



بررسی محلول‌پاشی کود روی و کلسیم بر عملکرد و صفات فیزیولوژیکی گلرنگ تحت تنش

سرب

پریسا جمشیدی^{*۱} - مهدی برادران فیروزآبادی^۲ - حکیمه علومی^۳ - هرمزد نقوی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۱۵

چکیده

به منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی روی و کلسیم بر عملکرد و صفات فیزیولوژیکی گیاه گلرنگ در تنش سرب، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات و منابع طبیعی و آموزش کشاورزی کرمان در سال ۹۴-۱۳۹۳ اجرا شد. فاکتور اول شامل سه سطح (شاهد، محلول‌پاشی ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سرب)، فاکتور دوم محلول‌پاشی سولفات روی در سه غلظت (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) و فاکتور سوم محلول‌پاشی کلرید کلسیم در دو سطح (صفر و ۱۰ میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد که در شرایط تنش سرب عملکرد دانه، وزن هزاردانه، وزن خشک برگ، تعداد دانه در طبق، وزن طبق و محتوای کلروفیل کاهش یافت و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و میزان مالون دی‌آلدهید در گیاه افزایش معنی‌داری نشان داد. محلول‌پاشی کود روی در تیمار سرب سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز، کاهش پراکسیداسیون لیپید غشاء، جلوگیری از تخریب کلروفیل و حفظ عملکرد دانه گردید و تأثیر محلول‌پاشی کود کلسیم در تیمار سرب تنها بر میزان کلروفیل معنی‌دار بود. براساس نتایج، به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی کود روی می‌تواند تأثیر بیشتری در بهبود رشد گلرنگ در شرایط تنش سرب نسبت به محلول‌پاشی کود کلسیم داشته باشد. بنابراین در آلودگی هوا به فلز سنگین سرب کاربرد کود سولفات روی می‌تواند به عنوان راهکاری بر حفظ رشد و تولید گیاهان باشد.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنزیم، فلز سنگین، کلروفیل، مالون دی‌آلدهید

مقدمه

کشت آن در بسیاری از مناطق کشور وجود دارد (Carapetian and Zarei, 2005).

نزولات جوی از قبیل باران و برف مؤثرترین راه زدایش آلاینده‌ها از اتمسفر می‌باشد و به محققین در تشخیص سهم نسبی منابع مختلف آلاینده‌ها کمک فراوانی می‌کند. سرب با عدد اتمی ۸۲ و وزن اتمی ۲۰۷/۲ یکی از فلزات سنگین است که موجب آلودگی محیط زیست می‌شود و مشکلات جدی برای همه جانداران به بار می‌آورد (Islam et al., 2008). میانگین غلظت فلز سرب در هوای شهرهای پرجمعیت مشهد $98/2 \pm 32$ نانو گرم بر متر مکعب و در هوای تهران $1/19$ میکروگرم در مترمکعب هوا گزارش شد (Pourkhabbaz and Javanmardi, 2014; Sarrafpour et al., 2010). گونه‌های مختلف گیاهی، عکس العمل‌ها و میزان حساسیت متفاوتی نسبت به آلاینده‌ها دارند، این تفاوت‌ها عمدتاً به توانایی گیاه در محدود کردن جذب آلاینده و یا در صورت جذب آن، به سم‌زدایی و دفع سم مربوط می‌شود، دامنه طبیعی غلظت سرب در گیاهان ۰ تا ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و حد بحرانی آن از ۳۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شده است (Abbaspour et al., 2006). در بررسی میزان سرب در

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یکی از قدیمی‌ترین دانه‌های روغنی دنیا می‌باشد که خاستگاه و مرکز تنوع آن در خاورمیانه است (Carapetian and Zarei, 2005). از امتیازات ارزشمند گیاه گلرنگ در ایران بومی بودن و سازگاری آن است؛ به طوری که این گیاه با شرایط محیطی خشک و نیمه‌خشک سازگاری داشته و امکان

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
 - ۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
 - ۳- استادیار، گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
 - ۴- استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران
- *- نویسنده مسئول:
(Email: pari.asteria@gmail.com)
DOI: 10.22067/gsc.v15i2.51279

گندم را بکاهد (Siddiqui *et al.*, 2011). Li و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که کاربرد کلسیم سبب افزایش جذب عناصر غذایی ضروری در شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم می‌شود و مالون‌دی‌آلدئید که نشانگر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء است، میزان آن را در شرایط تنش کاهش داد.

تا به امروز مطالعات زیادی در خصوص چگونگی آسیب فلزات سنگین به گیاهان و نیز چگونگی مهار آنها انجام شده است که در بیشتر تحقیقات به جذب این عناصر از طریق ریشه پرداخته شده است، در حالی که در مناطق آلوده این عناصر به صورت محلول به سطح برگ آمده و به سرعت جذب می‌شوند و صدماتی را به مهمترین بخش گیاه یعنی سیستم فتوسنتزی وارد می‌کنند و باعث تغییر در فعالیت سیستم دفاعی و اختلال در نفوذپذیری غشا و کاهش در رشد و عملکرد گیاه می‌گردد. در این پروژه نقش محلول پاشی کود سولفات روی و کلرید کلسیم را بر تغییر در فعالیت آنزیمی و ترکیبات حاصل از پراکسیداسیون غشا (مالون دی‌آلدئید)، آسیب‌های به‌وجود آمده بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نهایت عملکرد در تنش ایجاد شده در اثر جذب برگی سرب بررسی شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر محلول پاشی کود روی بر عملکرد و برخی از صفات فیزیولوژیکی گیاه گلرنگ در تنش سرب، آزمایشی در مزرعه مرکز تحقیقات و منابع طبیعی و آموزش کشاورزی کرمان با مشخصات جغرافیایی ۵۷ درجه ۵ دقیقه و صفر ثانیه طول شرقی و ۳۰ درجه و ۱۷ دقیقه و ۳۰ ثانیه عرض شمالی و ارتفاع ۱۸۱۹ متر از سطح دریا با اقلیم خشک و نیمه معتدل و متوسط بارندگی سالیانه ۱۴۰ میلی‌متر در سال ۹۴-۱۳۹۳ اجرا شد. کمینه و بیشینه دمای سالیانه آن به ترتیب به ۱۴- و ۴۰+ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. بافت خاک محل آزمایش از نوع لوم شنی و pH خاک نیز برابر ۷/۷ از عصاره اشباع خاک بود. بر اساس نتایج آزمون خاک، میزان ازت کل ۰/۱۴ درصد، فسفر ۸/۱۱ میلی‌گرم در کیلوگرم، پتاسیم ۱۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، میزان روی ۱/۰۸ میلی‌گرم در کیلوگرم، میزان سرب ۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، میزان سدیم ۵/۱ میلی‌اکی‌والان در لیتر و میزان کلسیم ۸/۷ میلی‌اکی‌والان در لیتر بود. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. فاکتور اول شامل سه سطح (شاهد، محلول پاشی ۰/۵ میلی‌مولار سرب، محلول پاشی ۱ میلی‌مولار نمک استات سرب)، فاکتور دوم محلول پاشی سولفات روی در سه غلظت (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) و فاکتور سوم محلول پاشی کلرید کلسیم در دو سطح (صفر، ۱۰ میلی‌مولار) بود. مزرعه توسط گاوآهن برگردان‌دار زیر و رو گردید و پس از خرد کردن کلوخه‌ها و مناسب شدن بستر جهت کاشت، فاصله بین ردیف‌های کاشت ۵۰

برنج ۵ منطقه شمال ایران نتایج نشان داد که غلظت سرب $2/23 \pm 18$ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که میزان آن از استانداردهای تعیین شده FAO/WHO بالاتر بود (Jahedkhaniki and Zazoli, 2005). در جذب برگی سرب با غلظت ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ مول، شاخص‌های رشدی و وزن تر و خشک گیاه بادمجان به شدت کاهش نشان داد (Tavakoli *et al.*, 2011). آلودگی سرب سبب تغییر در اندازه و شکل کلروپلاست و افزایش اندازه واکوئل را ایجاد می‌کند و در سطح فیزیولوژیکی، در عمل روزنه‌ها، فتوسنتز و تنفس مشکل ایجاد می‌کند که سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و موجب تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش عملکرد در گیاه می‌شود (Islam *et al.*, 2009; John *et al.*, 2009).

تقویت گیاهان با استفاده از عناصر خاص می‌تواند تحمل شرایط سخت محیطی از جمله تنش فلزات سنگین را تسهیل نماید (Cakmak, 2000). البته مصرف خاکی عناصر کم‌مصرف، علاوه بر پایین بودن کارایی جذب آنها توسط گیاه، از لحاظ اقتصادی نیز بسیار پرهزینه است و از این رو می‌توان از روش‌های جایگزین مانند محلول پاشی بهره جست (Potarzycki and Grzebisz, 2009). روی از عناصر کم مصرف نیاز است که برای رشد طبیعی و تولید مثل گیاهان زراعی ضروری است. نتایج محققین حاکی از آن است که کاربرد روی موجب افزایش تعداد دانه و وزن دانه و عملکرد در گیاه گندم شده است (Potarzycki and Grzebisz, 2009). عنصر روی در حفاظت از کلروپلاست و واکنش‌های فتوشیمیایی مرتبط با آن و نیز متعادل کردن رادیکال‌های آزاد و واکنش‌های مرتبط با آن از طریق سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش دارد (Cakmak, 2000). روی با سرب در ریشه و ساقه اثر آنتاگونیستی دارد، کاربرد روی تحت شرایط تنش سرب، رشد و تولید گیاه را بهبود می‌بخشد (Islam *et al.*, 2011). عناصر غذایی معدنی در واکنش‌های فیزیولوژیکی و مکانیسم‌های تنظیم‌کننده فتوسنتز و آنتی‌اکسیدان برای بهبود سمیت فلز سنگین نقش دارند. کلسیم نقش مهمی در سمیت‌زدایی فلزات سنگین و تحمل گیاه به تنش‌های محیطی دارد، کاربرد کلسیم به تنهایی یا همراه با فلز سنگین کادمیوم به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش سطح مالون دی‌آلدئید در گیاه شیدر شد و اثرات سمی فلز سنگین کادمیوم را کاهش داد (Wang and Song, 2009). کلسیم سبب بهبود سمیت فلزات سنگین به‌وسیله ترمیم متابولیسم گیاه و سنتز کلروفیل (Siddiqui *et al.*, 2011) و حفظ پایداری غشاء تحت شرایط تنش فلزات سنگین می‌شود (Hall *et al.*, 2002). محققین بیان کردند که کلسیم جذب، انتقال و تجمع فلزات سنگین سرب (Garland and Wilkins, 1981) و کادمیوم (Wang and Song, 2009) را در گیاهان کاهش داد. همچنین تحقیقات نشان داد که کلسیم با حفظ فعالیت سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تجمع پرولین می‌تواند آسیب‌های وارده از طریق تنش فلز نیکل در گیاه

کلروفیل a در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۲). همانطور که نتایج شکل ۱ نشان می‌دهد، بیشترین مقدار کلروفیل a در کاربرد کود کلسیم در شرایط عدم تنش به‌دست آمد و با افزایش تنش سرب از مقادیر آنها کاسته شد.

نتایج مقایسه میانگین به‌دست آمده از جدول ۲ نشان داد که میزان کلروفیل b در شرایط تنش کمتر از گیاهان شاهد بود. محلول‌پاشی سولفات روی تحت شرایط تنش سبب کاهش اثرات نامطلوب سرب گردید، به‌طوری که مقدار کلروفیل b در شدیدترین تنش سرب (۱ میلی‌مولار) تغییرات افزایشی بیشتری را نسبت به تیمار تنش ملایم سرب (۰/۵ میلی‌مولار) نشان داد و در غلظت ۱۰ میلی‌مولار روی، تغییرات مثبت معنی‌داری بر میزان کلروفیل b در تنش ملایم سرب (۰/۵ میلی‌مولار) مشاهده نشد (شکل ۲A)، که ممکن است به دلیل تأثیرگذاری غلظت‌های بالاتر عنصر روی در افزایش میزان کلروفیل b باشد که نتایج محققین دیگر نیز نشان دادند که کاربرد محلول‌پاشی سولفات روی با غلظت ۵ در هزار اثر معنی‌داری بر افزایش میزان کلروفیل داشت (Moradi Telavat et al., 2015). فتوسنتز یکی از مهمترین فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه می‌باشد که تحت تأثیر تنش‌های محیطی مانند تنش فلزات سنگین قرار می‌گیرد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار سرب می‌تواند به دلیل آسیب‌های اکسیداتیو باشد که باعث بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه‌های دیگر می‌شود. گزارش شده است که فعالیت آنزیم کلیدی بیوسنتز کلروفیل یعنی اسید دلتا-مینولولونیک دهیدروژناز در حضور یون‌های سرب در محیط به شدت متوقف شده و از میزان کلروفیل و رشد گیاه کاسته می‌شود (Prasad and Prasad, 1987). غلظت‌های بالای سرب در گیاه از طریق اختلال در فعالیت طبیعی ناقل‌های غشاء باعث کاهش جذب عناصر غذایی ضروری مانند کلسیم، منیزیم و آهن می‌شود و در نتیجه گیاهان تیمار شده با سرب علائم کمبود این عناصر ضروری را نشان می‌دهند (Sharma and Dubey, 2005). با توجه به نتایج محققین، تنش سرب بر جذب و انتقال عناصر غذایی ضروری از جمله کلسیم اثر منفی دارد، بنابراین با وجود کلسیم در خاک مزرعه، با افزایش غلظت آن در برگ‌ها از طریق محلول‌پاشی، سبب حفظ سنتز کلروفیل و جلوگیری از کمبود آن در شرایط تنش سرب می‌شود. کمبود کلسیم سبب زرد شدن و پیری برگ‌ها می‌شود که ناشی از کاهش بیوسنتز کلروفیل در گیاهان است (Bian et al., 2013). کلسیم یک ماده غذایی مهم است که در رشد و توسعه گیاه و سنتز کلروفیل نقش دارد (White, 2000). محققین همچنین بیان کردند که عنصر روی از طریق حفاظت از کلروپلاست و واکنش‌های فتوشیمیایی مرتبط با آن سبب کاهش آسیب‌های سلولی به‌وجود آمده به‌وسیله گونه‌های فعال اکسیژن تحت شرایط تنش‌های مختلف از جمله فلزات سنگین می‌شود (Cakmak, 2000).

سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد، میزان تراکم کاشت ۲۰ گیاه در متر مربع بود. براساس نتایج آزمون خاک، در زمان کاشت به مقدار ۱۲۰ کیلوگرم اوره، ۱۰۰ کیلوگرم سوپر فسفات تریپل و ۷۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم پس از شخم و قبل از دیسک‌زنی به مزرعه داده شد. بقیه کود اوره به‌صورت سرک به مقدار ۶۰ کیلوگرم در زمان شروع گلدهی به کار رفت. عملیات کاشت در تاریخ ۱۰ آبان ماه ۱۳۹۳ به‌صورت دستی انجام شد. رقم مورد استفاده در این آزمایش رقم گل‌دشت بود. بذور در عمق ۴ سانتی‌متری در محل داغ آب کاشته شدند. برای محلول‌پاشی بر سطح برگ ابتدا غلظت‌های مختلف سرب (شاهد، محلول‌پاشی ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سرب) از نمک استات سرب تهیه شد و در اوایل مرحله ساقه‌دهی به‌وسیله مه‌پاش بر روی هر دو سطح فوقانی و تحتانی برگ محلول‌پاشی گردید. در محلول‌پاشی کلرید کلسیم و سولفات روی در فاصله زمانی ده روز پس از تنش اعمال شد و دو هفته بعد از آن از برگ‌های جوان و کاملاً بالغ نمونه تهیه و بلافاصله در نیتروژن مایع غوطه‌ور گشتند. همچنین وزن خشک برگ و ساقه نیز دو هفته بعد از اعمال تیمارها اندازه‌گیری شد، که برگ، ساقه و ریشه گیاهان از هم جدا شدند و پس از شستشو با آب مقطر، کاملاً خشک شد، در مرحله بعد نمونه‌ها درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و بعد از خشک شدن به‌وسیله ترازو، وزن خشک برگ و ساقه تعیین شد. عملیات برداشت جهت حصول عملکرد دانه و اجزای عملکرد در مرحله رسیدگی از وسط هر کرت و با رعایت اثرات حاشیه‌ای از یک متر مربع نمونه‌برداری صورت گرفت. جهت سنجش میزان کلروفیل a، b با استفاده از روش لیچن تالر و ولبرن (۱۱) انجام شد. جهت استخراج عصاره آنزیم از روش Bor و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش Beers و Sizer (۱۹۵۲)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) و مالون دی‌آلدهید طبق روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده شدند. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم شکل‌ها با نرم‌افزار اکسل و مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده، با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی: در این تحقیق نتایج حاصل از آنالیز رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد که تنش ناشی از سرب در گیاه گلرنگ اثر معنی‌داری در میزان کلروفیل a داشت (جدول ۱)؛ به‌طوری که تنش سرب مقدار کلروفیل a (۱ میلی‌مولار) را به‌طور متوسط ۳۲/۳۲ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محلول‌پاشی سولفات روی موجب افزایش میزان

جدول ۱ - نتایج تجزیه واریانس تیمارهای تنش سرب، کود روی و کلسیم و اثر متقابل آنها بر عملکرد و اجزای عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه گلرنگ
 Table 1. Results of variance analysis (ANOVA) of pb stress, zinc (Zn), calcium (Ca) and their interaction effects on yield, yield components and some physiological traits of safflower plant

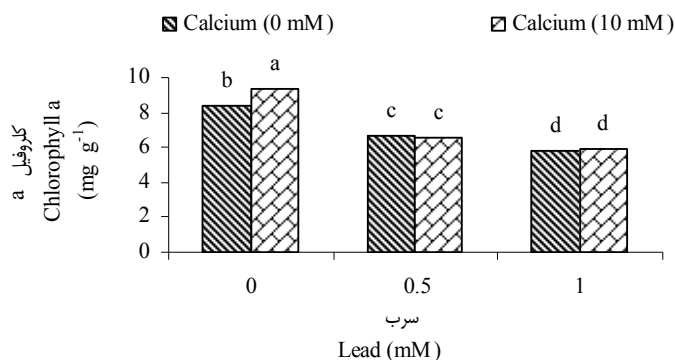
منابع تغییر Source of variance	df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	عملکرد دانه Grain yield	وزن هزار دانه 1000 seeds weight	تعداد دانه در طبق Seed number per head	وزن طبق Head weight	کاتالاز Catalase	اسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	مالون دی آلدئید Malondialdehyde
تکرار Replication	2	0.08 ^{ns}	0.35 ^{ns}	99.8 ^{ns}	18234.8 ^{ns}	33363.3 ^{ns}	8.26 ^{ns}	17.35 ^{ns}	0.46 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.13 ^{ns}
سرب (A) Lead	2	42.25 ^{**}	53.17 ^{**}	47360.1 ^{**}	45240.8 ^{ns}	376728.8 ^{**}	279.8 ^{**}	180.8 ^{**}	7.5 ^{**}	3.80 [*]	0.2 ^{**}	1.3 ^{**}
روی (B) Zinc	2	7.24 ^{**}	18.75 ^{**}	5832.3 ^{**}	158648.6 ^{**}	189423.0 ^{**}	45.41 [*]	21.63 ^{ns}	1.4 [*]	0.46 ^{**}	2.1 ^{**}	8.7 ^{**}
کلسیم (C) Calcium	1	1.47 ^{ns}	6.09 ^{**}	35676.7 [*]	48600.0 ^{ns}	97028.1 [*]	0.98 ^{ns}	60.17 [*]	0.6 ^{ns}	0.09 ^{**}	0.17 [*]	1.7 [*]
A*B	4	0.41 ^{ns}	6.5 ^{**}	6299.4 ^{ns}	5552.2 ^{ns}	107123.8 ^{**}	22.2 ^{ns}	17.24 ^{ns}	0.1 ^{ns}	0.05 ^{**}	0.03 ^{ns}	1.22 [*]
A*C	2	1.75 [*]	0.28 ^{ns}	381.4 ^{ns}	4854.2 ^{ns}	21040.3 ^{ns}	0.96 ^{ns}	14.39 ^{ns}	0.1 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.01 ^{ns}
B*C	2	0.31 ^{ns}	0.86 ^{ns}	560.3 ^{ns}	546.0 ^{ns}	43993.0 ^{ns}	1.17 ^{ns}	0.88 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.1 [*]	0.02 ^{ns}
A*B*C	4	1.61 ^{**}	1.01 ^{ns}	632.3 ^{ns}	2599.5 ^{ns}	20697.1 ^{ns}	5.86 ^{ns}	8.11 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.4 ^{ns}
Error	34	0.37	0.42	7650.9	18122.0	19210.39	11.04	11.08	0.34	0.01	0.03	0.37
CV (%)	-	8.5	10.4	10.3	9.2	7.1	9.2	6.7	5.53	6.5	6.7	7.1

^{ns}, ^{*}, ^{**} and ^{**} are not significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively
^{ns}, ^{*}, ^{**} و ^{**} به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال 5٪ و 1٪

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرهای ساده سطوح مختلف تنش سرب، کود روی و کلسیم بر صفات مورد مطالعه گیاه کلرنگ
Table 2. Means comparison of studied traits of Safflower by lead stress, zinc (Zn) and calcium (Ca) fertilizer

تیمار Treatment	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	وزن خشک		وزن خشک		عملکرد دانه Grain yield	وزن هزار دانه 1000 seeds weight		تعداد دانه در طبق Seed number per head	وزن طبق در بوته Head weight	کاتالاز Catalases	اسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	مالون دی‌آلدهید Malondialdehyd e
			برگ Leaf dry weight	ساقه Stem dry weight	ساقه خشک Stem dry weight	دانه Grain yield		گ	g					
سرب (میلی مولار) Lead (mM)														
شاهد Control	8.88 a	8.18 a	903.67 a	1518.2 a	2328.5 a	53.36 a	46.44 a	7.87 a	1.32 b	2.56 b	3.38 b			
0.5	6.53 b	5.46 b	832.44 b	1434.7 a	2112.7 b	51.64 a	43.5 b	7.83 a	1.96 b	2.5 b	6.52 ab			
1	6.01 c	5.00 c	804.1 b	1428.4 a	1450.6 c	45.83 b	40.11 c	6.73 b	2.22 a	2.73 a	6.9 a			
روی (میلی مولار) Zinc (mM)														
شاهد Control	6.41 b	5.06 b	794.00 b	1393.0 b	1861.6 c	48.55 b	42.61 a	7.16 b	1.68 c	2.22 c	7.23 a			
10	7.46 a	6.59 a	838.89 b	1420.6 b	1963.4 b	50.06 ab	42.83 a	7.57 a	1.81 b	2.7 b	6.72 b			
20	7.54 a	6.99 a	907.33 a	1567.7 a	2066.7 a	51.7 a	44.61 a	7.69 a	2.00 a	2.88 a	5.85 c			
کلسیم (میلی مولار) Calcium (mM)														
شاهد Control	6.97 a	5.88 b	821.04 b	1430.4 a	1921.5 b	50.15 a	42.30 b	7.37 a	1.79 b	2.55 b	6.78 a			
10	7.3 a	6.555 a	872.44 a	190.4 a	2006.3 a	50.42 a	44.41 a	7.59 a	1.87 a	2.65 a	6.42 b			

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون LSD (P ≤ 0.05) اختلاف معنی‌داری ندارند.
Means followed by similar letters in each column are not significantly according to LSD test (P ≤ 0.05).

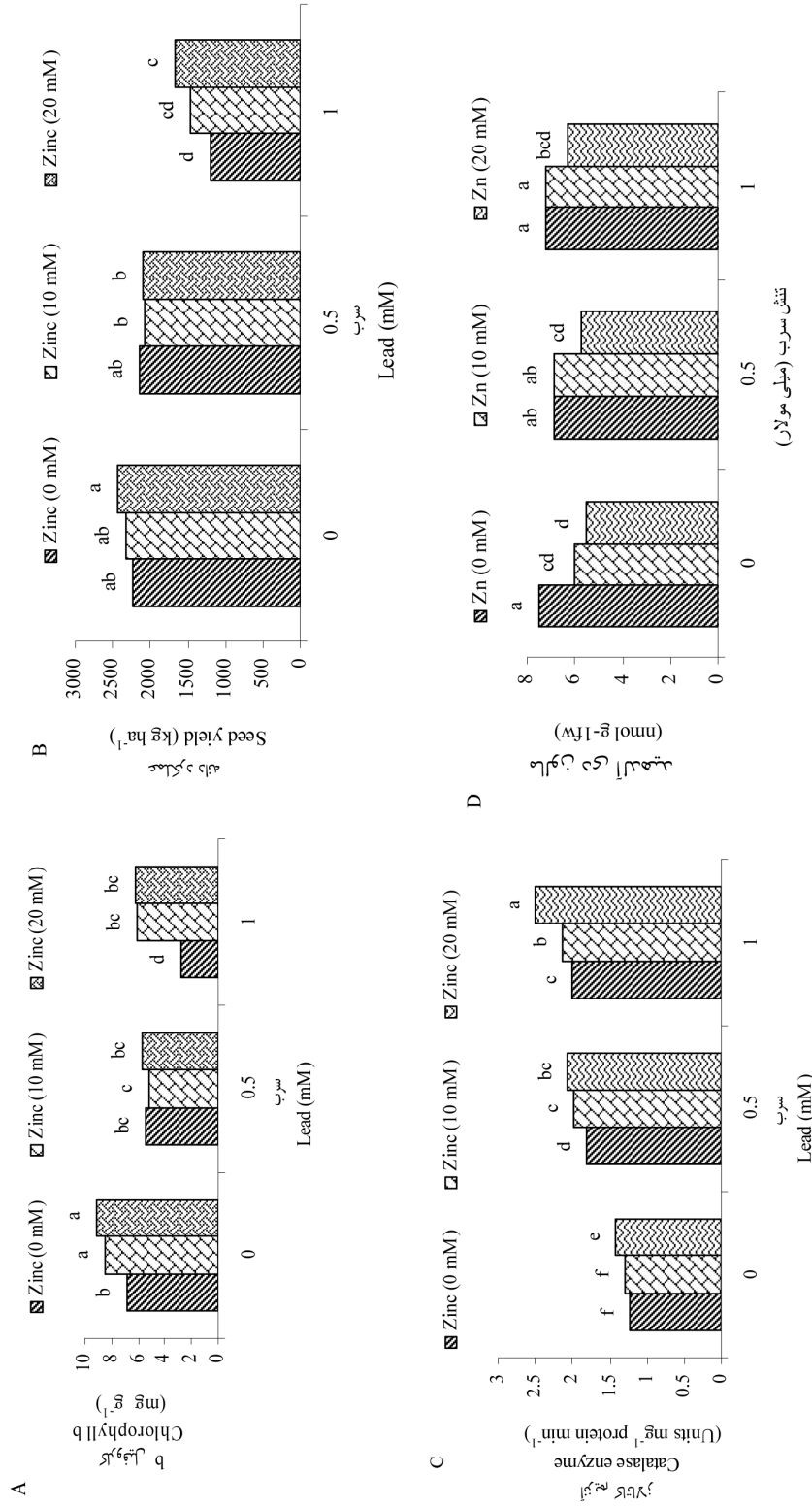


شکل ۱- اثر تنش سرب و کلرید کلسیم بر میزان کلروفیل a در گیاه گلرنگ
Figure 1- Effects of lead stress and calcium chloride on chlorophyll a in safflower plant

عنصر روی کاهش می‌یابد. با کاربرد محلول پاشی عناصر کم مصرف میزان عملکرد در گیاه ذرت به علت بهبود فعالیت آنزیمی در گیاه افزایش یافت (Potarzycki and Grzebisz, 2009).

عملکرد و اجزای عملکرد: اثر تنش سرب بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد گیاه گلرنگ اثر معنی‌داری داشت و کاربرد کلسیم بر عملکرد دانه و تعداد دانه در طبق و کود روی بر عملکرد دانه، وزن هزار دانه و وزن طبق در بوته معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج این تحقیق نشان داد که در گیاهان تحت تنش سرب در غلظت ۱ میلی‌مولار میزان عملکرد دانه (۳۷/۷ درصد) و وزن هزار دانه (۱۴/۱۱ درصد) کاهش یافت (جدول ۲). محلول پاشی کود سولفات روی سبب افزایش تدریجی وزن هزاردانه گردید به طوری که غلظت ۲۰ میلی‌مولار بیشترین تأثیر را بر میزان وزن هزاردانه داشت (جدول ۲). نتایج شکل ۲B، تغییرات سرب و کود روی بر میزان عملکرد دانه را نشان می‌دهد، بیشترین عملکرد دانه در محلول پاشی سولفات روی (غلظت ۲۰ میلی‌مولار) در شرایط عدم تنش سرب مشاهده شد و در بالاترین سطح تنش سرب (غلظت ۱ میلی‌مولار) با محلول پاشی سولفات روی (غلظت ۲۰ میلی‌مولار) میزان عملکرد ۳۹/۶۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. نتایج این تحقیق با یافته‌های جان و همکاران (۸) مبنی بر این که غلظت‌های بالای تنش سرب سبب کاهش عملکرد و اجزای عملکرد در گیاه می‌شود، مطابقت دارد. در شرایط تنش همراه با کوتاه شدن دوره رشد و دوره پر شدن دانه، وزن نهایی دانه‌ها نیز کاهش می‌یابد. از علائم سمیت ناشی از سرب توقف سریع رشد گیاه می‌باشد (Islam et al., 2011). کاربرد کود سولفات روی به صورت محلول پاشی تأثیر مثبتی در حفظ عملکرد دانه در شرایط تنش داشت.

صفات زراعی: تأثیر تیمارهای محلول پاشی کود روی و کلسیم و نیز تنش سرب بر میزان وزن خشک برگ معنی‌دار بود و در بین تیمارهای مورد آزمایش تنها اثر کود سولفات روی بر میزان وزن خشک ساقه اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). بیشترین میزان وزن خشک ساقه در تیمار محلول پاشی سولفات روی با غلظت ۲۰ میلی‌مولار (۱۵۶۷/۷ کیلوگرم در هکتار) حاصل گردید (جدول ۲). تنش سرب باعث ایجاد یک روند کاهش تدریجی در مقادیر وزن خشک برگ گردید، به طوری که در گیاهان تحت تیمار محلول پاشی سرب در غلظت ۱ میلی‌مولار (۱۱/۰۲٪) نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۲). به نظر می‌رسد که غلظت زیاد سرب باعث کاهش رشد سلول می‌گردد. کاهش رشد و عملکرد گیاه تحت تنش احتمالاً در اثر تغییرات در تولیدات فتوسنتزی گیاه می‌باشد که سبب کاهش رشد در اندام هوایی گیاه به‌ویژه در تولید وزن خشک برگ می‌گردد. فلزات سنگین با اختلال در مسیرهای مختلف متابولیکی، رشد و تولید شدن سلول‌های گیاهی آسیب می‌رساند. همچنین نتایج گزارشات در این تحقیق مشابه با Islam (۲۰۰۸) است، مبنی بر این که سرب سبب کاهش رشد گیاه می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد که در بالاترین سطح کودی روی (۲۰ میلی‌مولار) و کلسیم (۱۰ میلی‌مولار) میزان وزن خشک برگ افزایش یافت (جدول ۲). عنصر کم مصرف روی با افزایش جذب نیتروژن باعث افزایش سطح برگ، ارتفاع بوته و در نتیجه افزایش وزن خشک بوته می‌شود (Potarzycki and Grzebisz, 2009). عنصر روی در سنتز و تولید کلروفیل نقش مؤثری دارد بنابراین فتوسنتز و تولید مواد غذایی بیشتر را در گیاه افزایش می‌دهد. به طوری کلی تولید وزن خشک گیاه و انتقال آن به قسمت‌های مختلف گیاه در شرایط کمبود عناصر کم مصرفی از جمله



شکل ۲- اثر تنش سرب و کود روی بر میزان کلروفیل b (A)، عملکرد دانه (B)، فعالیت آنزیم کاتالاز (C) و مالون دی آلدیه در گیاه گلرنگ (D) در گیاه گلرنگ
 Figure 2- Effects of lead stress and zinc fertilizer on chlorophyll b (A), seed yield (B), catalase enzyme (C) and malondialdehyde content (D) in safflower plant

با توجه به نقش مؤثر عناصر کم مصرف از جمله روی در سنتز کلروفیل، با مصرف این عنصر افزایش عملکرد گیاه مورد انتظار است. گزارش نتایج در این پژوهش با گزارش‌های Potarzycki و Grzebisz (۲۰۰۹) مبنی بر این که عنصر کم مصرف روی باعث افزایش عملکرد دانه و عملکرد زیستی گیاه ذرت شد، همسو است. نتایج جدول ۲ نشان داد که در بالاترین شدت تنش سرب (۱ میلی‌مولار) سبب کاهش میزان ۱۴/۴۸ درصد وزن طبق در بوته و ۱۳/۶۳ درصد تعداد دانه در طبق گردید و تغذیه گیاهان با کود کلسیم سبب افزایش تعداد دانه در طبق گردید، به طوری که بیشترین میزان مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌مولار کود کلسیم حاصل گردید (جدول ۲). محلول پاشی سولفات روی وزن طبق در بوته را نسبت به شاهد افزایش داد، اما تفاوت معنی‌داری بین دو سطح کودی وجود نداشت (جدول ۲). نتایج حاصل در این پژوهش با گزارش‌های John و همکاران (۲۰۰۹) مبنی بر این که سرب موجب کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد نیز همسو است. کاهش رشد و عملکرد در شرایط تنش سرب احتمالاً به علت تغییر در انتقال فرآورده‌های فتوسنتزی و کاهش رشد بخش هوایی گیاه است و به نظر می‌رسد بهبود شرایط تغذیه‌ای و نقش مثبت روی در فتوسنتز می‌تواند در افزایش رشد و عملکرد گیاه نقش داشته باشد، که در این تحقیق محلول پاشی کود سولفات روی میزان وزن طبق در بوته را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. نتایج به‌دست آمده از آزمایشات Potarzycki و Grzebisz (۲۰۰۹) نیز نشان داد که کاربرد کود روی از طریق افزایش جذب نیتروژن، اثر مثبتی بر اجزاء عملکرد و در نهایت عملکرد دانه گیاه ذرت داشت. همچنین Ahmadi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که محلول پاشی عناصر کلسیم و روی بیشترین تأثیر را بر افزایش عملکرد دانه از طریق تأثیرگذاری بر اجزای عملکرد گیاه کنگد داشت. کلسیم در خاک‌های مناطق خشک نسبت به سایر عناصر غذایی به مقدار بیشتری در محلول خاک وجود دارد، اما این عنصر از عناصر غذایی است که تقریباً غیرمتحرک بوده و انتقال آن در داخل گیاه بسیار کم است که در این تحقیق، در شرایط عدم تنش، محلول پاشی کلسیم عملکرد دانه گلرنگ را نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد.

فعالیت آنزیمی و پراکسیداسیون لیپید غشا: اعمال تنش

فلز سنگین سرب تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز داشت (جدول ۱ و ۲)، به طوری که در شدیدترین سطح تنش مقدار آنزیم کاتالاز ۲/۲۲ و آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۲/۷۳ ($\text{Units mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$) بود. تغذیه گیاه با کود روی و کلسیم توانست، فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در گیاه گلرنگ بهبود بخشد. تیمار محلول پاشی کود کلسیم در شرایط عدم تنش اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان داشت، به طوری که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۲/۶۵ و کاتالاز ۱/۸۷

($\text{Units mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$) بود (جدول ۲). کاربرد محلول پاشی سولفات روی هم در شرایط تنش و هم عدم تنش سبب کاهش اثرات نامطلوب سرب گردید، به طوری که کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار شاهد و بیشترین آن در غلظت ۲۰ میلی‌مولار کود سولفات روی در شدیدترین سطح تنش (۱ میلی‌مولار) حاصل گردید (شکل ۳). اثرات سمی فلزات سنگین به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد است. در این مطالعه مشاهده شد که تیمار سرب باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها گردید. محققین بیان کردند که عنصر کلسیم با تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، شرایط ادامه حیات را برای گیاه گندم در شرایط تنش فلز سنگین فراهم نمود (Siddiqui *et al.*, 2011). نتایج مطالعات نشان داد که تغذیه گیاه با کلسیم در شرایط تنش فلز سنگین سرب (Garland and Wilkins, 1981) و کادمیوم (Siddiqui *et al.*, 2011)، نقش مهمی در واکنش‌های فیزیولوژیکی و سمیت‌زدایی فلز سنگین در سلول گیاهی داشت. Guo و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که بهبود سمیت فلز سنگین آلومینیوم با تغذیه گیاه با کلسیم می‌تواند مرتبط با نقش کلسیم در کاهش جذب آلومینیوم و افزایش فعالیت سیستم‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول گیاهی باشد. همچنین نتایج مطالعات نشان داد که عنصر روی در بیوسنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه نقش مؤثری دارد (Cakmak, 2000). تغذیه گیاه با عنصر روی از اکسیداسیون NADPH و تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اثر تنش فلز سنگین ممانعت می‌کند و موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه می‌شود (Aravind and Prasad, 2005). همچنین مشخص شده است که در سیستم‌های بیولوژیکی مختلف رابطه‌ای بین افزایش تحمل نسبی گیاه به تنش اکسیداتیو و فعالیت سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدان در گیاه وجود دارد (Miszalski *et al.*, 1998). عنصر روی با تقویت سیستم دفاعی گیاه از جمله آنتی‌اکسیدان در مقابله با تنش فلز سنگین سرب، نقش مثبتی بر کاهش غلظت سرب و نیز انتقال‌پذیری آن به اندام‌های مختلف گیاه دارد (Islam *et al.*, 2011). از مکانیسم‌های گیاه گلرنگ برای مقابله با تنش سرب، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آن است، مقادیر بالای آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در تیمارهای اعمال شده سرب این امر را تأیید می‌کند که این گیاه با دارا بودن سیستم آنزیمی قدرتمند و تولید آسکوربات پراکسیداز در سطوح بالا رادیکال‌های آزاد را از بین برده و شرایط ادامه حیات را فراهم می‌کند. با توجه به اینکه کاتالاز یکی از مهمترین آنزیم‌ها در مقابله با تنش اکسیداتیو است (Islam *et al.*, 2008)، به نظر می‌رسد که نقش مهمی در گیاه برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد داشته باشد. بر اساس نتایج می‌توان چنین نتیجه گرفت که کاربرد کود روی موجب افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز می‌گردد که این موضوع با یافته‌های Islam و همکاران (۲۰۱۱) مبنی بر این که روی با سرب در

این فرایندها تشکیل محصولات تجزیه‌ای مانند مالون دی‌آلدئید می‌باشد (Prasad and Zeeshan, 2005). در گزارش ارائه شده توسط Islam و همکاران (۲۰۱۱) نیز حاکی از آن است که تنش سرب سبب آسیب‌رسانی به غشاء و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود که میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داد. روی نقش عمده‌ای در حفظ پایداری غشای سلولی دارد و افزایش میزان آن در نتیجه مصرف مقادیر بالاتر روی می‌تواند در افزایش پایداری غشای سیتوپلاسمی دخالت داشته باشد (Kaya et al., 2009).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست آمده، جذب برگ‌ی سرب در ایجاد اثرات نامطلوب در گیاه گلرنگ تأثیر داشت. تنش سرب موجب کاهش رشد و سنتز کلروفیل در گیاه شد. بر اساس نتایج آزمون خاک، با وجود حضور کلسیم در حد مناسب در خاک مزرعه، محلول‌پاشی کلسیم سبب افزایش عملکرد دانه، تعداد دانه در طبق و وزن خشک برگ و میزان کلروفیل در شرایط عدم تنش سرب گردید که می‌تواند به علت محدودیت‌های مختلف در خاک از جمله آب‌سویی عناصر در خاک، بازدارنده‌های موجود در محیط خاک و بسیاری از فاکتورهای منفی دیگر که میزان دسترسی گیاه به این عنصر را کاهش می‌دهد. محلول‌پاشی روی نیز بر صفات زراعی اثر مثبت معنی‌داری داشت. در شرایط تنش سرب تغذیه گیاه گلرنگ با کود روی به‌صورت محلول‌پاشی می‌تواند نقش مؤثری در حفاظت از کلروپلاست و واکنش‌های فتوشیمیایی مرتبط با آن را داشته باشد که با توجه به برخی از ویژگی‌های فیزیولوژی مورد سنجش در این پژوهش، این تأثیرگذاری همراه با تخفیف اثرات تنش در گیاه گلرنگ می‌باشد. بنابراین در مناطق آلوده به فلز سنگین سرب کاربرد کود روی آسیب‌های وارده به گیاه را کاهش می‌دهد که می‌توان به‌عنوان راهکاری بر حفظ رشد و تولید گیاهان باشد.

ریشه و ساقه اثر آنتاگونیستی دارد و کاربرد روی تحت شرایط تنش سرب، ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد، همسو است.

نتایج جدول ۲ نشان داد که با زیاد شدن مقادیر سرب، میزان مالون دی‌آلدئید نیز افزایش یافت، که به‌نظر می‌رسد سرب اثرات تخریبی بر غشای لیپیدی داشت به‌طوری که بیشترین میزان (۶/۹ میکرو مول بر گرم وزن تر) در بالاترین غلظت سرب حاصل گردید. کاربرد کود روی سبب حفظ پایداری غشا و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید شد که کمترین میزان مالون دی‌آلدئید (۵/۵۴ نانومول بر گرم وزن تر) در تیمار کودی ۲۰ میلی‌مولار و در شرایط عدم تنش بود، در حالی که بیشترین مقدار آن (۷/۲۳ نانومول بر گرم وزن تر) در تیمار کودی شاهد (صفر) و در شدیدترین سطح تنش (۱ میلی‌مولار) به‌دست آمد (شکل ۲D). Cakmak (۲۰۰۰) بیان کرد که عنصر روی نقش مهمی در سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش اکسیداسیون اجزای سلولی مهم از جمله لیپید و پروتئین‌های غشا تأثیر دارد و میزان مالون‌دی‌آلدئید در گیاه را که نشان از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است، کاهش یافت. عنصر روی به گروه‌های SH- پروتئین‌های غشا متصل می‌شود و از فسفولیپیدها و پروتئین‌های غشاء در اثر اکسیداسیون تیول‌ها و تشکیل دی‌سولفید حفاظت می‌کند (Chvapil, 1973). کود کلسیم میزان مالون دی‌آلدئید را به‌طور معنی‌داری به میزان ۵/۳ درصد کاهش داد (جدول ۲). در شرایط تنش سرب کاهش میزان کلروفیل با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها (مالون دی‌آلدئید) در گیاه گلرنگ همراه بود. در شرایط تنش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا اتفاق می‌افتد که در اثر پراکسیداسیون لیپیدها ظرفیت کلروفیل و سنتز کلروفیل به دلیل برهمکنش فلزات سمی با گروه SH- آنزیم‌های ضروری و نیز تخریب این آنزیم‌ها کاهش می‌یابد. غلظت‌های فزاینده فلز سنگین از عوامل بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان محسوب می‌شود و اسیدهای چرب اشباع نشده در غشاهای سلولی مستعد تخریب‌های اکسیداتیو می‌باشند که حاصل

References

1. Abbaspour, A., Kalbasi, M., Haj Rasouliha, Sh., and Golchin, A. 2006. Investigation of contamination in some agricultural soils of Iran with cadmium and lead. 9th Iranian Soil Science Congress. Soil Conservation and Watershed Management, Research Center, Tehran. (in Persian).
2. Ahmadi, J., Seyfi, M. M., and Amini, M. 2012. Effect of spraying micronutrients Fe, Zn and Ca on grain and oil yield of sesame (*Sesamus indicum* L.) varieties. Electronic Journal of Crop Production 5 (3): 115-130. (in Persian with English abstract).
3. Aravind, P., and Prasad, M. N. V. 2005. Cadmium-Zinc interactions in a hydroponic system using *Ceratophyllum demersum* L.: adaptive ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. Brazilian Journal of Plant Physiology 17(1): 3-20.
4. Beers, RF. J. R., and Sizer, I. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Journal of Biology and Chemistry 195: 133-140.
5. Bian, M., Zhou, M., Sun, D., and Li, Ch. 2013. Molecular approaches unravel the mechanism of acid soil tolerance in plants. The Crop Journal 1(2): 91-104.

6. Bor, M., Özdemir, F., and Turkan, I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet (*Beta maritima* L.). *Plant Science* 164(1): 77-84.
7. Cakmak, I. 2000. Possible role of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist* 146(2): 185-205.
8. Carapetian, J., and Zarei, G. 2005. Variation in Protein, Oil and Fatty Acid Contents in Three Wild Species of Safflower (*Carthamus*) from West Azerbaijan, Iran. *International Journal of Botany* 1(2):133-137.
9. Chvapil, M. 1973. New aspects in the biological role of zinc: a stabilizer of macromolecules and biological membranes. *Life Sciences* 13(8): 1041-1049.
10. Garland, C. J., and Wilkins, D. A. 1981. Effect of calcium on the uptake and toxicity of lead in *hordeum vulgare* L. and *festuca ovina* L. *New Phytologist* 87(3): 581-593.
11. Guo, T.R., Chen, Y., Zhang, Y. H., and Jin, Y. F. 2006. Alleviation of Al toxicity in barley by addition of calcium. *Agricultural Sciences in China* 5(11): 828-833.
12. Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53(366): 1-11.
13. Heath, R. L., and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125(1): 850-857.
14. Islam, E., Liu, D., Li, T., Yang, X., Jin, X., Mahmood, Q., Tian, Sh., and Li J. 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *Journal of Hazardous Materials* 154(1-3): 914-920.
15. Islam, E., Liu, D., Li, T., Yang, X., Jin, X., Khan, M. A., Mahmood, Q., Hayat, Y., and Imtiaz, M. 2011. Effect of Pb toxicity on the growth and physiology of two ecotypes of *Elsholtzia argyi* and its alleviation by Zn. *Environmental Toxicology* 26(4): 403-416.
16. Jahed khaniki G. R., and Zazoli M. A. 2005. Cadmium and lead contents in rice (*Oryza sativa*) in the North of Iran. *International Journal of Agriculture and Biology* 7(6):1026-1029.
17. John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S. 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production* 3(3): 65-75.
18. Kaya, C., Tuna, A. L., Sonmaz, O., Ince, F., Higgs, D. 2009. Mitigation effects of silicon on maize plants grown at high zinc. *Journal of Plant Nutrition* 32(10): 1788-1798.
19. Li, H., Sun, Y. L., Yu, X. H., Guo, H. P., Lian, H. F., Sun, X. D., Shi, Q. H., and Liu, S. Q. 2015. Effects of exogenous calcium on the growth and physiological traits of garlic seedlings under cadmium stress. *Journal of Animal and Plant Sciences* 25(3): 107-113.
20. Lichtenthaler, H. K., and Welburn, W. R. 1994. Determination of total carotenoids and chlorophylls a, b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11(5): 591-592.
21. Miszalski, Z., Slesak, I., Niewiadomska, E., Baczek-Kwinta, R., Luttge, U., and Ratajczak, R. 1998. Subcellular localization and stress responses of superoxide dismutase isoforms from leaves in the C₃-CAM intermediate halophyte *Mesembryanthum crystallinum* L. *Plant, Cell & Environment* 21(2): 169-179.
22. Moradi Telavat, M. R., Roshan, F., and Siadat, S. A. 2015. Effect of foliar application of zinc sulfate on minerals content, seed and oil yields of two safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences* 17(2): 153-164. (in Persian with English abstract).
23. Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant and Cell physiology* 22(5): 867-880.
24. Potarzycki, J., and Grzebisz, W. 2009. Effect of Zinc Foliar Application on Grain Yield of Maize and Its Yielding Components. *Plant, Soil and Environment* 55(12): 519-527.
25. Pourkhabbaz, H. R., and Javanmardi, S. 2014. Determination of Toxicity Metals Concentration and their Emission Source in Urban Areas (Case study: Mashhad city). *Geography and Environmental Planning Journal* 55(3): 207-216. (in Persian).
26. Prasad, D. D. K., and Prasad, A. R. K. 1987. Altered aminolaevulinic acid metabolism by lead and mercury in germinating seedling of Bajra. *Journal of Plant Physiology* 127(3-4): 241-249.
27. Sarrafpour, R., Mohamedi Mahmoud Abadi, Sh., valipour, Sh., and Roozbehani, f. 2010. Study of lead concentration in air of Tehran region in 2008. *Environmental Science & Technology* 11(3): 93-105. (in Persian).
28. Sharma, P., and Dubey, R. S. H. 2005. Lead toxicity in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1): 35-52.
29. Siddiqui, M. H., Al-Wahaibi, M. H., and Basalah, M. O. 2011. Interactive effect of calcium and gibberellin on nickel tolerance in relation to antioxidant systems in *Triticum aestivum* L. *Protoplasma* 248(3):503-511.
30. Tavakoli, M., Chehregani rad, A., Lariyazdi, H., and Pakdel, A. 2011. Study on the effects of different concentrations of Pb and salicylic acid on some growth factors in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of Plant Biology* 3(7): 29-40. (in Persian with English abstract).
31. Wang, C. Q., and Song, H. 2009. Calcium protects *Trifolium repens* L. seedlings against cadmium stress. *Plant Cell reports* 28(9): 1341-1349.
32. White, P. J. 2000. Calcium channels in higher plants. *BBA- Biomembranes* 1465: 171-189.



Evaluation of Foliar Spraying of Zinc and Calcium Fertilizers on Yield and Physiological Traits of Safflower under Lead Stress

P. Jamshidi^{1*} - M. Baradaran Firoozabadi² - H. Oloumi³ - H. Naghavi⁴

Received: 09-11-2015

Accepted: 05-07-2016

Introduction: In order to evaluate the effect of foliar spraying of zinc and calcium on yield and physiological traits of safflower under lead stress, a factorial experiment based on randomized complete block design was performed in Kerman agricultural and natural resource research and education center in 2014-2015 with three replications. The first factorial included three levels (control, and 0.5 and 1 μM lead spraying), whereas the second and third factorials were spraying zinc sulfate at three concentrations (zero, and 10 and 20 μM) and spraying calcium chloride at two levels (zero and 20 μM), respectively. According to the results, grain yield, the 1000-grain weight, leaf dry weight, number of seeds per head, head weight and chlorophyll content decreased. On the other hand, a significant increase was observed in the activities of catalase and ascorbate peroxidase enzymes and amount of malondialdehyde in plants. Moreover, spraying zinc fertilizer in lead treatment resulted in a significant increase in activity of catalase enzyme, reduction of membrane lipid peroxidation, prevention of chlorophyll destruction and maintenance of grain yield. However, the effect of spraying calcium fertilizer in lead treatment was only significant on chlorophyll content. According to the results of the research, it seems that spraying zinc fertilizer had more effects on improved growth of safflower under lead stress, compared to spraying calcium fertilizer. Therefore, in air pollution with heavy metals (lead), application of zinc sulfate fertilizer can be an effective approach to maintain the growth and production of plants.

Among the various heavy metals, lead (Pb) is a major anthropogenic pollutant that has been released to the environment since the industrial revolution and accumulated in different terrestrial and aquatic ecosystems. These elements will transfer to leaves in polluted areas and will rapidly uptake and cause irreparable damages to the most important part of the plant, i.e. photosynthetic system and changes immune system activity (Enzyme activity) and finally reduces the plant yield. Ca^{2+} improves plant resistance is related to maintaining a higher photosynthetic rate under stresses. Zn has a role in modulation of free radicals and their related processes through antioxidant properties and Zn applied by foliar spraying can increase the yield of crops. Therefore, this study aims to investigate how zinc and calcium fertilizers as foliar application increase safflower plant resistance to lead stress and their role on the damages caused by the stress on the activity of antioxidant defense system and photosynthetic pigments and its role in improving the plant yield in lead leaf absorption.

Materials and Methods: The field experiment was carried out in a factorial based on randomized complete block design with three replications in the farm of Agricultural and Natural Resources Research and Education center of Kerman. The first factor consisted of three levels of lead (Control, 0.5 and 1 mM lead foliar) and the second factor, the foliar application of zinc sulfate in three concentrations (zero, 10 and 20 mM) and the third factor was the foliar application of calcium chloride in two concentrations (zero and 10 mM). Cultivars used in this experiment were Goldasht cultivars (safflower). In this study, the activity of ascorbate peroxidase, catalases enzymes and malondialdehyde contents were measured. At harvest time, stem and leaf dry weight, seed number per head, Head weight, 1000 seed weight and seed yield was calculated. All data were analyzed with SAS software. Analysis of variance and statistical analysis was performed using SAS and Excel softwares, Mean comparison was done by least significant difference (LSD) test at 5 percent.

Results and Discussion: The results indicated that lead stress had a significant effect on most of the studied traits. Due to lead stress seed yield, 1000 seeds weight, leaf dry weight, seed number per head, head weight and

1- PhD Student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

3- Assistant Professor, Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

4 - Assistant Professor Scientific, Soil and Water Research Department, Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Areeo, Kerman, Iran

(* - Corresponding Author Email: pari.asteria@gmail.com)

chlorophyll contents decreased and the activity of catalases, ascorbate peroxidase and malondialdehyde contents showed significant increase in the plant. Based on the results we concluded that, decrease in seed yield and plant growth by lead exposure can be in relation to this toxicity and oxidative stress. Also the present results revealed that the increase in the activity of catalases, ascorbate peroxidase and malondialdehyde content prevent the occurrence of oxidative damage under Pb stress. The results showed that lead and zinc interaction effects were significant on grain yield, chlorophyll b and malondialdehyde. The foliar application of zinc improved catalases enzymatic activity, decreased membrane lipid peroxidation and prevented destruction of chlorophyll and maintained yield in stress lead. The optimization of zinc under Pb stress could alleviate Pb-induced toxic effects by enhancing biochemical reactions and physiological processes in safflower plant. The variance analysis showed that only lead and calcium interaction effects on chlorophyll a were significant. Content of chlorophyll a increased at non-stress conditions along with the foliar treatment of calcium (10 mM) compared to the control.

Conclusions: The lead toxicity led to decline in growth and dry matter accumulation and the reduction of chlorophyll synthesis in plants and finally the reduction of the safflower yield. In the lead stress condition, the foliar application of zinc sulfate can be affected in the activation of plant defense systems and prevented the destruction of chlorophyll. Calcium successfully prevented occurrence of chlorosis and increased chlorophyll content. Based on the results, it seems that the application of zinc can have a greater impact on improving safflower growth than calcium fertilizer in lead stress. So in areas contaminated by heavy metals lead, zinc sulfate fertilizer can be as a solution to keep growing and production plants.

Keywords: Chlorophyll, Enzyme activity, Heavy metal, Malondialdehyde