیب کانال‌های یونی غشاها کاهش می‌یابند (Zimdahl, 1975).

تحت تیمارهای نیترات سرب به همراه اسید سالیسیلیک، میزان پروتیین‌ها در ریشه کاهش و در اندام هوایی افزایش یافت که با یافته‌های (Rashkin, 1992; Popva *et al.*, 2003) مطابقت دارد که بیان می‌کنند اسید سالیسیلیک بر تشکیل پروتیین‌های دفاعی، انواع پروتیین کیناز و روبیسکو

ظرفیت‌های این گیاه حداکثر استفاده را به عمل آورد. همچنین به نظر می‌رسد کاربرد اسید سالیسیلیک در این تحقیق از طریق افزایش مواد اسمزی سبب افزایش سازگاری گیاه به شرایط تنش شده است. بنابراین با توجه به نقش تعدیل‌کننده‌ی اسید سالیسیلیک در پژوهش حاضر که سبب مقاومت و سازگاری گیاه مذکور تحت تنش سرب گردید، لذا به کارگیری این هورمون جهت افزایش بازدهی گیاهان تحت تنش‌های محیطی دیگر توصیه می‌شود.

اثر می‌گذارد. همچنین اثبات شده که اسید سالیسیلیک سنتز پروتئین‌های مهارکننده پروتئازهای گیاهی را القا می‌کند.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که هر چند مسمومیت سرب اثراتی را بر فاکتورهای فیزیولوژیکی گیاه کلزا داشته است اما کلزا اثرات مسمومیت را تحمل کرده، بنابراین چون گیاهچه‌های کلزا رقم اکاپی توانستند غلظت ۲ میلی‌مولار سرب را تحمل کنند لذا این گیاه برای آلودگی خاک‌های آلوده به سرب از توانایی بالقوه‌ای برخوردار بوده و با کشت این محصول در خاک‌های آلوده می‌توان از

منابع

- حیدری، ر.، م.خیامی، و ط.فربودنیا. ۱۳۸۴. اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از آلودگی سرب در دانه رسته‌های ذرت (*Zea mays* L.) مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۱۸، شماره ۳، صفحات ۲۳۶-۲۲۸.
- صفاف، ح. ۱۳۸۲. کلزا همان کانولاست، ماهنامه صنعت روغن نباتی، اردیبهشت ۸۲، صفحات ۱۰-۷.
- Azza, A. M. Mazher. 2005. Effect of some heavy metals in the irrigation water and *Dalbergia sissoo* seedlings grown in sandy soil. Minia of Agri. Research and Development., 5:947-964.
- Azza, A. M. Mazher. 2006. Response of *Leuceana leucocephala* seedlings grown under lead pollution to phosphorin application in sandy soil. Word J. Agri. Sci., 2(2):217-222.
- Cobbett, C. S. 2000. Phytochelatin biosynthesis and Function in heavy metal detoxification. curr. opin. Plant. Biol., 3: 140-152.
- Gaspar, G. M., and A. Anton. 2002. Heavy metal uptake by two radish varieties. Hungarian congress on Plant Physiol., vol: 46(3-4): 113-114.
- Hendry, G. A. F., A. M. Baker, and C. F. Ewart. 1992. Heavy metal tolerance and toxicity, oxygen radical processes and molecular damage in cadmium tolerant clones of *Holcus lanatus* L. Acta Bot. Neerl., 41:271-281.
- Horvath, E., G. Szalai, and T. Janda. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. J. Plant Growth Regul., 26:290-300.
- Hu, S. K., and M. W. Lau. 2001. Cadmium sequestration in *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Sci., 161:987-996.

- Inze,D., and M.V.Montagu.** 2000. Oxidative stress in plants, TJ. Int. Ltd, Padstow, Cornwall. Great Britain, 321 pages.
- John,R., P.Ahmad, K.Gadgil, and S.Sharma.** 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L., 54(6): 262-270.
- Kabata-pendias,A.** 2001. Trace elements in soil and plants, Third edition, PP.413.
- Khodary,S.E.A.** 2004. Effects of Salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed Maize Plants, Int. J. Agri. Biol., 6:5-8.
- Kochert,G.** 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method , In Helebust , J. A., Craig, J. S (ed) Handbook physiological methods, Cambridge university.Press, Cambridge, 96-97.
- Korkmaz,A., M.Uzunlu, and A.R.Demirkiran.** 2007. Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedling against drought stress. Acta. Physiol. Plantarum., 29:503-508.
- Lin,C.J., I.Liu, T.Liu, L.Zhu, D.Sheng, and D.Wang.** 2009. Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. Environ. Exp. Bot., 65:410-416.
- Lowry,O.H., N.J.Rosebrough, A.L.Farr, and R.J.Randall.** 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275.
- Oliver,D., and R.Nadiv.** 2003. Uptake of Cu, Pb, Cd, and DDT by vegetables grown in urban environments, Environmental protection Heritag Council (EPHC):151-161.
- Popova,L., T.Pancheva, and A.Uzunova.** 1997. Salicylic acid: Properties, biosynthesis and physiological role. Plant Physiol., 23:85-93.
- Popova,L., V.Ananieva, V.Hristova, K.Christov, K.Georgieva, V.Alexieva, and Zh.Stoinva.** 2003. Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquate oxidative stress. Bulg. J. Plant Physiol, Special issue, 133-152.
- Raskin,I.** 1992. Role of Salicylic acid in plants. Annu. Rev. Plant Physiol and Plant Molecular Biol., 43:439-461.
- Saleh,M., and S.Al-Garni.** 2006. Increased heavy metal tolerance of cowpea plants by dual inoculation of an arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen fixer *Rhizobium* bacterium. Afr. J. Biotechnol., 5:133-142.
- Sharma,P., and R.S.Dubey.** 2004. Ascorbate peroxides from rice seedling. Plant Sci., 167:541-550.
- Van Huylenbroeck,J.M., and P.C.Debergh.** 1996. Impact of sugar concentration in vitro on photosynthesis and carbon metabolism during ex vitro acclimatization of spathiphyllum plants., Plant Physiol. 96:289-304.

Valle, B.L., and D.D. Ulmer. 1972. Biochemical effects of mercury, Cadmium and Lead. *Annu. Rev. Biochem.*, 41: 19-29.

Zhu, J.K. 2002. Salt and water stress signal transduction in plant. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 53: 247-273.

Zimdahl, R.L. 1975. Entry and movement in vegetation of lead derived from air and soil sources, paper presented at 68th Annual Meeting of air pollution control association. Boston M.A. June, 2-5.