بررسی اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و محتوی پرولین در بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاه ۱۰ روزه کلزا رقم اکاپی

*حسین لاری یزدی[۱]، منیره رنجبر[۲]، شیدا برومند جزی[۱]

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران

۲. استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۰۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۲۰

چکیده

سرب یکی از فلزات سنگین و سمی است که آثار سمیت آن معمولاً در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میکروگرم بر گرم در برگ ظاهر می‌شود و منجر به کاهش سنتز کلروفیل و کاهش رشد رویشی می‌شود. در پژوهش حاضر اثر سمی سرب روی برخی فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهچه‌های ۱۰ روزه کلزا رقم اکاپی مورد بررسی قرار گرفت. دانه‌رست‌های کلزا در محیط کشت هیدروپونیک کشت داده شدند و تحت تیمارهای مختلف سرب (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار) و سرب با غلظت‌های فوق به همراه اسید سالیسیلیک (۱۰ و ۵ میکرومولار) در سه تکرار قرار گرفتند، سپس میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل b ,a و a+b، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و همچنین مقدار پرولین در اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نیترات سرب، رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل b, a و a+b در اندام هوایی کلزا به طور معنی‌داری کاهش یافت. در ریشه و اندام هوایی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز با افزایش غلظت سرب روند صعودی را در مقایسه با شاهد نشان دادند. همچنین افزایش معنی‌داری در مقدار پرولین اندام هوایی و ریشه مشاهده شد و این افزایش در اندام هوایی بیشتر از ریشه بود. کاربرد همزمان تیمار سرب و اسیدسالیسیلیک باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و همچنین میزان پرولین نسبت به تیمارهای سرب گردید.

کلمات کلیدی: اسیدسالیسیلیک، پراکسیداز، پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سرب، کاتالاز، کلزا

مقدمه

سرب به عنوان خطرناک‌ترین فلز سنگین آلایندهٔ محیط زیست بیشتر از طریق صنایع ساخت باطری‌های سربی، افزودنی‌های رنگ و بنزین، حشره‌کش‌ها، کودهای شیمیایی، اگزوز اتومبیل و لحیم‌کاری وارد محیط زیست می‌گردد (Eick, 1999). آلودگی سرب در خاک موجب کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی گشته و اثرات مضری بر رشد و متابولیسم گیاه بر جای می‌گذارد (Kopyra, 2003). سمیت سرب به این دلیل است که بسیاری از جنبه‌های رفتار متابولیسمی Ca^{2+} را تقلید می‌کند و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها جلوگیری می‌نماید.

*Email:Lariyazdi_hossein@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

یکی از مکانیسم‌های مهم سمیت‌زدایی فلزات سنگین سمی در اکثر گیاهان و جلبک‌ها تولید پرولین است، تجمع پرولین در گیاهانی که در معرض تنش فلزات سنگین می‌باشند موجب کاهش آسیب به غشاء و پروتئین‌ها می‌شود (Verma, 1999).

فلزات سنگین به وسیله مهار آنزیم‌های γ- آمینولولینیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیلید ردوکتاز سبب مهار بیوسنتز کلروفیل می‌شوند. این فلزات سنتز γ- آمینولولینیک اسید و تشکیل کمپلکس آنزیم پروتو کلروفیلید ردوکتاز با سوبسترا را مهار می‌کنند. برهمکنش متقابل فلز سنگین با گروه سولفیدریل آنزیم‌ها مهمترین مکانیسم این مهار عنوان شده است (Jolanta, 2002). اسید سالیسیلیک یا اورتودی هیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات وابسته، متعلق به گروه متنوع فنل‌های گیاهی می‌باشد (فتحی و اسماعیل پور، ۱۳۷۹).

اسید سالیسیلیک باعث مضاعف شدن حجم کلروفیل و آنتوسیانین در گیاهانی مانند ذرت می‌شود (Khodary, 2004). تحقیقات نشان می‌دهد که اسیدسالیسیلیک می‌تواند آسیب وارده از طریق اکسیداتیو را با حفظ کردن فعالیت سوپراکسید دسموتاز (SOD) برای زدودن و دفع O_2 بکاهد (Rao et al., 1997).

کلزا با نام علمی *Brassica napus* L. متعلق به تیره شب‌بو (Brassicaceae) است (مظفریان، ۱۳۷۳) و یکی از مهمترین دانه‌های روغنی مورد مصرف در جهان بوده و در مجموع پس از سویا و نخل روغنی سومین رده را از حیث اهمیت تولید روغن گیاهی در جهان به خود اختصاص می‌دهد و از مهمترین گیاهان روغنی مناطق معتدل دنیا محسوب می‌شود.

با توجه به نقش و اهمیت گیاهان تیره براسیکاسه در آلایش زدایی فلزات سنگین و توسعه کشت دانه‌های روغنی از جمله کلزا در کشور، در این پژوهش از یک طرف اثر سمی سرب بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفته و از طرف دیگر یافتن پاسخ این سوال که آیا کاربرد اسیدسالیسیلیک می‌تواند اثرات مثبتی در رفع بازدارندگی رشد و متابولیسم برای گیاه داشته باشد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثرات بر همکنش سرب و اسیدسالیسیلیک، پس از تهیه بذر از جهاد کشاورزی استان لرستان به کشت آن‌ها اقدام شد. ابتدا بذرها بر روی سبدهایی با منافذ تقریبی ۲×٤ mm تا زمان رسیدن به مرحله دو برگی رشد کرده و بعد از گذشت یک هفته به ظروف تیره ٦٥٠ میلی‌لیتری حاوی محلول هوگلند نیم قدرت (محیط هیدروپونیک) انتقال یافته و بعد از گذشت ٢٤ ساعت تحت تیمارهای نیترات سرب با غلظت‌های (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱/۱،۵و۲ میلی مولار) و سرب با غلظت‌های فوق به همراه اسید سالیسیلیک ۵ و ۱۰ میکرومولار با سه تکرار قرار گرفتند. سپس گیاهان به مدت ۱۰ روز درون ژرمیناتوری رشد کردند و بعد از گذشت ۱۰ روز اندام هوایی و ریشه گیاهان به منظور سنجش فعالیت‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و محتوی پرولین جدا شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

سنجش پرولین (Bates et al., 1973)

۰/۵ گرم بافت تر گیاهی را توزین کرده و در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳٪ اسید سولفوسالیسیلیک سائیده و سپس نمونه‌ها را صاف کرده و از هر نمونه ۲ میلی‌لیتر برداشته و به هر کدام ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نینهیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص افزوده و لوله‌ها را در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت قرار داده، سپس جهت قطع واکنش محلول‌ها را در حمام یخ قرار داده و به آن‌ها ٤ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و لوله‌ها را با استفاده از شیکر به شدت تکان داده و با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت۲۰ ثانیه دو لایه کاملاً مجزا تشکیل گردید که از لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود جهت اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد، مقدار معینی از این بخش جدا شده را به منظور تعیین میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده و در طول موج ۵۲۰ نانومتر مقدار جذب را قرائت نموده و مقدار پرولین موجود را با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه نموده، این منحنی بر اساس خواندن جذب محلول‌هایی از پرولین با

Archive of SID

www.SID.ir

غلظت معلوم تهیه و بر اساس محاسبه آن معادله، غلظت پرولین مجهول برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر بافت گیاهی به دست آمد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی (Arnon, 1949)

برای سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی ابتدا ۰/۲ گرم برگ را جدا نموده و در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ سائیده و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ کرده تا عمل جداسازی انجام شود و سپس حجم نهایی عصاره را با ۱۰ میلی‌لیتر دیگر از استون ۸۰٪ به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده و سپس جذب نوری عصاره‌ها در طول موج‌های ٦٤٥ و ٦٦٣ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و با توجه به وزن تر هر نمونه بر حسب میلی گرم بر گرم ماده تر محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (Koroi, 1989)

الف: تهیه محلول عصاره‌گیری

۱/۲ گرم تریس، ۰/۱ گرم اسید آسکوربیک، ۱۷/۲ گرم ساکارز، ۰/۱ گرم سیستئین کلراید و ۲٦/۸ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال را مخلوط و توسط آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده (pH 7.5)

ب: استخراج عصاره آنزیمی

سائیدن یک گرم از بافت تر گیاهی (اندام هوایی، ریشه) با ۵ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری، سانتریفوژ محلول به مدت ۰/۵ ساعت با ۱۰۰۰۰g، نگهداری محلول رویی در دمای ٤ درجه سانتی گراد.

ج: سنجش فعالیت آنزیم

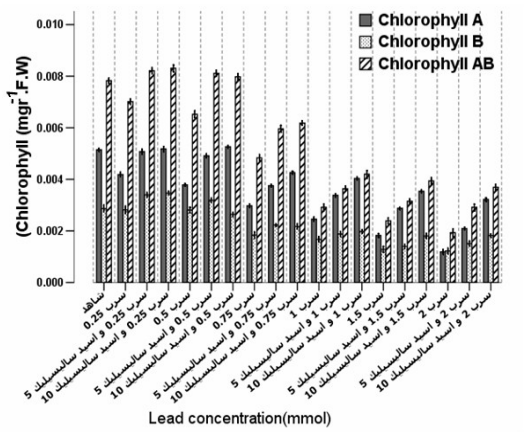
مخلوط کردن ۲ میلی‌لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار با ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳٪ و ۰/۱ میلی‌لیتر بنزیرین ۰/۰۲ مولار محلول در متانول ۵۰٪، اضافه کردن ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به مخلوط فوق و خواندن جذب نوری محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر، سپس فعالیت آنزیم برحسب واحد جذب در دقیقه به ازاء هر میلی گرم پروتئین در گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش فعالیت کاتالاز

مخلوط کردن ۲/۵ میلی‌لیتر تامپون فسفات با (pH 7) و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد، سپس اضافه کردن ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول عصاره‌گیری به مخلوط فوق و خواندن جذب نوری محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر، سپس فعالیت آنزیم بر حسب واحد جذب در دقیقه به ازاء هر میلی گرم پروتئین در گرم وزن تر محاسبه گردید.

نتایج

آنالیز نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت نیترات سرب، میزان کلروفیل‌های a, b و a+b به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافته است (P<0.01). همان طوری که در شکل ۱ مشاهده می‌شود میزان کاهش کلرفیل a نسبت به کلرفیل b بیشتر بوده است. طبق نتایج به دست آمده مقادیر کلروفیل‌های a، a+b،b، تحت تیمارهای مختلف سرب به همراه اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری (P<0.01) داشته‌اند که این کاهش در رشد نسبت به تیمارهای سرب کمتر بوده است (شکل ۱).



شکل ۱: بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین مقدار کلروفیل در کلزا رقم اکاپی

تغییرات مقدار پرولین

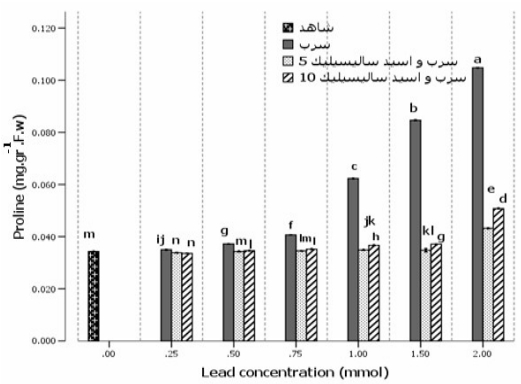
همزمان با افزایش غلظت نیترات سرب، افزایش معنی‌داری در میزان پرولین اندام هوایی و ریشه مشاهده شد (P<0.01). بر اساس آزمون دانکن افزایش میانگین پرولین در اندام هوایی و ریشه در تمام غلظت‌های نیترات سرب نسبت به شاهد معنی‌دار بوده است (P<0.01)، البته این افزایش در اندام هوایی نسبت به ریشه چشمگیرتر می‌باشد.

تحت تیمارهای نیترات سرب به همراه اسید سالیسیلیک، میزان پرولین در اندام هوایی و ریشه به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<0.01) که افزایش حاصله کمتر از تیمارهای

Archive of SID

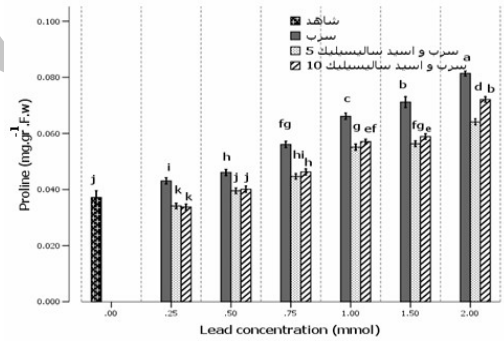
www.SID.ir

سرب بود. اختلاف معنی‌داری بین دو غلظت به کار برده شده اسید سالیسیلیک بر میانگین پرولین ریشه و اندام هوایی مشاهده شد (P<0.01) (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲: بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین پرولین در اندام هوایی رقم اکاپی

(وجود حروف مشابه نشان از معنی‌دار نبودن و حروف نامشابه نشان از معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها است)



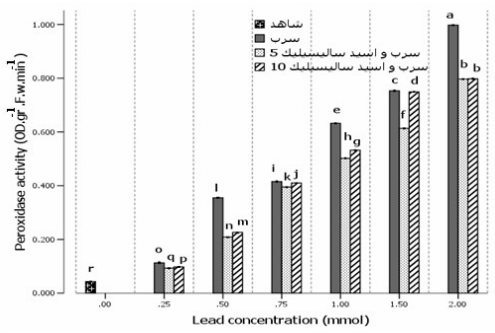
شکل ۳: بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین پرولین در ریشه رقم اکاپی

(وجود حروف مشابه نشان از معنی‌دار نبودن و حروف نامشابه نشان از معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها است)

تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز

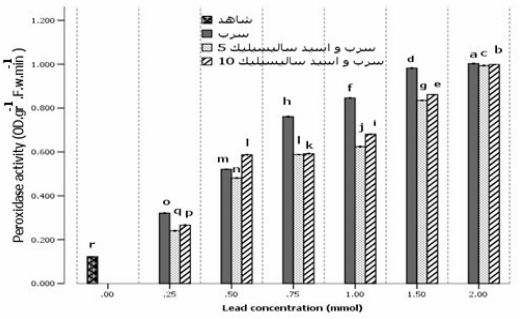
فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه با افزایش غلظت نیترات سرب در محیط غذایی هوگلند افزایش معنی‌داری یافته است (P<0.01)، که این افزایش در ریشه بیشتر از اندام هوایی بوده است، در اندام هوایی و ریشه طبق آزمون دانکن بین کلیه غلظت‌های نیترات سرب با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<0.01).

با استفاده از اسید سالیسیلیک توام با سرب، افزایش معنی‌داری (P<0.01) در فعالیت آنزیم پراکسیداز اندام هوایی و ریشه مشاهده شد که این افزایش در رشد نسبت به تیمارهای سرب کمتر بوده است. بین دو غلظت اسید سالیسیلیک به کار برده شده بر میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه تفاوت معنی‌داری (P<0.01) مشاهده شد و اسید سالیسیلیک با غلظت کمتر (۵µmol) اثرات سرب را بیشتر مهار کرده است (شکل ٤ و ۵).



شکل ٤: بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی رقم اکاپی

(وجود حروف مشابه نشان از معنی‌دار نبودن و حروف نامشابه نشان از معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها است)



شکل ۵: بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه رقم اکاپی

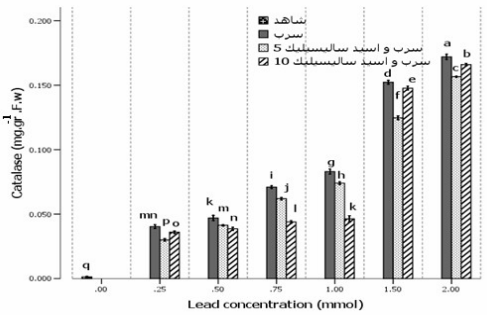
(وجود حروف مشابه نشان از معنی‌دار نبودن و حروف نامشابه نشان از معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها است)

تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج به دست آمده از سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که با افزایش غلظت سرب فعالیت آنزیم در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته است، سرب سبب افزایش معنی‌داری

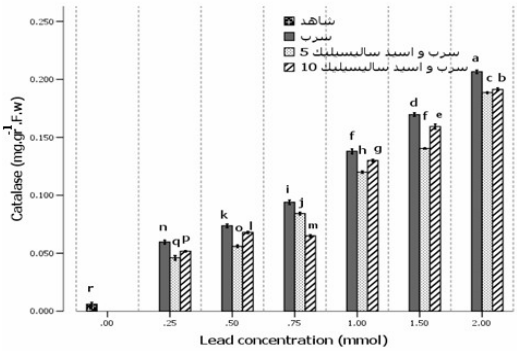
www.SID.ir

(P<0.01) در فعالیت آنزیم کاتالاز اندام هوایی و ریشه شد که این افزایش در اندام هوایی بیشتر از ریشه بوده است و در کلیه غلظت‌های سرب (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار)، فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری (P<0.01) داشته است. با استفاده از اسید سالیسیلیک توام با سرب افزایش معنی‌داری (P<0.01) در فعالیت آنزیم کاتالاز اندام هوایی و ریشه مشاهده شد که این افزایش در رشد نسبت به تیمارهای سرب کمتر بوده است. اختلاف بین دو غلظت اسید سالیسیلیک (۱۰µmolو ۵) بر میانگین پارامتر مذکور در ریشه در سطح P<0.05 و در اندام هوایی در سطح P<0.01 مشاهده شد.



شکل ٦: بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه رقم اکاپی

(وجود حروف مشابه نشان از معنی‌دار نبودن و حروف نامشابه نشان از معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها است)



شکل ۷: بررسی اثر سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی رقم اکاپی

(وجود حروف مشابه نشان از معنی‌دار نبودن و حروف نامشابه نشان از معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها است)

در اندام هوایی اسید سالیسیلیک (۵µmol) در اکثر غلظت‌ها اثر سرب را بیشتر مهار نموده، ولی در ریشه اسید سالیسیلیک (۱۰µmol) در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵و ۱ میلی‌مولار نیترات سرب و اسید سالیسیلیک (۵µmol) در غلظت‌های ۰/۲۵، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار نیترات سرب اثر مطلوب‌تری داشته است و سبب تعدیل بیشتر تنش ناشی از سرب شده است (شکل‌های ٦ و ۷).

بحث

تغییرات کلروفیل

با توجه به نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس داده‌ها، مقادیر کلروفیل‌های a, b و (a+b) تحت تیمارهای مختلف نیترات سرب نسبت به شاهد کاهش معنی داری یافته است (P<0.01). نتایج حاصله مطابق با Xiong (۲۰۰٦) است. یکی از علل کاهش مقدار کلروفیل، مهار بیوسنتز کلروفیل به وسیله فلزات سنگین می‌باشد (Dubey, 1997).

از دیگر اثرات فلزات سنگین بر بیوسنتز کلروفیل می‌توان به جانشین شدن فلزات سنگین به جای Mg مرکزی کلروفیل اشاره کرد که این جانشینی سبب کاهش دریافت نور به وسیله کلروفیل گشته و منجر به زردی برگ‌ها و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌شود (Kupper et al., 1969). طبق نتایج به دست آمده با افزایش غلظت سرب در محیط از میزان کلروفیل‌های a, b, (a+b) کاسته شد در حالی که با به کارگیری اسید سالیسیلیک در محیط اثرات سرب تعدیل یافت و باعث افزایش میزان کلروفیل‌ها نسبت به تیمارهای سرب گردید که با یافته‌های (Zhao, 1995) مطابقت دارد که بیان می‌کند افزایش در میزان فتوسنتز سویا در اثر کاربرد ترکیبات فنلی از جمله اسید سالیسیلیک بوده و افزایش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی را عامل بالا رفتن فتوسنتز به حساب آورد. Khodary در سال ۲۰۰٤ دریافت که تیمار اسید سالیسیلیک محتوی کلروفیل و کارتنوئیدها را در گیاه ذرت افزایش می‌دهد.

تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز

با توجه به نتایج حاصله از تحقیق حاضر، همزمان با افزایش غلظت نیترات سرب، افزایش معنی داری (P<0.01) در فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز اندام هوایی و ریشه

Archive of SID

www.SID.ir

مشاهده شد. این نتایج با نتایج Ayaz and kadiogulu (۱۹۹۷) و Hess and foster در سال ۱۹۹۰ مطابقت دارد.

تحت شرایط تنش آنزیم‌های آنتی اکسیدان شامل کاتالازها و تعداد زیادی از پراکسیدازها از جمله گایاکول پراکسیدازو آسکوربات پراکسیداز فعال می‌شوند (Prassad, 1997). Shalini در سال ۲۰۰۳ بیان کرد که کاتالازها و اکسیدازها از جمله آنزیم‌هایی به شمار می‌روند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مثل تنش سرب دارند. بررسی نتایج حاکی از آن است که افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدان به عنوان مکانیسم دفاعی ثانویه در مقابل تنش اکسیداتیو است.

با توجه به نتایج حاصله از تحقیق حاضر، در تیمار نیترات سرب به همراه اسید سالیسیلیک، افزایش معنی‌داری ($P<0.01$) در فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز اندام هوایی و ریشه مشاهده شد که این افزایش نسبت به تیمارهای سرب کمتر بود. تأثیر اسیدسالیسیلیک بر کاتالاز بستگی به دوز مصرفی داشته و در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت است (Data et al., 1998).

غلظت ۰/۵ میلی مول اسیدسالیسیلیک موجب افزایش فعالیت کاتالاز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و مهار یا توقف فعالیت آنزیم کاتالاز در دمای ٤٢ درجه سانتیگراد در بذرهای ذرت می‌شود (Data et al., 1998). اسیدسالیسیلیک با ممانعت از فعالیت کاتالاز باعث افزایش در غلظت پراکسید هیدروژن در گیاه توتون می‌شود (Chen et al., 1993). افزایش پراکسید هیدروژن به تحریک دیگر مکانیسم‌های حفاظتی کمک می‌کند (جعفری و همکاران، ۱۳۸۲؛ باغبانها و همکاران، ۱۳۸۵).

تغییرات مقدار پرولین

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که مقدار پرولین ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد با افزایش غلظت سرب افزایش یافته که با یافته‌های (Siripornadulsi, 2002) مطابقت دارد. پرولین در تعدیل تنش‌های محیطی از جمله تنش‌های فلزات سنگین در گیاهان و میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند. پرولین احتمالاً در سلول‌های تحت تنش نقش آنتی اکسیدانی دارد (Siripornadulsi, 2002).

مکانیسم اکثر گیاهان و جلبک‌ها در پاسخ به فلزات سنگین تولید پرولین می‌باشد (Mehta and Gaur, 1999) و انباشتگی پرولین در گیاهان تحت تنش باعث کاهش آسیب به غشاء می‌گردد (Wierzbicka, 1987).

سالیسیلیک اسید تقریباً بر اکثر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر می‌گذارد و موجب تغیراتی در آن‌ها می‌شود، این تغییرات اغلب به صورت سازش‌هایی است که مقدار تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (Metwally, 2003).

درگیاه جو، گندم، لوبیا و گوجه فرنگی طی تنش اکسیداتیو مقدار تجمع پرولین با تیمار هورمون اسید سالیسیلیک افزایش یافته است و این افزایش منجر به مقاومت در برابر از دست رفتن آب، افزایش محتوی اندام هوایی و تسریع رشد گیاهان در شرایط تنش شده است (Tasgin, 2003).

نتیجه‌گیری نهایی

در پژوهش فوق مشخص شد که عنصر سرب موجب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود. کاهش رنگیزه‌ها می‌تواند بر فتوسنتز تأثیر گذاشته و در نهایت موجب رشد کم گیاه شود، در عوض میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و پرولین افزایش یافته که این ترکیبات در تنش‌های مختلف به عنوان مکانیزم دفاعی ثانویه در مقابل تنش اکسیداتیو به کار می‌روند. همچنین با توجه به این که تنش ناشی از فلزات سنگین به خصوص سرب به عنوان یک عامل سمی و محدود کننده در تولیدات گیاهی است بنابراین مقابله با این تنش‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده که در این تحقیق با توجه به خواص آنتی اکسیدان و نقش شبه هورمونی اسید سالیسیلیک، نقش این ترکیب بر تعدیل تنش حاصل ضروری بوده و توانسته اثرات مخرب سرب را مهار کند.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

باغبانها، م. (۱۳۸۵). اثرات مستقل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی در افزایش مقاومت به سرما در نهال‌های لیمو شیراز. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۱۵۰ صفحه.

جعفری، ر. (۱۳۸۲) تاثیر برهمکنش کادمیوم و اسید سالیسیلیک بر روی رشد و برخی پارامترهای فیزولوژیکی گیاه لوبیا .*phaseolus vulgaris* L پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم ۱۲۰ صفحه.

فتحی، ق.، اسماعیل پور، ب. (۱۳۷۹). مواد تنظیم کننده رشد گیاهی، اصول و کاربرد، ترجمه انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۱۸۰صفخه.

مظفریان، و. (۱۳۷۳) رده بندی گیاهی، انتشارات نشر دانش آموز، ۲۵۰ صفحه.

Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 24:1-15

Ayas, F.A., kadioglu, A. (1997). Effect of heavy metals (Zn, Cd, Cu, Ni, Hg) on the soluble protein bands of germination *Lens esulenta* L. seeds. Turkish Journal of Botany, 21(2):85-88.

Bates, L.S., waldren, R.P., Treare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water – stress studies, Plant Soil, 39:205-207.

Chen, Z., Silva, H., Klessig, D. F. (1993). Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid, Science. 262: 1883-1886.

Dat, J.F., Lopez–Delgado, H., Foyer, C. H., Scott, I. M. (1998). Parallel Changes in H_20_2 and catalase during Thermotolerance Induced by Salicylic acid or Heat Acclimation in Mustard seedlings, Plant Physiol. 116: 1351-1357.

Dubey, R.S. (1997). Photosynthesis in plants under stressful conditions, In pessarakli M(ed) Hand book of photosynthesis, Dekker, New York, PP: 859-876.

Eick, M.J., Peak, J.D., Brady, P.V., Pesek, J. D. (1999). Kinetics of lead absorption/desorption on goethite: residence time effect, Soil Sci. 164: 28-39.

Foster, J.G., Hess, J.L. (1990). Responses of superoxide dismutase and glutathione reductase activities in cotton leaf tissue exposed to an atmosphere enriched in oxygen, Plant Physiol, 66: 482-487.

Giannopolitis, C.N., Ries, S.K. (1997). Superoxide Dismutases, Plant Physiol, 59:309-314.

Jolanta, M. (2002). Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concenteation in cabbage leaves caused by excess of organic Nickel complexes, Environmental and Experimental Botany, 47:115-126.

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

Kopyra, M., Gwzdz, E.A. (2003). Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*, Plant Physiol and Bioch, 41: 1011-1017.

Koroi, S. A.A. (1989). Gel electrophers spectral photometrischoe under change zomeinfiussder temperature and stracture peroxidase isoenzyme, Physiology Vegetative, 20:15-22.

Kupper, H., kupper, F., Spiller, M. (1996). Environmental relevance of heavy metal – substituted chlorophylls using the example of water plants, J. Exp. Bot. 47:259-266.

Mehta, S. K., Gaur, J. P, (1999). Heavy metal induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*, New Phytobiology. 143: 253-259.

Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., Dietz, K. J. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in Barley seedling, Plant Physiology, Vol, 132. Pp: 272-281.

Prassad, M.N.N. (1997). Trace metals, in: MNV prassad (ed) plant ecophysiology, wiley, New York, PP: 207-249.

Rao, M.V., Paliyath, G., Ormrod, D.P., Murr, D. P., Watkins, C.B. (1997). Influence salicylic acid of H_2O_2 production, oxidative stress and H_2o_2 metabolizing enzymes: Salicylic acid–mediated oxidative damage requires H_2o_2, Plant Physiology. 115: 137-149.

Shalini, V., Duey, R.S. (2003). Lead toxicity induced lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plant, Plant Science. 164: 1645-1655.

Archive of SID

www.SID.ir

Yamaguchi – Shinozaki, eds (Austin, TX: R. G. landers), Pp: 153-168.

Wierzbicka, M. (1987). Lead accumulation and its translocation barriers in roots of *Allium cepa* L., autoradiograohic and ultra structural studies, Plant Cell Environment. 10: 17-26.

Xiong, Z.T., Liu, C., Gng, B. (2006). Phyto toxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinenesis* Rupr., Ecotoxico And Env. Safety. 64: 273-280.

Zhou, Z.S., Guo, K., Abdou Elbaz, A., Yang, Z.M. (2008). Salicylic acid alleviates mercury toxicity by preventing oxidative stress in roots of *Medicago sativa*. Environmental and Experimental Botany, Pages 8.

Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D. S., Sayre, R. T. (2002). Molecular mechanisms of proline mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalage, The Plant Cell. 14: 2837-2847.

Tasgin, E., Atici, O., Nalbantoglu, B. (2003). Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves, Plant Growth Regulation, 41:231-236.

Van Assche, F., Clijsters, H. (1990). Effect of metals on enzyme activity in plant cell, Environmental, 13:195-206.

Verma, D.P.S. (1999). Osmotic stress tolerance in plants: Role of proline and sulfur metabolism. In Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants, K. Shinozaki and K.

Archive of SID

www.SID.ir

The lead versas salicylic acid on pigments photosynthesis and activity of catalase, peroxidase enzaymes and the amount of proline in shoots and roots of 10 day old seedling of canola (*Brassica napus* L. cv Okapi.)

[*]Lari yazdi, H[1]., Ranjbar, M[2].,Boroumand Jazi, Sh[3]

1. Department of Biology, Islamic Azad University, Boroujerd Branch.
2. Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch.
3. Department of Biology, Islamic Azad University, Boroujerd Branch.

Abstract

Lead is one of the heavy and poisons metals which it's poisons effects is usually inconcentration higher than 30µg/g appear in leaves. Also it results decreasing the chlorophyll synthesis and the growth. In this research the effect of lead poisons on some physiological activities on 10 day old seedling of colza okapi cultivar were investigated. The Rape seeds were planted in hydroponic culture and were under different lead treatment of (0.25,0.5, 0.75,1, 1.5 & 2 mmol) then lead with above concentration Were accompanied by salicylic acid (5 and 10 µ mol) with three repeations. The amount of photosynthesis pigments including chlorophyll a, b and a+b, and the activity of peroxidase and catalase enzymes and the amount of proline were measured in shoots and roots. SPSS soft war and Duncan test were used for statistical analysis. The result was shown with increasing the concentration of $pb(No_3)_2$, the pigments of photosynthesis including chlorophyll a, b and a+b in Rape seed leaves were significantly decreased($p<0.01$). In roots and shoots the peroxidase and catalase enzymes were increased with the increasing of lead concentration in comparing with control group. Also the amount of proline in shoots and roots were increased significantly by increasing the concentration of lead ($P<0.01$) and the increasing in shoots higher than roots. Use of treatment lead and salicylic acid at the same time cause to reduce the activity of catalase and peroxidase enzymes and the amount of proline, salicylic acid reduce the lead stress.

Key words: *Brassica napus* L., Catalase, Lead, Peroxidase, Pigments Photosynthesis, Proline, Salicylic acid.

**Email:Lariyazdi_hossein@yahoo.com*

Archive of SID

www.SID.ir