نقش اسید سالیسیلیک در تعدیل اثر کادمیوم روی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی برگ آفتابگردان

سکینه مرادخانی[۱]، رمضانعلی خاوری نژاد[۲]، کمال الدین دیلمقانی[۳] و نادر چاپارزاده[۴]

چکیده

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) یکی از گیاهان دانه روغنی مهم است. به منظور بررسی اثر بر هم‌کنش کادمیوم (به عنوان یک فلز سنگین و عامل تنش‌زا) و اسید سالیسیلیک (به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان و ضد تنش) بر روی برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه آفتابگردان رقم اوروفلور، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه‌ای در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند انجام شد. بوته‌های آفتابگردان در مرحله دو برگی در معرض تیمار کادمیوم (غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار) قرار گرفتند و یک هفته پس از پایان تیمار کادمیوم، گیاهان با اسید سالیسیلیک (۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میکرومولار) به صورت افشانه برگی تیمار شدند. قبل از برداشت، مقدار کلروفیل برگ اندازه‌گیری شد. بعد از برداشت بوته‌ها، تعداد برگ، وزن تر، مقدار پرولین و پروتئین برگ اندازه‌گیری شد. تحلیل‌های آماری نشان داد که افزایش غلظت کادمیوم مقدار کلروفیل (کلروفیل **a**، **b** و **a+b**)، تعداد برگ، وزن تر و پروتئین برگ را کاهش داد، در حالی‌که اسید سالیسیلیک آن‌ها را افزایش داد. با این حال، بر هم‌کنش اسید سالیسیلیک و کادمیوم بر روی کلروفیل **a**، کلروفیل **b**، کلروفیل کل (**a+b**) و تعداد برگ معنی‌دار نبود، اما اثر معنی‌دار بر هم‌کنش اسید سالیسیلیک و کادمیوم روی وزن تر در سطح احتمال ۵ درصد و مقدار پروتئین برگ در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. هم‌چنین کاربرد کادمیوم مقدار پرولین را در آفتابگردان افزایش داد و اسید سالیسیلیک اثر کادمیوم را کاهش داد. اثر بر هم‌کنش اسید سالیسیلیک و کادمیوم نیز بر روی آن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. این مطالعه نشان داد که تیمار با اسید سالیسیلیک، اثرات بازدارندگی و سمیت کادمیوم را روی گیاه آفتابگردان کاهش داده است.

کلمات کلیدی: *آفتابگردان (Helianthus annuus L.)، اسید سالیسیلیک، پرولین، پروتئین، سمیت کادمیوم.*

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۵

۱- عضو هیئت علمی دانشگاه پیام نور مرکز خوی، ایران (نویسنده مسئول).

E-mail: Moradkhani544@Yahoo.com

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه بیولوژی، تهران، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرند، گروه بیولوژی گیاهی، مرند، ایران.

۴- عضو هیئت علمی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، گروه بیولوژی گیاهی، تبریز، ایران

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه و بررسی منابع علمی

یکی از شاخص‌های توسعه پایدار در هزاره سوم نگرش سیستماتیک به مقوله سلامتی انسان‌ها و عوامل تأثیرگذار بر آن از طریق محصولات کشاورزی است (Vafaei et al., 2010). گیاه آفتابگردان[1] دارای سابقه طولانی مصرف به عنوان غذا، رنگ، روغن و روشنایی می‌باشد (Halvorson, 2003). هم‌چنین آفتابگردان یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی دانه روغنی کشت شده در جهان می‌باشد. این گیاه به آسانی کاشته می‌شود و در خاک‌ها و شرایط مختلف رشد می‌کند (Kaya and Kolsarici. 2011).

کادمیوم به عنوان یک فلزسنگین غیر ضروری، یک آلاینده قوی محیطی با سمیت بالا در گیاهان، جانوران و انسان است (Choudhury and Panda, 2004; Elloumi et al., 2007). حضور مقادیر زیاد کادمیوم در محیط رشد گیاهان، منجر به کندی رشد گیاه و بازدارندگی فرایندهای متابولیسمی گوناگون در گیاهان می‌شود (Wang et al., 2009). کادمیوم اضافی می‌تواند تغییرات پیچیده‌ای را در گیاهان در سطوح فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی القا کند که منجر به مسمومیت گیاه شود که تغییر در مقادیر ترکیبات آلی از آن جمله می‌باشد (Shi et al., 2009).

گیاهان دارای گستره‌ای از مکانیسم‌ها در سطح سلولی هستند که ممکن است در سمیت‌زدایی و بردباری فلزات سنگین دخالت داشته باشند. یکی از مکانیسم‌هایی که گیاهان توسعه می‌دهند تا آسیب‌های ایجاد شده به وسیله کادمیوم را جبران کنند، تولید برخی از مولکول‌های علامت رسان تنش، از جمله اسید سالیسیلیک است (Maksymiec et al., 2007; Popova et al., 2008). اسید سالیسیلیک، عموماً نقشی اساسی در تنظیم رشد و نمو گیاه و پاسخ گیاه به تنش محیطی دارد و به عنوان یک مولکول علامت‌رسان قوی در گیاهان در پاسخ‌های ویژه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند تنش دمای پایین و بالا، ازن، اشعه ماورای بنفش، خشکی، شوری، علف کش‌ها و فلزات سنگین دخالت دارد. این مولکول، اثرات زیان‌آور اعمال شده توسط فلزات سنگین را کاهش می‌دهد. احتمال می‌رود اسید سالیسیلیک بتواند با کادمیوم کمپلکس تشکیل داده و تعادل کادمیوم را در گیاه ایجاد کند (Chien et al., 2001).

در خصوص اثر سمیت فلزات سنگین بر فیزیولوژی رشد گیاهان زراعی در ایران اطلاعات محدودی در دست است. از این رو، یافتن راه کاری برای کاهش یا حذف سمیت ایجاد شده توسط فلزات سنگین از جمله کادمیوم می‌تواند بسیار مفید باشد و با توجه به مطالعات پیشین مبنی بر این که اسید سالیسیلیک می‌تواند اثرات سمی کادمیوم را کاهش داده یا تعدیل کند (Moussa and EL-Gamal, 2010). انتظار می‌رود با تیمار بوته‌های آفتابگردان با اسید سالیسیلیک بتوان اثرات سمیت کادمیوم را در این گیاه کاهش داد.

1 . *Helianthus annuus* L.

Archive of SID

www.SID.ir

در این تحقیق سعی شده است اثر کادمیوم به عنوان یک فلز سنگین در ایجاد تنش غیر زیستی و تاثیر اسید سالیسیلیک به عنوان یک آنتی اکسیدان و کاهنده اثرات زیان بار کادمیوم (به صورت برون‌زا) بر پارامترهای رشد، مانند وزن تر برگ، تعداد برگ، مقدارکلروفیل (a، b و کلروفیل کل) و نیز مقادیر پرولین و پروتئین در برگ گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L. Var: Euroflore) بررسی شود.

مواد و روش‌ها

بذور سالم، هم شکل، هم اندازه و هم وزن آفتابگردان از ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان خوی تهیه شد. کاشت و آزمایش‌های مربوطه در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند انجام شد.

ابتدا بذرها به مدت ۳۰ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد سترون و سپس با آب مقطر شسته شدند. ۶ عدد از دانه‌ها در هر گلدان حاوی ۳ کیلوگرم خاک ماسه کاشته و مجموعاً ۶۰ گلدان آماده شد. سپس هر روز با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر آبیاری شدند. پس از جوانه‌زنی دانه‌رست‌ها تنک شدند و داخل هر گلدان ۴ دانه‌رست هم اندازه باقی ماندند.

با پدیدار شدن برگ‌های لپه‌ای، دانه‌رست‌ها هر هفته یک بار با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. تیمار کلرید کادمیوم در ۵ غلظت (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومول در لیتر) از مرحله دو برگی دانه‌رست‌ها آغاز شد.یک هفته پس از پایان تیماردهی با کلرید کادمیوم، تیماردهی با اسید سالیسیلیک در سه غلظت (۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میکرومول در لیتر) به روش افشانه کردن برگی انجام شد. تیماردهی با کلرید کادمیوم و اسید سالیسیلیک بر اساس تیمارهای آزمایش هر هفت روز یک بار برای هر یک از غلظت‌ها اعمال شد.

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل اسید سالیسیلیک و کلرید کادمیوم انجام شد. بنابراین آزمایش شامل ۱۵ تیمار و ۴ تکرار بود. یک هفته پس از پایان آخرین تیماردهی، برداشت کلروفیل از برگ‌های آفتابگردان انجام و سپس بوته‌ها برداشت شدند.

شرایط محیط آزمایشگاهی: اتاق کشت با شدت نور ۱۳۰۰۰ لوکس در سطح تاج و دوره روشنایی ۱۶ ساعت تنظیم شد. دمای حداقل ۲۴/۵ درجه سانتی‌گراد و دمای حداکثر ۳۳/۵ درجه سانتی‌گراد بود.

سنجش مقدار کلروفیل: مقدار کلروفیل برگ‌های به روش آرنون (Arnon, 1949) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های برگی جدا شده در ویال‌های درپوش‌دار حاوی استون نگه‌داری شدند تا برگ‌ها کاملاً بی‌رنگ شوند. سپس میزان جذب نوری عصاره‌های کلروفیلی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر CECIL مدل ۲۰۴۱ در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۳۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل

Archive of SID

www.SID.ir

(a+b) مربوط به هر نمونه بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد: پس از برداشت گیاهان، تعداد برگ‌ها در هر گیاه شمارش گردید و وزن تر تمام برگ‌های هر بوته نیز اندازه‌گیری شد.

سنجش مقدار پرولین: مقدار پرولین در برگ آفتابگردان با استفاده از سائیده شدن نمونه‌های برگی (۲۰۰ میلی‌گرم) در اسید سولفوسالیسیلیک استخراج شد و همگن حاصل در دور rpm ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس سنجش مقدار پرولین مطابق با روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) انجام شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر CECIL مدل ۲۰۴۱ میزان جذب نوری در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با در دست داشتن وزن تر نمونه و با استفاده از منحنی استاندارد پرولین، مقدار پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه‌ها محاسبه گردید.

سنجش مقدار پروتئین محلول: مقدار پروتئین در برگ با استفاده از سائیده شدن نمونه‌های برگی (۵۰ میلی‌گرم) در بافرتریس tris-HCl استخراج شد. همگن حاصل به درون اپندروف‌ها ریخته و به مدت ۵۴ دقیقه با دور rpm ۱۴۰۰۰ در سانتریفیوژ یخچال‌دار، سانتریفیوژ شد. سپس سنجش مقدار پروتئین مطابق با روش لوری و همکاران (Lowry et al., 1951) انجام شد. در پایان میزان جذب نور نمونه‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر CECIL مدل ۲۰۴۱ در طول موج ۶۶۰ نانومتر با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان پروتئین استاندارد اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین برگ‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آنووای[1] دو طرفه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS v.18 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL انجام گرفت.

نتایج و بحث

مقادیر کلروفیل برگ: تجزیه و تحلیل آماری نشان داد افزایش کادمیوم، رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b و a+b) برگ آفتابگردان را کاهش داد و اسید سالیسیلیک آن‌ها را افزایش داده است. اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های مقدار کلروفیل برگ‌ها به ترتیب در غلظت‌های مختلف و جداگانه از کادمیوم و اسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. با این حال، برهم‌کنش اسید سالیسیلیک و کادمیوم بر روی کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (a+b) برگ معنی‌دار نبود (ns).

در گیاهان تیمار شده با کادمیوم به تنهایی، مقدار کلروفیل a، b و کل (a+b) به موازات افزایش غلظت کادمیوم کاهش یافتند. در تیمارهای اسید سالیسیلیک بدون کادمیوم، کاربرد ۲۵۰ میکرومولار تأثیری روی مقدار کلروفیل a و کل (a+b) نداشت، اما در ۵۰۰ میکرومولار مقدار آن‌ها

1 . ANOVA

Archive of SID

www.SID.ir

افزایش یافت. در این تیمار، مقدار کلروفیل b افزایش یافت، اما تفاوت بین دو سطح ۵۰۰ میکرومولار و ۲۵۰ میکرومولار معنی‌دار نبود.

بیشترین کاهش مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل (a+b) توسط کادمیوم به ترتیب ٪ ۸۲/۷، ٪ ۸۲/۴ و ٪ ۸۲/۵ در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد (جدول ۱).

نتایج نشان می‌دهد تیمارهای کادمیوم به طور قابل توجهی مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل را در برگ‌های بوته‌های آفتابگردان کاهش دادند و این رنگیزه‌ها، با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک نسبت به گیاهان شاهد به میزان قابل توجهی افزایش یافتند. نتایج آزمایشات وانگ و همکاران (Wang et al., 2009) در ذرت نشان داد که اضافه شدن کادمیم در محیط رشد دانه‌رست‌های ذرت منجر به کاهش مقدار کلروفیل شد.

نتایج تحقیق الومی و همکاران (Elloumi et al., 2007) نیز نشان داد کاهش قابل ملاحظه در محتوای کلروفیل به موازات افزایش غلظت کادمیوم می‌تواند به این دلایل باشد، کاهش سطح پلاستوکوئینون در کلروپلاست به علت حضور کادمیوم، مهار سنتز آمینولولینیک از طریق مهار آمینولولینیک دهیدراتاز و احیای پروتوکلروفیل به دلیل مهار پروتوکلروفیلید ردوکتاز، احتمالا از طریق برهم کنش کادمیم با گروه‌های SH- آنزیم. هم‌چنین نارسایی در بیوسنتز کلروفیل از طریق جای گزینی یون‌های کادمیوم به جای منیزیم در مولکول‌های کلروفیل می‌تواند مکانیسم احتمالی دیگر باشد که منجر به تخریب یا عدم سنتز کلروفیل شود (Nikolic et al., 2008). کادمیوم هم‌چنین می‌تواند اتصال مولکول‌های کلروفیل به کمپلکس‌های پروتئین - رنگیزه سیستم‌های نوری را تحت تاثیر قرار دهد. تأثیر کادمیوم بر کلروفیل منجر به کاهش فتوسنتز می‌شود و به همین دلیل کادمیوم ممکن است به شدت بر تولید بیومس تاثیر بگذارد (John et al., 2009).

کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به بازدارندگی در کاهش مقدار کلروفیل شد. بنابراین اسید سالیسیلیک، کاهش دهنده اثر بازدارندگی کادمیوم روی فتوسنتز و رشد است. با این حال می‌تواند پیشنهاد شود که افشانه کردن برگ با اسید سالیسیلیک ممکن است عوامل متابولیسمی معین در جذب کربن یا تثبیت آنزیم روبیسکو و یا چرخه احیای کربن فتوسنتزی را تحت تاثیر قرار داده باشد (Misra and Saxena, 2009). پوپووا و همکارانش (Popova et al., 2008) نیز اثر حفاظتی اسید سالیسیلیک بر فتوسنتز را در برابر سمیت کادمیم در نخود مطالعه کردند. در این تحقیق، اسید سالیسیلیک اثرات منفی اعمال شده توسط کادمیم را روی مقدار کلروفیل کاهش داد. اسید سالیسیلیک ممکن است مستقیما به عنوان یک آنتی اکسیدان، گونه‌های اکسیژن فعالی را که در تنش اکسیداتیو اعمال شده توسط کادمیم تولید شده‌اند، جاروب کند یا ممکن است به طور غیرمستقیم واکنش احیایی را توسط فعال کردن پاسخ‌های آنتی اکسیدان تعدیل کند، به این ترتیب منجر به کاهش

Archive of SID

www.SID.ir

آسیب به رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود (Popova et al., 2008).

هم‌چنین مشخص شده است کاربرد اگزوژن اسید سالیسیلیک میزان فتوسنتز را در گیاهان زراعی گوناگون از جمله ذرت (Khodary, 2004) و نخود (Popova et al., 2008) افزایش داد. بنابراین، فتوسنتز که یک عامل کنترل کننده اصلی برای رشد و بازده تولید است به علت کاربرد اسید سالیسیلیک افزایش یافت (Misra and Saxena, 2009).

تعداد و وزن تر برگ: کاربرد تیمارهای مختلف کادمیوم باعث کاهش وزن تر و تعداد برگ در گیاه آفتابگردان شد و اسید سالیسیلیک اثر کادمیوم را کاهش داد. از جمله نشانه‌های ظاهری سمیت کادمیوم که در آفتابگردان مشاهده شد پیچش و نکروزه شدن برگ‌ها بود (شکل ۱ و ۲).

شکل ۱- نکروزه شدن برگ در اثر تیمار کادمیوم در گیاه آفتابگردان

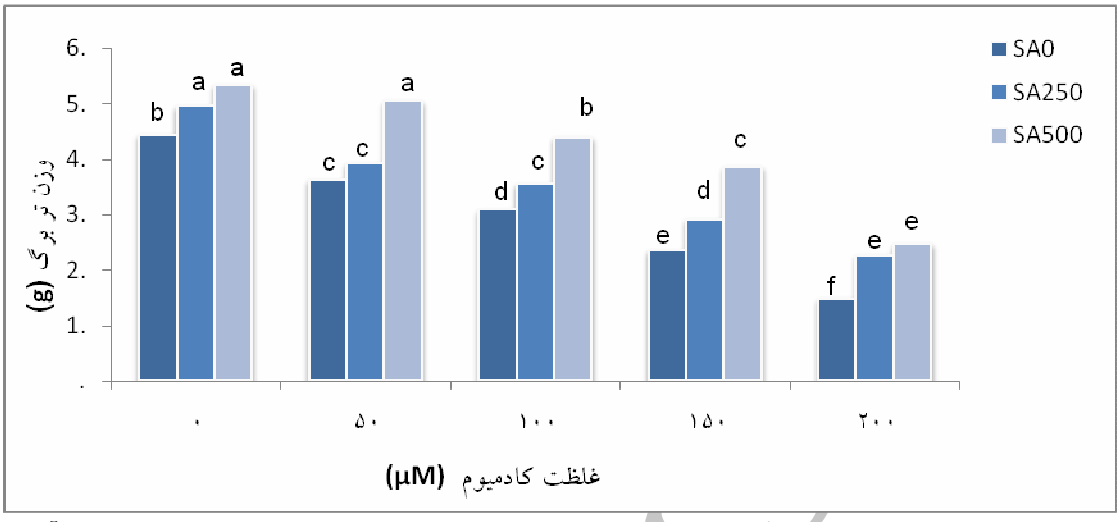
شکل ۲- پیچش برگی در اثر تیمار کادمیوم در گیاه آفتابگردان

وزن تر برگ: اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های وزن‌های تر برگ‌ها به ترتیب در غلظت‌های مختلف و جداگانه از کادمیوم واسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. برهم‌کنش این دو تیمار روی وزن تر برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. در تیمارهای توأم در ۲۵۰ میکرومولار از اسید سالیسیلیک، افزایش غلظت کادمیوم تا ۲۰۰ میکرومولار وزن تر برگ را کاهش داد. در ۵۰۰ میکرومولار از اسید سالیسیلیک، افزایش غلظت کادمیوم تا ۵۰ میکرومولار تأثیری روی وزن تر برگ نداشت، در حالی‌که غلظت‌های بالاتر مقدار وزن تر برگ را کاهش دادند (شکل ۳). در تیمارهای توام تعامل کادمیوم با اسید سالیسیلیک بیشترین مقدار وزن تر برگ در کمترین غلظت کادمیوم؛ سطح صفر میکرومول کادمیوم و بالاترین غلظت اسید سالیسیلیک؛ سطح ۵۰۰ میکرومول (افزایش ۲۰ درصدی نسبت به گیاهان شاهد) مشاهده شد. کم‌ترین مقدار وزن تر برگ در بالاترین غلظت کادمیوم؛ ۲۰۰ میکرومول کادمیوم و

Archive of SID

www.SID.ir

کمترین غلظت اسید سالیسیلیک؛ سطح صفر میکرومول (کاهش ۶۶/۵ درصدی نسبت به گیاهان شاهد) مشاهده شد (جدول ۱).



شکل ۳- مقایسه تاثیر سطوح مختلف کلرید کادمیوم در حضور غلظت‌های متفاوت اسید سالیسیلیک بر مقدار وزن تر برگ آفتابگردان

تعداد برگ: در گیاهان تیمار شده با کادمیوم به تنهایی، تعداد برگ به موازات افزایش غلظت کادمیوم تا سطح ۵۰ میکرومولار کاهش معنی‌دار نداشت. در غلظت ۱۵۰ میکرومولار کادمیوم تفاوت در تعداد برگ با دو سطح ۱۰۰ میکرومولار و ۲۰۰ میکرومولار معنی‌دار نبود. در تیمارهای اسید سالیسیلیک بدون کادمیوم، با کاربرد ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک، تأثیری روی تعداد برگ مشاهده نشد. در تیمارهای توأم در ۲۵۰ میکرومولار از اسید سالیسیلیک، افزایش غلظت کادمیوم تا ۵۰ میکرومولار تأثیری روی تعداد برگ نداشت، در غلظت‌های بالاتر نیز کاهش تعداد برگ معنی‌دار نبود. همچنین در ۵۰۰ میکرومولار از اسید سالیسیلیک، با افزایش غلظت کادمیوم تا ۱۰۰ میکرومولار کاهش تعداد برگ معنی‌دار نبود.

میانگین تعداد برگ با افزایش غلظت کادمیوم تا ۲۰۰ میکرومول با صفر میکرومول اسید سالیسیلیک، کاهش ۲۲/۵ درصدی نسبت به گیاهان شاهد یا سطح کنترل (صفر میکرومول کادمیوم + صفر میکرومول اسید سالیسیلیک) نشان داد. مقدار میانگین تعداد برگ در تیمار صفر میکرومول کادمیوم با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تا ۵۰۰ میکرومول، افزایش ۴/۲ درصدی نسبت به گیاهان شاهد نشان داد (جدول ۱). کاربرد غلظت‌های مختلف کادمیوم بر روی بوته‌های آفتابگردان، الگوی رشد آن‌ها از جمله تعداد و وزن تر برگ را نسبت به گیاهان شاهد به طور منفی کاهش داد. این نتایج هم‌سو با نتایج دووی و همکاران (Devi et al., 2007) در گیاه نخود و الومی و همکاران (Elloumi et al., 2007) در دانه رست‌های بادام

Archive of SID

www.SID.ir

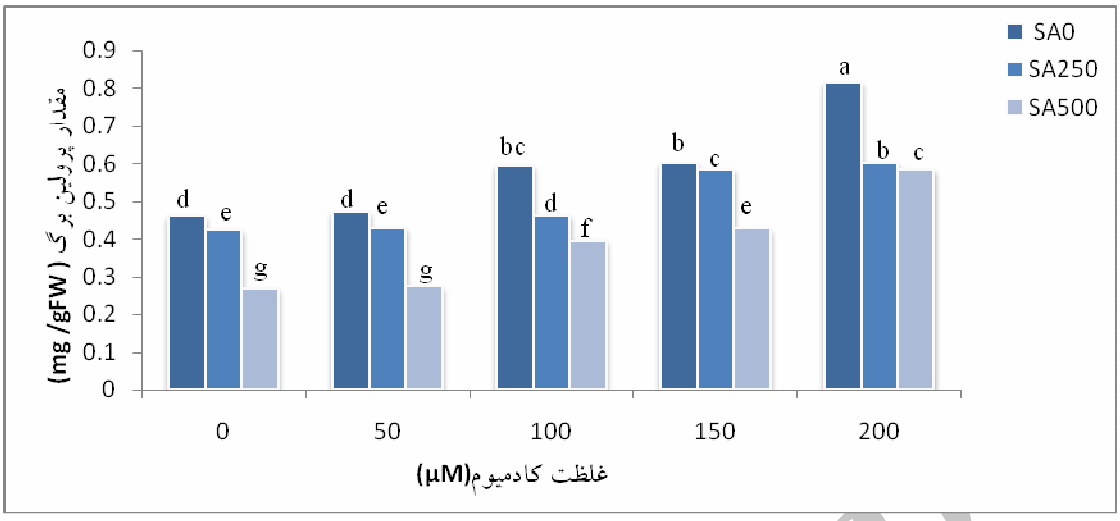
هست که نشان دادند کادمیوم باعث کاهش قابل توجهی در پارامترهای رشد در گیاهان آفتابگردان شد. این نتایج در پاسخ به تنش کادمیوم و اسید سالیسیلیک همسو با نتایج پوپووا و همکاران (Popova et al., 2008) در گیاه نخود و نتایج شی و همکاران (Shi et al., 2009) در گیاه شاهدانه بود. شایع‌ترین اثر سمیت کادمیوم در گیاهان کاهش رشد است. کاهش در رشد در طی تنش به علت وجود پتانسیل آب پایین در سلول‌ها است که مانع جذب مواد غذایی شده و تنش ثانویه مانند تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند (John et al., 2009).

سمیت فلزات در گیاهان ممکن است ناشی از اتصال فلزات به سولفیدریل‌های پروتئین باشد که سبب تغییر در ساختارهای پروتئین و مهار فعالیت‌های آنزیمی می‌شود. این تغییرات معمولاً منجر به بازدارندگی رشد و مرگ سلولی می‌شود (Groppa et al., 2008). هم‌چنین مهار رشد کادمیوم می‌تواند به دلیل مهار تقسیم سلولی و میزان دراز شدگی سلول‌ها باشد که منجر به کاهش در تولید بیومس می‌شود. این نتیجه به طور عمده توسط مهار غیرقابل برگشت پمپ پروتون مسئول روند رشد حاصل می‌گردد (Choudhury and Panda, 2004). گویا و همکاران (Gouia et al., 2000) پیشنهاد کردند که سمیت کادمیوم می‌تواند علاوه بر اختلال در جذب آب، تغذیه مواد معدنی را نیز مختل کند که منجر به کمبود عناصر ضروری می‌شود. اسید سالیسیلیک بایستی در بیان پروتئین‌های ویژه یا آنزیم‌های مربوط به دفاع نقش داشته باشد (Krantev et al., 2006; Tukaj et al, 2007). اسید سالیسیلیک هم‌چنین با کادمیوم تشکیل کمپلکس می‌دهد که ممکن است بردباری به کادمیوم را موجب شود (Moussa and EL-Gamal, 2010).

مقدار پرولین برگ: اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های پرولین برگ‌ها به ترتیب در غلظت‌های مختلف و جداگانه از کادمیوم و اسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. برهم‌کنش این دو تیمار روی پرولین برگ درسطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در تیمارهای توأم در ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار از اسید سالیسیلیک، با افزایش غلظت کادمیوم تا ۵۰ میکرومولار، افزایش پرولین برگ معنی‌دار نبود، اما در غلظت‌های بالاتر با افزایش غلظت کادمیوم پرولین برگ نیز افزایش یافت (شکل ۴). درتیمارهای توام تعامل کادمیوم با اسید سالیسیلیک بیشترین مقدار پرولین در بالاترین غلظت کادمیوم؛ سطح ۲۰۰ میکرومول کادمیوم و کمترین غلظت اسید سالیسیلیک؛ سطح صفر میکرومول (افزایش ۷۶/۸ درصدی نسبت به گیاهان شاهد) مشاهده شد. کم‌ترین مقدار پرولین در غلظت صفر میکرومول کادمیوم و در غلظت ۵۰۰ میکرومول اسید سالیسیلیک (کاهش ۴۱/۶ درصدی نسبت به گیاهان شاهد) مشاهده شد (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴- مقایسه تاثیر سطوح مختلف کلرید کادمیوم در حضور غلظت‌های متفاوت اسید سالیسیلیک بر مقدار پرولین برگ آفتابگردان

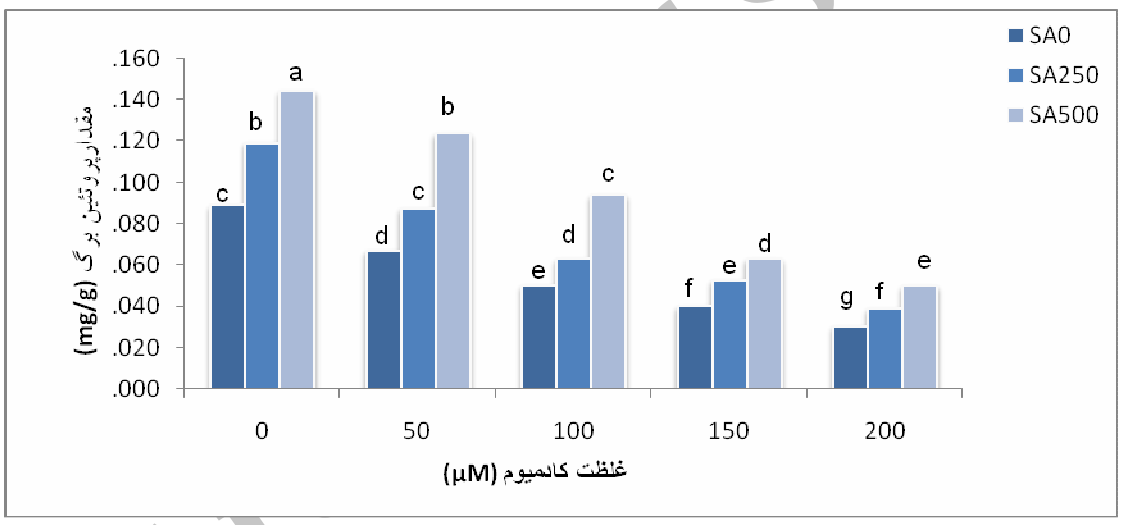
محتوای پرولین پس از تیمار کادمیوم در غلظت‌های بالاتر به کار برده شده به میزان قابل توجهی افزایش یافت، هنگامی که اسید سالیسیلیک مورد استفاده قرار گرفت، انباشت پرولین در برگ کاهش یافت. نتایج ما در توافق با نتایج گزارش شده توسط ال طیب و همکاران (El-Tayeb et al., 2006) و کرانتو و همکاران (Krantev et al., 2006) است. این اسید آمینه احتمالاً در سمیت زدایی فلزات سنگین به وسیله عملکرد مستقیم آن یا بوسیله بیوسنتز پپتیدهای کلات کننده دخالت دارد (Groppa et al., 2008). انباشتگی پرولین ممکن است به تنظیم اسمزی در سطح سلولی کمک کند. ازاین رو، این املاح یک نقش مهم در تنظیم اسمزی بازی می‌کنند (Misra and Saxena, 2009). پیشنهاد شده است که انباشتگی پرولین در برگ‌های گیاهان تحت تنش کادمیوم به دلیل کاهش پتانسیل آب گیاه می‌باشد و اهمیت کاربردی این انباشتگی می‌تواند در ارتباط با تعادل آبی باشد (Dinakar et al., 2008). در حقیقت، پرولین می‌تواند به عنوان یک مولکول علامت‌رسان عمل کند و در مسیرهای دفاعی تاثیرگذار باشد و متابولیسمی پیچیده و فرآیندهای نموی را که فرصت اضافی برای بهبود گیاه فراهم می‌کنند تنظیم می‌کند (Shi et al., 2009).

تحقیق حاضر نشان داد که کاربرد برون زایی اسید سالیسیلیک می‌تواند اثرات نامطلوب تنش کادمیوم را که موجب افزایش غلظت املاح آلی (قندهای محلول، اسیدهای آمینه آزاد و پرولین) برای تنظیم اسمزی یا تثبیت پروتئین‌های ضروری می‌شود، کاهش دهد (El-Tayeb et al., 2006). بنابراین، اسید سالیسیلیک تنش ایجاد شده به وسیله کادمیوم را از طریق کاهش سیستم متابولیسم پرولین بهبود می‌بخشد (Misra and Saxena, 2009). از این رو، می‌توان فرض کرد که اسید سالیسیلیک بردباری به کادمیوم را در آفتابگردان از طریق محافظت از ماشین چرخه پروتئین در برابر آسیب تنش و تنظیم بالادست پروتئین‌های حفاظتی تنش از طریق آنزیم‌های متابولیزه کننده پرولین بهبود می‌بخشد.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدار پروتئین برگ: اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های پروتئین برگ‌ها به ترتیب در غلظت‌های مختلف و جداگانه از کادمیوم و اسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. برهم‌کنش این دو تیمار روی پروتئین برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در تیمارهای توأم در ۲۵۰ میکرومولار از اسید سالیسیلیک، با افزایش غلظت کادمیوم تا ۲۰۰ میکرومولار، پروتئین برگ کاهش یافت. در ۵۰۰ میکرومولار از اسید سالیسیلیک نیز، با افزایش غلظت کادمیوم پروتئین برگ کاهش یافت (شکل ۵). در تیمارهای توام تعامل کادمیوم با اسید سالیسیلیک بیشترین مقدار پروتئین برگ در کمترین غلظت کادمیوم؛ سطح صفر میکرومول کادمیوم و بالاترین غلظت اسید سالیسیلیک؛ سطح ۵۰۰ میکرومول (افزایش ۶۱/۷ درصدی نسبت به گیاهان شاهد) مشاهده شد. کم‌ترین مقدار پروتئین برگ در بالاترین غلظت کادمیوم؛ ۲۰۰ میکرومول کادمیوم و کمترین غلظت اسید سالیسیلیک؛ سطح صفر میکرومول (کاهش ۶۶/۲ درصدی نسبت به گیاهان شاهد) مشاهده شد (جدول ۱).



شکل ۵- مقایسه تاثیر سطوح مختلف کلرید کادمیوم در حضور غلظت‌های متفاوت از اسید سالیسیلیک بر مقدار پروتئین برگ گیاه آفتابگردان

تحقیق حاضر نشان داد که تنش کادمیوم باعث کاهش مقدار پروتئین‌های موجود در آفتابگردان شد. اسید سالیسیلیک باعث افزایش قابل توجهی در محتوای کاهش یافته پروتئین تحت تاثیر کادمیوم در اندام‌های بوته‌های شاهد و بوته‌های تحت تنش کادمیوم شد. این ممکن است به علت بر هم کنش‌های متقابل فلزات سنگین و اسید سالیسیلیک باشد (El-Tayeb et al., 2006). نتایج مشابه در کاهش پروتئین توسط کادمیوم در گونه‌های مختلف Brassica napus به دست آمده‌اند (Touiserkani and Haddad, 2012).

در سلول‌های گیاه آفتابگردان، کادمیوم تنش اکسیداتیو را القا می‌کند، گونه‌های اکسیژن فعال با پروتئین‌ها واکنش نشان می‌دهند و تولید

www.SID.ir

فرآورده‌های اکسید، از جمله گروه‌های کربونیل روی مولکول‌های پروتئین می‌کنند. کادمیوم اکسیداسیون پروتئین‌ها را در بافت‌های آفتابگردان القا می‌کند. بازتحرک پروتئین‌های آسیب دیده بایستی یک جنبه مهم بردباری به تنش باشد. کادمیوم افزایش در فعالیت ویژه پروتئاز را القا می‌کند. تجزیه پروتئین باعث خروج پروتئین‌های غیرطبیعی شده و بازچرخ اسیدهای آمینه را تسهیل و فعالیت پروتئین را به وسیله حذف مولکول‌هایی که دیگر مورد نیاز نیستند تنظیم می‌کند (Pena et al., 2006).

بنابراین تیمار بوته‌های آفتابگردان تحت تنش کادمیوم با اسید سالیسیلیک می‌تواند تحمل کادمیوم در آن‌ها را القا کند.

جدول ۱- تأثیر غلظت‌های کلرید کادمیوم و اسید سالیسیلیک بر مقدار کلروفیل، وزن و تعداد برگ، مقدار پرولین و پروتئین برگ آفتابگردان

تیمارها Treatment		مقدار کلروفیل برگ Leaf chlorophyll			پارامترهای رشد		مقدار پرولین برگ	مقدار پروتئین برگ
کادمیوم Cadmium	اسید سالیسیلیک Salsylic acid	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (a+b) (mg/g FW)	وزن تر برگ (g)	تعدادبرگ	(mg/g FW)	(mg/g FW)
0 µM	0 µM	2/444±0/342	0/656±0/013	3/10±0/352	4/44±0/30	17/75±0/957	0/461±0/009	0/003±0/089
	250 µM	2/517±0/391	0/755±0/075	3/274±0/371	4/955±0/307	17/75±0/500	0/424±0/004	0/001±0/119
	500 µM	3/104±0/330	0/787±0/063	3/893±0/340	5/333±0/224	18/50±0/577	0/269±0/002	0/005±0/144
50 µM	0 µM	1/718±0/258	0/467±0/070	2/186±0/328	3/628±0/316	16/75±0/957	0/472±0/011	0/005±0/067
	250 µM	2/217±0/360	0/599±0/097	2/816±0/458	3/925±0/432	17/50±0/577	0/429±0/005	0/005±0/087
	500 µM	2/264±0/360	0/616±0/095	2/880±0/455	5/043±0/203	18/25±0/500	0/273±0/004	0/005±0/123
100 µM	0 µM	1/286±0/274	0/353±0/070	1/639±0/344	3/085±0/206	15/00±0/816	0/594±0/010	0/007±0/050
	250 µM	1/656±0/143	0/444±0/039	2/101±0/183	3/551±0/280	16/75±0/957	0/462±0/004	0/004±0/063
	500 µM	1/707±0/272	0/462±0/072	2/169±0/344	4/393±0/381	17/50±0/577	0/395±0/003	0/006±0/094
150 µM	0 µM	1/118±0/173	0/305±0/051	1/423±0/224	2/357±0/082	14/75±0/957	0/601±0/008	0/007±0/040
	250 µM	1/146±0/163	0/309±0/044	1/456±0/207	2/919±0/100	15/75±0/957	0/585±0/005	0/005±0/052
	500 µM	1/360±0/184	0/372±0/049	1/732±0/234	3/864±0/293	16/50±0/577	0/426±0/004	0/007±0/063
200 µM	0 µM	0/422±0/149	0/115±0/042	0/537±0/191	1/488±0/022	13/75±0/957	0/815±0/005	0/005±0/030
	250 µM	0/833±0/094	0/212±0/015	1/046±0/107	2/269±0/235	15/00±0/816	0/601±0/009	0/006±0/039
	500 µM	0/999±0/097	0/298±0/025	1/297±0/097	2/472±0/287	15/75±0/500	0/584±0/012	0/007±0/050
ANOVA								
Cd		6/795 **	0/499**	1/982**	14/118**	20/183**	0/163**	0/012**
SA		1/203 **	0/085**	1/923**	7/504**	14/517**	0/199**	0/008**
Cd×SA		0/08 ns	0/003 ns	0/102 ns	0/17*	0/558 ns	0/008**	0/000**

**: در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار * : در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار ns : غیر معنی دار

منابع مورد استفاده

References

✓ Arnon, D. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Poly phenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24 (1): 1- 15.

www.SID.ir

✓ Bates, L. S., R. P. Waldren, and I. B. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205- 207.

✓ Chien, H. F., J. W. Wang., C. Chi Lin, and C. Huei Kao. 2001. Cadmium toxicity of rice leaves is mediated through lipid peroxidation. Plant Growth Regulation. 33: 205- 213.

✓ Choudhury, S., and S. K. Panda. 2004. Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. roots. Bulgarian Journal of Plant Physiology. 30 (3- 4): 95- 110.

✓ Devi, R., N. Munjral., A. K. Gupta, and N. Kaur. 2007. Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. Environmental and Experimental Botany. 61: 167- 174.

✓ Dinakar, N., P. C. Nagajyothi., S. Suresh., Y. Udaykiran, and T. Damodharam. 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings. Journal of Environmental Sciences. 20: 199- 206.

✓ Elloumi, N., B. Abdallah Ferjani., A. Rhouma., B. Ben Rwina., I. Mezghani, and M. Boukhris. 2007. Cadmium-induced growth inhibition and alteration of biochemical parameters in almond seedlings in solution culture. Acta Physiologiae Plantarum. 29: 57- 62.

✓ El-Tayeb, M. A., A. E. El-Enany, and N. L. Ahmed. 2006. Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Growth Regular. 50: 191- 199.

✓ Groppa, M. D., M. S. Zawoznik., M. L. Tomaro, and M. P. Benavides. 2008. Inhibition of root growth and polyamine metabolism in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings under cadmium and copper stress. Biological Trace Element Research. 126: 246- 256.

✓ Gouia, H., M. H. Ghorbal, and C. Meyer. 2000. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiology and Biochemistry. 38: 629- 638.

✓ Halvorson, W. L. 2003. *Helianthus annuus* L.. Biological Science Center, Sonoran Desert Field Station.

✓ John, R., P. Ahmad., K. Gadgi, and S. Sharma. 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L.. International Journal of Plant Production. 3 (3): 65- 76.

✓ Kaya, M. D., and O. Kolsarici. 2011. Seed yield and oil content of some sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids irrigated at different growth stages. African Journal of Biotechnology. 10 (22): 4591- 4595.

✓ Khodary, S. E. A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. International Journal of Agriculture and Biology. 6 (1): 5- 8.

✓ Krantev, A., R. Yordanova, and L. Popova. 2006. Salicylic acid decreases Cd toxicity in maize plants. General and Applied Plant Physiology. Special Issue. Pp: 45- 52.

✓ Lowry, O. H., N. J. Rosebrought., A. L. Farr, and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. Biological Chemistry. 193: 265- 275.

✓ Maksymiec, W., M. Wojcik, and Z. Krupa. 2007. Variation in oxidative stress and photochemical activity in *Arabidopsis thaliana* leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of Jasmonate and Ascorbate. Chemosphere. 66: 421- 427.

✓ Misra, N., and P. Saxena. 2009. Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. Plant Science. 177: 181- 189.

✓ Moussa, H. R., and S. M. EL-Gamal. 2010. Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat. Biologia Plantarum. 54 (2): 315- 320.

Archive of SID

www.SID.ir

✓ Nikolic, N., D. Kojic., A. Pilipovic., S. Pajevic., B. Krstic., M. Borisev, and S. Orlovic. 2008. Responses of hybrid poplar to cadmium stress: Photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation and antioxidant enzyme activity. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 50 (2): 95- 103.

✓ Pena, L. B., L. A. Pasquini., M. L. Tomaro, and S. M. Gallego. 2006. Proteolytic system in sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves under cadmium stress. Plant Science. 171: 531- 537.

✓ Popova, L., L. Maslenkova., R. Yordanova., A. Krantev., G. Szalai, and T. Janda. 2008. Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. General and Applied Plant Physiology, Special Issue. 34 (3- 4): 133- 148.

✓ Shi, G. R., Q. S. Cai., Q. Q. Liu, and L. Wu. 2009. Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis and antioxidant enzymes. Acta Physiologiae Plantarum. 31: 969- 977.

✓ Tukaj, Z., A. Bascik-Remisiewicz., T. Skowronski, and C. Tukaj. 2007. Cadmium effect on the growth, photosynthesis, ultrastructure and phytochelatin content of green microalga *Scenedesmus armatus*: A study at low and elevated CO_2 concentration. Environmental and Experimental Botany. 60: 291- 299.

✓ Touiserkani, T., and R. Haddad. 2012. Cadmium-induced stress and antioxidative responses in different *Brassica napus* cultivars. Agricultural Science and Technology. 14: 929- 937 (In Persian).

✓ Vafaei, N., H. Tavakolipour, and A. R. Ghodsvali. 2010. Some biophysical properties of oily Sunflower achenes in Golestan province. FST. 7 (2): 103- 114 (In Persian).

✓ Wang, H., S. C. Zhao., R. L. Liu., W. Zhou, and J. Y. Jin. 2009. Changes of photosynthetic activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to cadmium stress. Photosynthetica. 47 (2): 277- 283.

Archive of SID

www.SID.ir