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 *Brasssica 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
* مکاتبه‌کننده. (sheida_bg@yahoo.com)

تاریخ دریافت: بهار ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: تابستان ۱۳۹۰

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

فکر امروز بشر برای نجات محیط زیست از خطرات ناشی از فلزات سنگین بیش‌تر معطوف به فلز سرب است. وجود آلاینده‌های سربی در خاک بر میزان تولید محصولات کشاورزی اثرات فاحشی دارد. بیش‌ترین 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 و پروتیین‌های باندشونده به فلزات سنگین (متالوتیونئین و گلوتاتیون)، 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 *Brasssica 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 (صفافر، 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

Archive of SID

www.SID.ir

عفونی سطحی شدند و سپس بر روی سبدهایی به ابعاد mm ۴×۲ تا ظهور مرحله‌ی دو برگی 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، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار) و سرب با غلظت‌های فوق به همراه اسیدسالیسیلیک (۵و۱۰μM) 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 پروتیین مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاه جدا شدند و در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری گردیدند، سپس سنجش قندها با استفاده از روش (Kochert, 1978) و سنجش پروتیین‌ها 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 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 پروتیین

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

Archive of SID

www.SID.ir

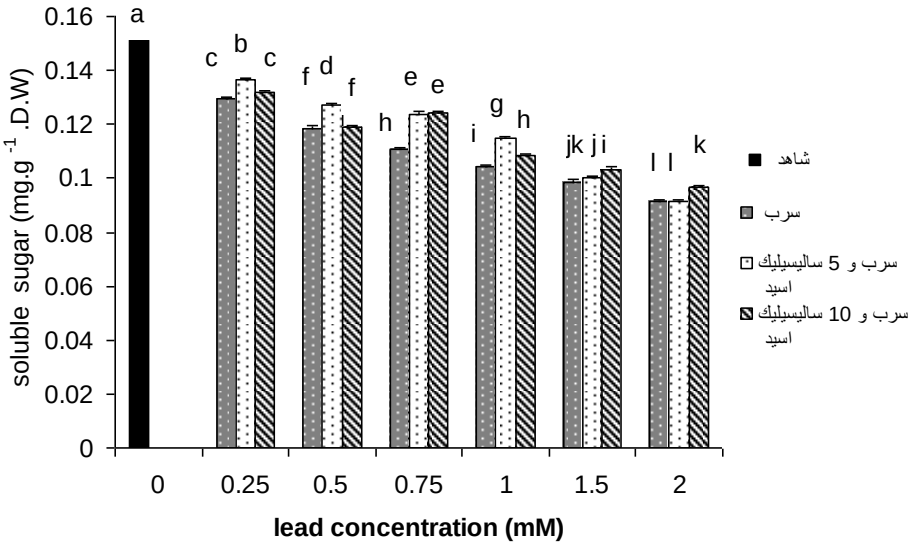
۱ میلی‌لیتر بافرتریس ساییده و سپس محتویات به درون لوله‌ی سانتریفوژ منتقل و به مدت ۴۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰g سانتیریفوژ شد، پس از آن ۵۰ میکرولیتر از محلول رویی هر نمونه برداشته شد و به روی آن ۹۵۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه گردید، سپس ۱ میلی‌لیتر معرف لوری اضافه شد و سپس ۳ میلی‌لیتر معرف فولین به آن افزوده گردید و لوله‌ها در بن‌ماری قرار گرفتند و پس از خارج شدن از بن‌ماری جذب نوری محلول در طول موج ۷۵۰ 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 محیط Excel ترسیم شدند و نتایج به صورت نمودارهای مقایسه‌ای ارایه شد.

نتایج

تغییرات مقدار قندهای محلول در ریشه

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت نیترات 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 $mg.g^{-1}DW$ ۰/۱۵۱ در شاهد به $mg.g^{-1}DW$ ۰/۱۲۹ در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار سرب و سرانجام به $mg.g^{-1}DW$ ۰/۰۹۱ 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).

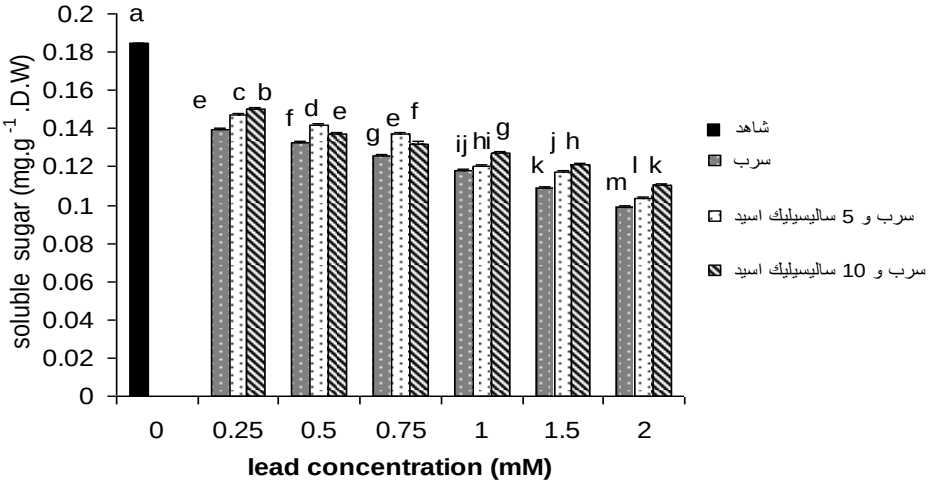


شکل ۱- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار قندهای محلول در ریشه رقم اکاپی

www.SID.ir

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 معنی‌داری یافتند ($P<0.01$). در گیاهان ۱۰ روزه‌ی اکاپی میانگین قند محلول در اندام هوایی، تحت تیمارهای نیترات سرب از ۰/۱۸۴ $mg.g^{-1}DW$ در شاهد به ۰/۰۹۸ $mg.g^{-1}DW$ در غلظت ۲ میلی‌مولار سرب کاهش یافت. با به کارگیری اسید سالیسیلیک توام با سرب، میانگین قندهای محلول اندام هوایی نسبت به تیمارهای سرب افزایش معنی‌داری یافت ($P<0.01$). بر اساس جدول آنالیز واریانس، بین دو غلظت اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری در سطح ($P<0.05$) مشاهده شد (شکل ۲).



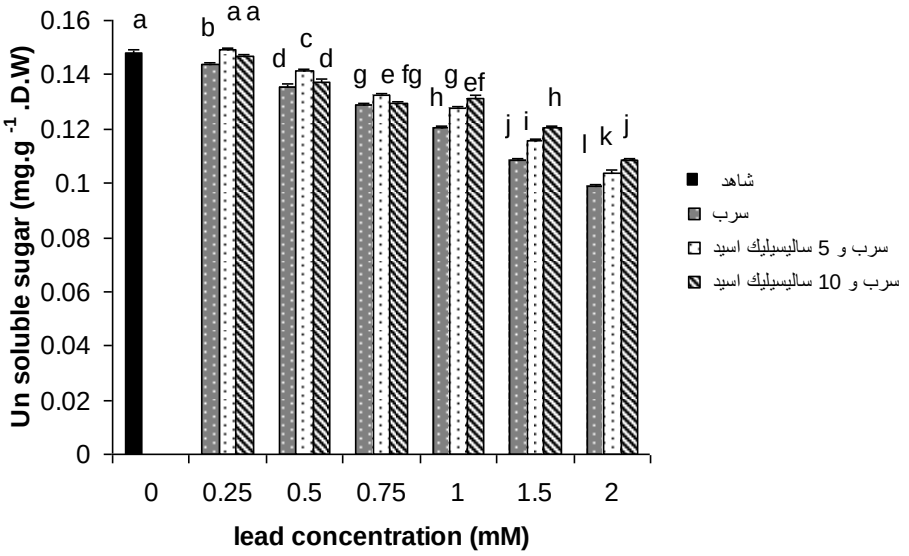
شکل ۲- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار قندهای محلول در اندام هوایی رقم اکاپی

تغییرات مقدار قندهای نامحلول در اندام هوایی

مقدار قندهای نامحلول (نشاسته) نیز با افزایش غلظت نیترات سرب در اندام هوایی کاهش معنی‌داری یافت ($P<0.01$) و این کاهش در تمام غلظت‌ها نسبت به شاهد معنی‌دار بوده است و بیش‌ترین کاهش مربوط به غلظت ۲ میلی‌مولار سرب با مقدار ۰/۰۹۸ $mg.g^{-1}DW$ بوده است.

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 ۰/۲۵ میلی‌مولار سرب با دو غلظت ۱۰ و ۵ میکرومولار اسید سالیسیلیک، سایر غلظت‌ها با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (شکل ۳).

www.SID.ir



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

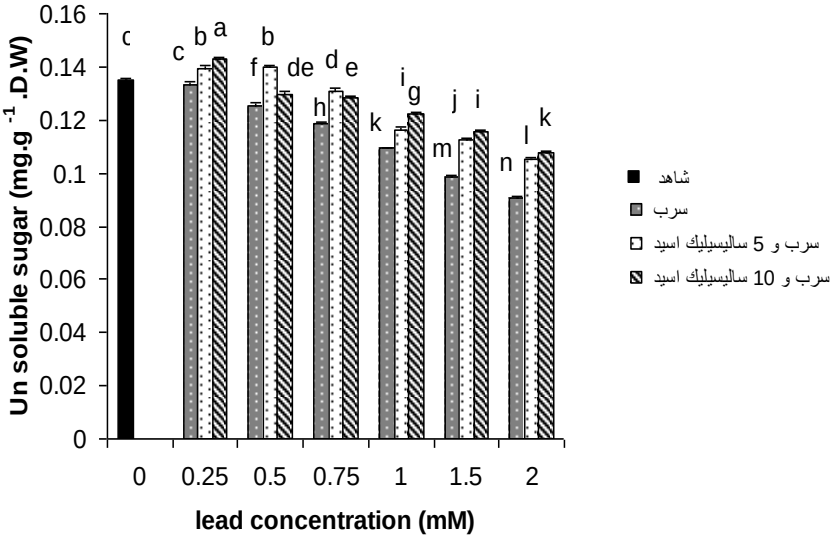
تغییرات مقدار قندهای نامحلول در ریشه

مقدار نشاسته در ریشه‌ی رقم اکاپی همزمان با بالا رفتن غلظت نیترات سرب، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<0.01$). میانگین مقدار نشاسته در ریشه‌ی گیاه، تحت تیمارهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار سرب از $mg.g^{-1}DW$ ۰/۱۳۴ درشاهد به ترتیب به ۰/۱۳۳، ۰/۱۲۵، ۰/۱۱۸، ۰/۱۰۹، ۰/۰۹۸ و در نهایت در غلظت ۲ میلی‌مولار سرب به $mg.g^{-1}DW$ ۰/۰۹۰ کاهش یافت.

براساس آزمون دانکن به جز غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار سرب، سایر غلظت‌ها با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. تحت تیمار توام سرب و اسید سالیسیلیک، میانگین نشاسته در ریشه به طور معنی‌داری نسبت به تیمارهای سرب افزایش یافت ($P<0.01$) (شکل ۴).

Archive of SID

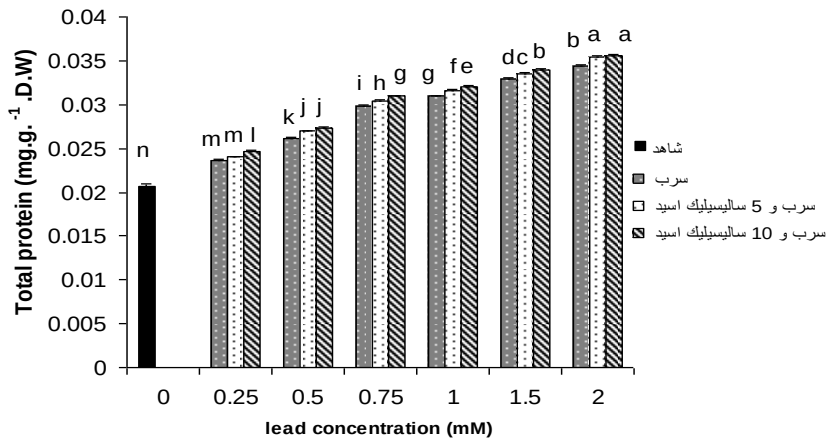
www.SID.ir



شکل ٤- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار قندهای نامحلول در ریشه رقم اکاپی

تغییرات میزان پروتیین در ریشه

با افزایش غلظت نیترات سرب، میزان پروتیین در ریشه افزایش معنی‌داری یافت ($P<0.01$). این افزایش در همه ی غلظت‌ها نسبت به شاهد معنی‌دار بوده است. بیش‌ترین افزایش پروتیین در ریشه‌ی گیاهان ۱۰ روزه‌ی اکاپی مربوط به غلظت ۲ میلی‌مولار سرب با مقدار $mgg^{-1}DW$ ۰/۰۳۴ بوده است. تحت تیمارهای نیترات سرب به همراه اسید سالیسیلیک، میزان پروتیین‌ها در ریشه نسبت به تیمارهای سرب کاهش یافت ولی کاهش حاصل‌شده معنی‌دار نبوده است ($P<0.05$) (شکل ۵).

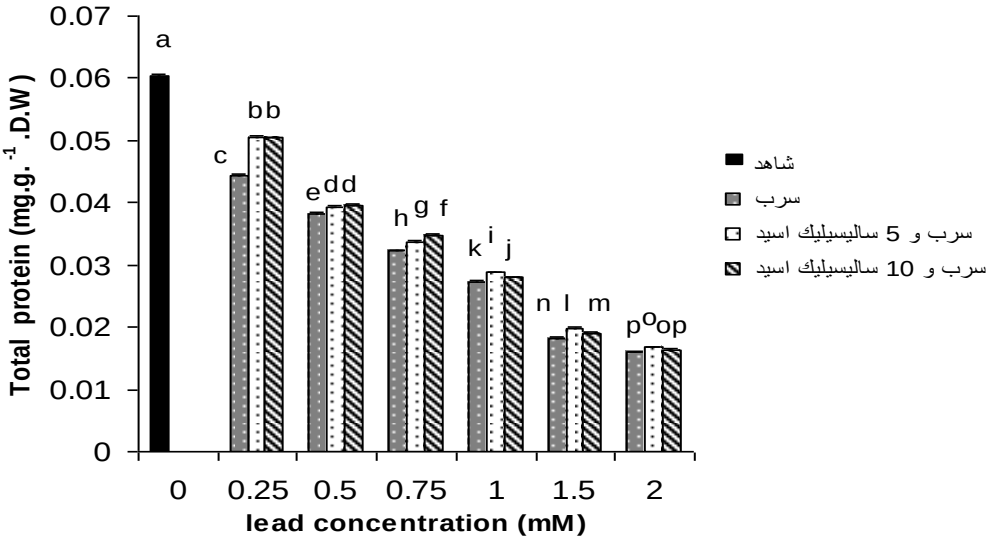


شکل ٥- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار پروتیین‌های کل در ریشه رقم اکاپی

www.SID.ir

تغییرات میزان پروتیین در اندام هوایی

با افزایش غلظت نیترات سرب در محلول غذایی هوگلند، میزان پروتیین 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 ۰/۰۱۵ $mgg^{-1}DW$ و کم‌ترین کاهش مربوط به غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار سرب با مقدار ۰/۰۴۴ $mgg^{-1}DW$ بوده است. تحت تیمارهای نیترات سرب به همراه اسید سالیسیلیک، مقدار پروتیین برگ نسبت به تیمارهای سرب افزایش معنی‌داری یافت ($P<0.05$) (شکل ۶).



شکل ٦- بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر مقدار پروتیین‌های کل در اندام هوایی رقم اکاپی

کلیه داده‌ها در جدول‌های ۱ تا ۷ ارایه شده است.

جدول۱- جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر قندهای محلول در ریشه گیاهان رقم اکاپی

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
سرب	۰/۰۱۴	۶	۰/۰۰۲★★
اسید سالیسیلیک	۲/۵۳ *۱۰$^{-۵}$	۱	۲/۵۳ *۱۰$^{-۵}$★
سرب × اسید سالیسیلیک	۰/۰۰۰	۶	۳/۷۰*۱۰$^{-۵}$★★
خطا	۵/۶۴ *۱۰$^{-۵}$	۲۸	۲/۰۲*۱۰$^{-۶}$
کل	۰/۶۱۸	۴۲	

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

Archive
www.SID.ir

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

جدول ٤- 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 ۱درصد معنی‌دار و ★ در سطح ۵ درصد معنی‌دار و ns معنی‌دار نبوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر پروتیین درریشه 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 ۱درصد معنی‌دار و ★ در سطح ۵ درصد معنی‌دار و ns معنی‌دار نبوده است.

جدول ٦- 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 ۱درصد معنی‌دار و ★ در سطح ۵ درصد معنی‌دار و ns معنی‌دار نبوده است.

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های صفات مورد مطالعه در کلزا رقم اکاپی۱۰ روز پس از تیمار

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

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۷

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

بحث و نتیجه‌گیری

تغییرات قندهای محلول

در پژوهش حاضر میزان قندهای محلول در برگ و ریشه کاهش معنی‌داری یافتند ($P<0.01$) علی‌رغم وجود گزارش‌هایی در مورد افزایش مقادیر قندهای محلول تحت تنش مس (Hendry & Baker, 1992) گزارش‌هایی 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 آزادکننده اکسیژن در فتوسیستم II نقش دارند (از طریق رقابت) جلوگیری می‌کند و در نتیجه اتصال سرب به ساختار LHC II ساختار این کمپکس از حالت طبیعی خارج شده به این ترتیب میزان قندهای محلول حاصل از فتوسنتز کاهش پیدا می‌کند که با یافته‌های 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 رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شده بنابراین به دلیل تعدیل در کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و شاید حفظ روبیسکو باعث افزایش مقدار قندها می‌شود (Popova *et al*., 2003).

Archive of SID

www.SID.ir

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 *Dalbergia sissoo* به تدریج از میزان قندهای 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 علی رغم 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 پلی‌پپتیدهای غنی از سیستئین مانند فیتوکلاتین 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 براثر 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

Archive of SID

www.SID.ir

اثر می‌گذارد. همچنین اثبات شده که اسید سالیسیلیک سنتز پروتیین‌های 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 آلایش‌زدایی خاک‌های آلوده به سرب از توانایی بالقوه‌ای برخوردار بوده و با کشت این محصول در خاک‌های آلوده می‌توان از 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.

منابع

حیدری،ر.، م.خیامی، و ط.فربودنیا. ۱۳۸۴. اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از آلودگی سرب در دانه رست‌های ذرت (*Zea mays* L.) مجله زیست شناسی ایران، جلد ۱۸، شماره ۳، صفحات ۲۳۶ -۲۲۸.

صفافر،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 biosyntesis 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 reinhardti*. Plant Sci., 161:987-996.

Archive of SID

www.SID.ir

Inze,D., and M.V.Montagu. 2000. Oxidative stress in plants**,** TJ. Int. Ltd, Padstow, Cornawall. 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., l.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 urbon 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.

Archive of SID

www.SID.ir

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 68 th Annual. Meeting of air pollution control association. Boston M.A. June, 2-5.

Archive of SID

www.SID.ir