



بررسی میزان قندهای محلول، نشاسته و رنگیزه‌های فتوستتزی تحت تیمار توام سرب و اسید

سالیسیلیک در گیاهچه‌های ۱۰ و ۲۰ روزه کلزا رقم اکاپی

*شیدا برومند جزی^۱، حسین لاری یزدی^۲، منیره رنجبر^۳

۱- کارشناس ارشد زیست شناسی علوم گیاهی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان. ۲-
استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد. ۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد
فلاورجان.

* نویسنده مسئول: شیدا برومند جزی

Sheida_bg@yahoo.com

چکیده

در پژوهش حاضر تاثیر غلظت‌های مختلف نیترات سرب ۰.۲۵، ۰.۵، ۰.۷۵، ۱.۵، ۲.۵ میلی‌مولار و اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار در قالب یک طرح کاملا تصادفی در سه تکرار بر میزان رنگیزه‌های فتوستتزی شامل کلروفیل a, b, a+b و همچنین میزان قندهای محلول و نشاسته در اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاهچه‌های ۱۰ و ۲۰ روزه کلزا رقم اکاپی در محیط کشت هیدروپونیک و با استفاده از محلول غذایی هوگلدن مورد بررسی قرار گرفت. رنگیزه‌های فتوستتزی به روش Arnon و قندهای محلول و نامحلول (نشاسته) به روش Kochert مورد سنجش قرار گرفتند. آنالیزهای آماری توسط نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ($P < 0.01$) و ($P < 0.05$) انجام گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نیترات سرب، رنگیزه‌های فتوستتزی شامل کلروفیل a, b, a+b در برگ‌های هر دو دوره‌ی رشدی کاهش معنی‌داری ($P < 0.01$) یافتند. کاهش در میزان کلروفیل a بیشتر از کلروفیل b بود. در ریشه و برگ میزان قندهای محلول و نامحلول با افزایش غلظت سرب کاهش معنی‌داری ($P < 0.01$) نشان دادند. تحت تیمار توام سرب و اسید سالیسیلیک، میانگین کلروفیل a, b, a+b در گیاهچه‌های ۱۰ روزه افزایش معنی‌داری یافت ($P < 0.01$) در حالی که اثرات آن بر میزان کلروفیل b و a+b گیاهچه‌های ۲۰ روزه معنی‌دار نبوده است ($P < 0.05$). همچنین اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌دار میانگین نشاسته و میانگین قندهای محلول نسبت به تیمارهای سرب در برگ و ریشه در هر دو دوره‌ی رشدی گردید ($P < 0.01$).
واژگان کلیدی: اسید سالیسیلیک، سرب، کلزا، کلروفیل، قند.

مقدمه

وجود آلاینده‌های سرب در خاک بر میزان تولید محصولات کشاورزی اثرات فاحشی دارد. Kastori در سال 1998 نشان داد که وجود سرب در محیط، موجب کاهش رشد و کاهش میزان کلروفیل در گیاه آفتابگردان شده است. همچنین گزارش شده است که غلظت‌های مختلف سرب در جلبک *Fucus vesiculosus* موجب کاهش فتوستتزی می‌گردد (Nygard et al., 1999). Nygard دلیل کاهش را این گونه بیان کرد که جذب منیزیم در حضور سرب کاهش یافته، همچنین اختلال در فعالیت آنزیم‌های درون سلولی، میزان کلروفیل را کاهش می‌دهد. تغییرات کربوهیدرات‌ها به دلیل ارتباط مستقیم‌شان با فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر فتوستتزی، انتقال و تنفس اهمیت خاصی دارند. مظاهری در سال ۱۳۸۶ یکی از دلایل کاهش مقدار کربوهیدرات‌ها در گیاه کلزا تحت تنش خشکی را ناشی از اثر این تنش‌ها بر غشاء تیلاکوئیدها، مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی و در نتیجه مقدار فتوستتزی دانست. کاهش مقدار قند می‌تواند به علت کاهش فتوستتزی باشد.



زیرا کاهش آب موجب کاهش فشار تورگر شده و از بین رفتن فشار تورگر منجر به بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش فتوسنتز می‌شود (مظاهری، ۱۳۸۶). کلزا با نام علمی *Brassica napus L.* گیاهی علفی و یک ساله است و از نظر تولید روغن اهمیت خاصی دارد زیرا که در بین گیاهان دانه روغنی کمترین میزان اسید چرب اشباع را داراست. هدف از انجام این تحقیق بررسی پاسخ گیاه در هر دو دوره‌ی رشد (تیمار ۱۰ و ۲۰ روزه) در برابر فلز سنگین سرب و از طرف دیگر یافتن پاسخ این سوال که اسید سالیسیلیک به عنوان یک آنتی اکسیدان می‌تواند اثرات ناشی از تنش سرب را تعدیل دهد از دیگر اهداف این تحقیق به شمار می‌رود.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه کلزا رقم اکاپی پس از تهیه از جهاد کشاورزی استان لرستان و استریل شدن با محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ بر روی سبدهایی تا رسیدن به مرحله‌ی دو برگگی رشد کردند و سپس به ظروف تیره ۶۵۰ میلی لیتری حاوی محلول هوگلند نیم قدرت انتقال یافتند و تحت تیمارهای مختلف سرب با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی مولار و سرب با غلظت‌های فوق به همراه اسید سالیسیلیک ۵ و ۱۰ میکرومولار به مدت ۱۰ و ۲۰ روز رشد کردند و برای سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی مورد استفاده قرار گرفتند بدین صورت که ۰/۲ گرم برگ گیاه را جدا نموده و در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ سائیده و سپس سانتریفوژ کرده تا عمل جداسازی انجام گیرد و سپس حجم نهایی عصاره به ۲۰ میلی لیتر رسانده شد. در این مرحله جهت محاسبه‌ی میزان کلروفیل‌های *b,a* جذب محلول در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر با مشخصات SPECTRONIC® 20 GENESYS، مدل 4001.4 با توجه به وزن تر هر نمونه بر حسب میلی گرم وزن تر تعیین گردید و آزمایش قندهای محلول و نشاسته با استفاده از روش Kochert, 1978 و به روش فنل-اسیدسولفوریک انجام گرفت. ۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی (ریشه و برگ) را وزن نموده، در لوله آزمایش ریخته و بر روی آن ۱۰ میلی لیتر اتانل ۷۰٪ اضافه کرده و به مدت یک هفته در یخچال قرار داده پس از گذشت یک هفته، برای ساقه و برگ ۰/۵ میلی لیتر و برای ریشه ۱ میلی لیتر برداشته و حجم آن را با آب مقطر به ۲ میلی لیتر رسانده سپس بر روی آن ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد سپس ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ با فشار اضافه نموده محلول زرد رنگی به دست می‌آید که به مرور تغییر رنگ می‌دهد و به قهوه‌ای روشن تمایل پیدا می‌کند. سپس شدت رنگ حاصله را با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده، برای اندازه‌گیری قندها ابتدا یک منحنی استاندارد تهیه گردید و سپس با قرار دادن مقدار OD خوانده شده در معادله، میزان تغییرات قندها مشخص گردید که مقدار قند نمونه با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی گرم بر وزن خشک ارزیابی گردید و سپس سنجش قند نامحلول به روش زیر انجام گرفت به این صورت که محلول اتانول محتوی نمونه‌های گیاهی را که برای قندهای محلول استفاده کردیم، صاف نموده و از رسوب باقیمانده بر روی کاغذ صافی برای اندازه‌گیری نشاسته موجود در اندام‌های گیاهی استفاده کرده ابتدا رسوب را خشک و سپس آن را وزن نموده و بر روی آن ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه نموده و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری آب جوش قرار داده سپس آن را صاف نموده و حجم محلول عبور کرده را به ۲۵ میلی لیتر رسانده در نهایت ۲ml از این محلول برداشته، قندهای نامحلول را به روش فنل-اسیدسولفوریک که در بالا ذکر شد و در طول موج ۴۸۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده، سپس به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی‌های آماری از نرم افزار SPSS و جدول آنالیز واریانس و آزمون Duncan استفاده شد.

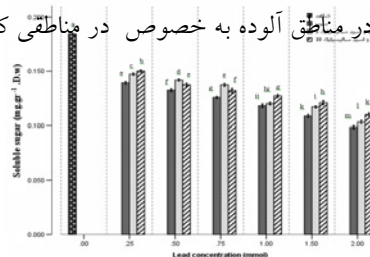
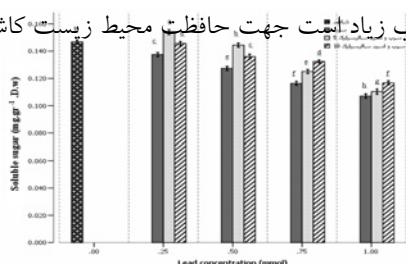
نتایج و بحث

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نیترات سرب، میانگین کلروفیل *a, b, a+b* در هر دو دوره‌ی رشد کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0.01$). گیاهچه‌های ۲۰ روزه کلزا نتوانستند غلظت‌های بالای سرب را تحمل کنند و در این غلظت‌ها (۱/۵ و ۲ میلی مولار) از بین رفتند. اسید

سالیسیلیک با دو غلظت ۵ و ۱۰ میکرومولار سبب افزایش معنی دار کلروفیل $a, b, a+b$ گیاهچه های ۱۰ روزه ی اکاپی و همچنین کلروفیل a گیاهچه های ۲۰ روزه شد ($P < 0.01$) ولی اثر معنی داری بر میانگین کلروفیل b , $a+b$ این گیاهچه ها نشان نداد ($P < 0.05$). در سال Azmat, 2006 بیان می کند که در گیاهان عالی، سرب به علت ممانعت از فعالیت فتوسیستم II و یا با ممانعت بیش تر در سطح پلاستوکینون سبب کاهش فتوستتوز و رشد گیاه می گردد. سرب هم چنین با غیر فعال کردن آنزیم های غشایی از جمله ATPase، سبب آسیب و گسستگی غشاء پلاسمایی می گردد. Zawoznik & Benavides در سال 2007 نیز بیان کردند که کاربرد اسید سالیسیلیک، تحت تنش کادمیوم باعث افزایش محتوای کلروفیل و بیوستتوز آن در گیاه *Arabidopsis thaliana* می گردد که با یافته ای ما همخوانی دارد. در این پژوهش میزان قندهای محلول و نامحلول در برگ و ریشه ی گیاهان هر دو دوره ی رشد با افزایش غلظت سرب به صورت معنی داری ($P < 0.01$) کاهش یافتند. Oliver در سال 2003 و Sharma در سال 2005 کاهش قندهای محلول، تحت تنش سرب را این گونه توجیه کردند که سرب از جذب عناصری مثل Mg, Fe, Mn جلوگیری می کند. این عناصر در ساختار کلروفیل و کمپلکس آزاد کننده ی اکسیژن در فتوسیستم II نقش داشته و در نتیجه سرب با اتصال به ساختار LHCII ساختار این کمپلکس را از حالت طبیعی خارج کرده، به این ترتیب میزان قندهای محلول حاصل از فتوستتوز کاهش پیدا می کند. کاهش مقدار نشاسته بر اثر افزایش غلظت نیترات سرب که به صورت معنی داری ($P < 0.01$) در ریشه و بخش هوایی هر دو دوره ی رشد اکاپی دیده شد، دلیلی بر این ادعاست که نشاسته تجزیه شده و قندهای محلول را ایجاد می کند (Alaoui, 2003). با بکارگیری اسید سالیسیلیک به همراه سرب، میانگین قندهای محلول در برگ و ریشه گیاهان هر دو دوره ی تیمار افزایش معنی داری یافتند ($P < 0.01$) و اختلاف بین دو غلظت اسید سالیسیلیک بر میانگین قند محلول برگ و ریشه ی گیاهان ۱۰ روزه در سطح ($P < 0.05$) معنی دار بوده در حالی که دو غلظت مذکور بر میانگین قند محلول برگ و ریشه گیاهان ۲۰ روزه اثرات یکسانی داشته اند. میانگین نشاسته نیز تحت تیمار توام سرب و لسید سالیسیلیک افزایش معنی داری در هر دو دوره ی رشدی یافتند ($P < 0.01$). بین دو غلظت اسید سالیسیلیک بر میانگین قند نامحلول ریشه این گیاهان تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P < 0.05$) در حالی که این اختلاف بر میانگین قند نامحلول در برگ گیاهان ۲۰ روزه اکاپی در سطح ($P < 0.05$) معنی دار بوده است. در گیاه جو، گندم، لوبیا و گوجه فرنگی طی تنش اکسیداتیو، مقدار تجمع قندها با تیمار هورمون اسید سالیسیلیک افزایش یافته است و افزایش مقدار قندها و ایجاد شیب اسمزی در گیاهان منجر به مقاومت در برابر از دست رفتن آب، افزایش محتوای آب برگ و تسریع رشد گیاهان در شرایط تنش زا شده است (Inze, 2000).

نتیجه گیری کلی

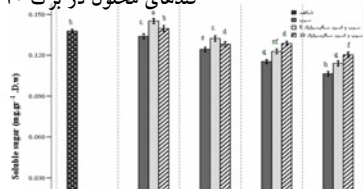
با وجود اثرات سمی سرب بر رشد گیاهچه های کلزا و کاهش پارامترهای مذکور لذا چون این گیاه توانست غلظت های بالای سرب را تحمل کند، می توان این گیاه را در مناطق آلوده به خصوص در مناطقی که آلودگی سرب زیاد است جهت حفاظت محیط زیست کاشت.

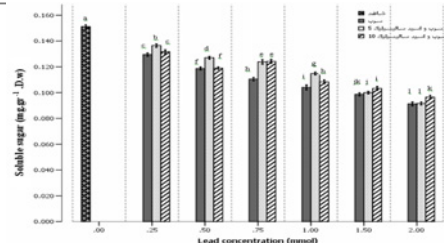


نمودار ۲- بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین

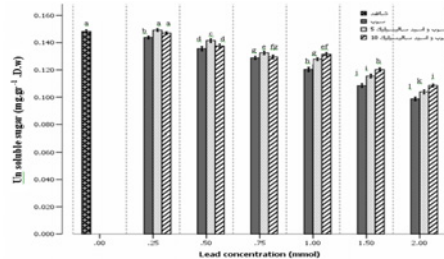
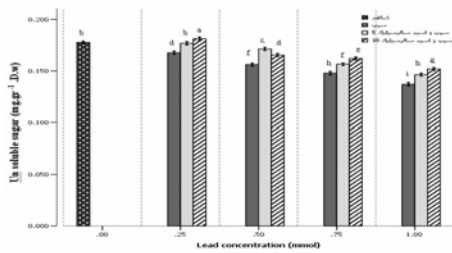
مودار ۱- بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین قندهای محلول در برگ ۱۰ روزه اکاپی

قندهای محلول در برگ ۲۰ روزه اکاپی

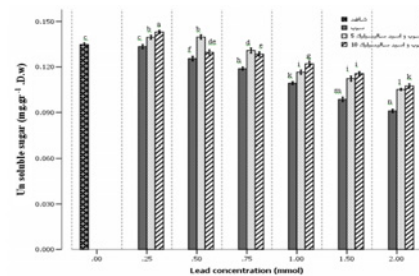
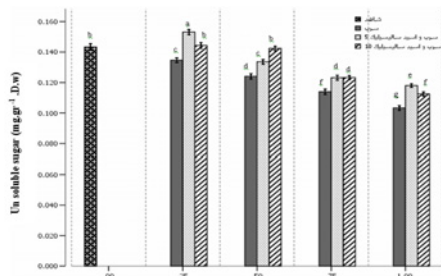




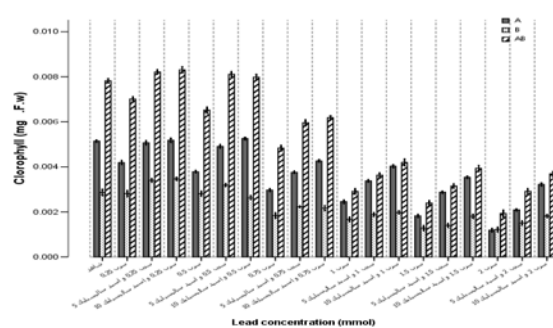
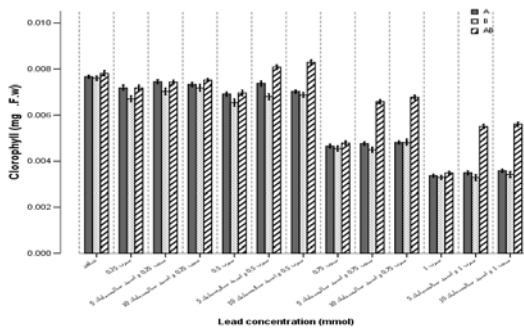
نمودار ۳- بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین قندهای محلول در ریشه ۱۰ روزه اکاپی نمودار ۴- بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین قند محلول در ریشه ۲۰ روزه اکاپی



نمودار ۵- بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین قندهای نامحلول در برگ ۱۰ روزه اکاپی نمودار ۶- بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین قندهای نامحلول در برگ ۲۰ روزه اکاپی



نمودار ۷- بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین قندهای نامحلول در ریشه ۱۰ روزه اکاپی نمودار ۸- بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین قند نامحلول در ریشه ۲۰ روزه اکاپی



نمودار ۹ و ۱۰ بررسی سرب و اسید سالیسیلیک بر میانگین کلروفیل a+b و b,a در برگ کلزا ۱۰ و ۲۰ روزه (شکل راست کلزا ۱۰ روزه) (شکل چپ کلزا ۲۰ روزه)



منابع

۱. مظاهری تیرانی م. منوچهری کلاتری خ، ۱۳۸۶. بررسی اثرات اسید سالیسیلیک بر برخی پارامترهای رشد و بیوشیمیایی گیاه کلزا *Brassica napus* L. تحت تنش خشکی. مجله‌ی پژوهش دانشگاه اصفهان، جلد بیست و هشتم، شماره‌ی دوم، صفحه ۵۵ تا ۶۶.

2. Azmat R, Haider S, Askari S. 2006. Phytotoxicity of Pb: Effect of Pb on germination, growth, morphology and histomorphology of *Phaseolus mungo* and *Lens culinaris*, Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(5):979-984.

3. Oliver D, Nadiv R. 2003. Uptake of Cu, Pb, Cd, and DDT by vegetables grown in urban environments, Environmental protection Heritag Council (EPHC):151-161.

4. Sharma P, Dubey R S. 2004. Ascorbate peroxides from rice seedling, Plant Science, 167:541-550.

Investigation of content of soluble sugars and starch and photosynthesis pigments under lead and salicylic acid in 10 and 20 day old seedling of *Brassica napus* L. cultivar of Okapi

Boroumand Jazi, Sh^{1*}, Lari yazdi, H², Ranjbar, M³

1, 3-Department of biology, Islamic Azad University, falavarjan Branch.

2-Department of biology, Islamic Azad University, Boroujerd Branch.

*Corresponding author

Sheida_bg@yahoo.com

Abstract

In this research the effect of Pb (NO₃)₂ with different concentration (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 and 2mM) and salicylic acid with concentration (5 & 10 μM) were analyzed by using randomize plots in triplicate on content of photosynthesis pigments including chlorophyll a, b and a+b and also content of soluble sugars and starch in shoots and roots of 10 and 20 day old seedling of *Brassica napus* L. cultivar of Okapi in hydroponic culture and use of hogland solution has been studied. Content of photosynthesis pigments were measured with Arnon method and soluble sugars and starch with Kochert method. All statistically analyzed by SPSS soft ware and test of Duncan in level of (P<0.01) and (P<0.05) were performed. The result was shown that by increase of Pb (NO₃)₂, photosynthesis pigments including chlorophyll a, b and a+b in leaf of two growing periods (10 and 20 day old seedling) significantly decreased (P<0.01). Decreasing of chlorophyll a was higher than b. In root and shoot content of soluble sugars and starch by increasing of pb (NO₃)₂ were significantly decreased (P<0.01). Under lead treatment and salicylic acid, content of chlorophyll a, b and a+b in 10 day old seedling were significantly increased (P<0.01) but they were non significant effect on chlorophyll b and a+b of 20 day old seedling. Also salicylic acid were cause significantly increased of starch and soluble sugars than lead treatment in leaf and root of both growing period (P<0.01).

Key words: Salicylic acid, Lead, *Brassica napus* L., chlorophyll, soluble sugars, Starch.