اثر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک روی سمیت کادمیوم در گندم (*Triticum aestivum* L.)

مریم فرجی* و کمال‌الدین دیلمقانی

مرند، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۱۶

چکیده

در این تحقیق، اثرات سطوح مختلف اسید سالیسیلیک (SA) روی وزن تر کل، کلروفیل (a، b و کل)، پرولین آزاد، پروتئین کل محلول، قند محلول و نامحلول گیاه گندم (*Triticum aestivum* L. cv. Zarrin) تحت تنش کادمیوم (Cd) مورد بررسی قرار گرفت. دانه‌رست‌ها پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک (۰ M، $۱۰^{-۳}$M و $۱۰^{-۴}$M) و تیمار کادمیوم (۰ μM، ۲۵ μM و ۵۰ μM) دریافت کردند. نتایج نشان دادند که در تیمارهای Cd بدون حضور SA، وزن تر کل در ۵۰ μM از Cd در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار پیدا کرد. در تیمارهای SA بدون حضور Cd، غلظت کلروفیل a و کل در $۱۰^{-۴}$M از SA افزایش یافت. در تیمارهای Cd بدون حضور SA، در ۲۵ μM از Cd میزان پرولین ریشه در مقایسه با شاهد افزایش، ولی میزان پرولین برگ کاهش نشان داد. در نبود Cd با افزایش SA میزان پرولین برگ در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد. با افزایش غلظت SA در نبود Cd، سطح پروتئین ریشه افزایش پیدا کرد. در نبود SA با افزایش Cd، مقدار قند محلول ریشه و برگ کاهش نشان داد. در تیمارهای SA بدون Cd، محتوای قند محلول ریشه کاهش یافت. در نبود SA با افزایش Cd، میزان قند نامحلول ریشه و برگ در ۲۵ μM از Cd کاهش نشان داد. در تیمارهای SA در نبود Cd، مقدار قند نامحلول برگ افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، کادمیوم، کلروفیل، پروتئین، قند.

* نویسنده مسئول: تلفن ۰۹۱۴۱۶۵۰۸۲۶، پست الکترونیکی: Faraji120@yahoo.com

مقدمه

گندم در سطح گسترده‌ای از زمین‌های کشاورزی دنیا و حتی در نواحی خشک کشت می‌گردد. تولید گندم در دنیا در درجه اول برای تغذیه انسان و در درجه دوم برای تغذیه پرندگان، دیگر جانوران و مصارف صنعتی می‌باشد (۱).

اسید سالیسیلیک یک تنظیم‌کننده درون‌زای رشد با ماهیت فنلی است که نقش مهمی در تنظیم تعدادی از فرایندهای فیزیولوژیک داشته و نیز حفاظت در برابر تنش‌های زیستی را در گیاهان فراهم می‌کند. اسید سالیسیلیک با اثر بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و متابولیت‌هایی مانند اسید آسکوربیک و گلوتاتیون اثرات ناشی از تنش‌های خشکی، گرما، سرما، شوری، فلزات سنگین و بیماریهای گیاهی را کاهش می‌دهد (۱۰). در مطالعه انجام شده توسط Kawano و Muta (۲۰۰۰) نشان داده شد که SA غلظت Ca^{2+} سیتوزولی را که به‌عنوان پیک ثانویه ممکن است پاسخ‌های فیزیولوژیکی دیگری را که شامل بیان ژنهای پاسخ به اسمز برای سازش به شوری در گیاهان القاء کند در کشت سوسپانسیون تنباکو افزایش داد. Fatma (۲۰۰۷) گزارش کرد که پرولین آزاد القاء شونده توسط اسید سالیسیلیک می‌تواند غشاءها و پروتئین‌ها را در برابر اثرات مضر یون‌های کانی در ریحان و مرزنگوش محافظت کند (۵).

کادمیوم یک فلز آلاینده محیطی است که در محیط منتشر می‌شود. منابع گوناگون شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند.

کادمیوم اگرچه برای رشد گیاهان ضروری نیست، اما بسرعت بوسیله سلولهای گونه‌های گیاهی گوناگون جذب می‌گردد (۱۵). کادمیوم تغییرات ساختاری، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی زیادی را القاء می‌کند، بنابراین به شدت تولید بیوماس را تحت تأثیر قرار داده و سرانجام می‌تواند موجب مرگ گیاه شود. موسی و الجمال (۲۰۱۰) گزارش کردند که تیمارهای کادمیوم در غلظت‌های ($CdCl_2$ ۱۰۰۰μM و ۴۰۰ ،۱۰۰) منجر به بازدارندگی بیوماس خشک ریشه، درازشدگی ریشه و افزایش انباشت Cd در ریشه‌های گندم شدند (۱۵).

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر روی بعضی ویژگی‌های بیوشیمیایی گندم رقم زرین تحت تنش کادمیوم، برای بالا بردن مقاومت این گیاه در برابر اثرات سمی کادمیوم می‌باشد، زیرا فلزات سنگین ازجمله کادمیوم به طرق مختلف وارد زمین‌های کشاورزی شده و گیاهان زراعی را که از نظر اقتصادی و تغذیه بسیار مهم می‌باشند از بین می برند. با توجه به گزارشهای متعدد مبنی بر افزایش مقاومت برخی گیاهان با استفاده از اسید سالیسیلیک برون‌زا، در این تحقیق از اسید سالیسیلیک به‌عنوان پیش‌تیمار استفاده شد.

مواد و روشها

ابتدا ماسه شسته شده به مدت ۴۸ ساعت در اسید HCl قرار داده شد، بعد از ۴۸ ساعت ماسه را شسته و pH آن را به ۷ رسانده، سپس با آب مقطر شسته و خشک گردید. در هر گلدان ۳۰ دانه کشت و گیاهان در شرایط دمایی حداقل ۲۳/۵ و حداکثر ۳۴/۵ درجه سانتی گراد و شدت نور ۱۳۹۰۰ لوکس در سطح تاج گیاه تحت رژیم روشنایی- تاریکی به‌ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت قرار داده شدند. سپس گیاهان با محلول غذایی هوگلند (۲۰) آبیاری شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی جمعاً با ۹ تیمار در ۳ تکرار برای هر تیمار و در ۲۷ واحد آزمایشی انجام شد. ۱۲ روز پس از کشت، دانه‌رست‌ها پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت‌های 10^{-4} M و 10^{-3} M دریافت کردند (۴). به این ترتیب که ۲۷ گلدان به ۳ گروه ۹ تایی تقسیم شدند. گروه اول (۹ تکرار) گیاهانی که اسید سالیسیلیک دریافت نکردند، گروه دوم (۹ تکرار) گیاهانی که 10^{-4} M و گروه سوم (۹ تکرار) گیاهانی که 10^{-3} M اسید سالیسیلیک دریافت کردند. ۹ روز پس از دریافت SA، تیمار دوم، یعنی کادمیوم به صورت نیترات کادمیوم $Cd(NO_3)_2$، در دو غلظت ۲۵ μM و ۵۰ به گلدانها داده شد (۱۶). به این ترتیب که سه تکرار از هر گروه (10^{-3}M و 10^{-4} M ,۰ M =SA) تیمار کادمیوم با غلظت ۲۵μM و سه تکرار از هر گروه (10^{-3} M و 10^{-4} M ,۰M =SA) تیمار کادمیوم با غلظت ۵۰ μM دریافت کردند (جدول ۱). یک هفته پس از پایان آخرین تیماردهی گیاهان برداشت شدند. برای سنجش کلروفیل a، b و کل، از روش Arnon و همکاران (۱۷)، برای سنجش پرولین آزاد از روش Bates و همکاران (۶)، برای سنجش پروتئین از روش Folin –Lowry (۱۲) و برای سنجش قندهای محلول و نامحلول از روش فنل- اسید سولفوریک (۱۹) استفاده شد.

جدول۱- تیمارهای اعمال شده

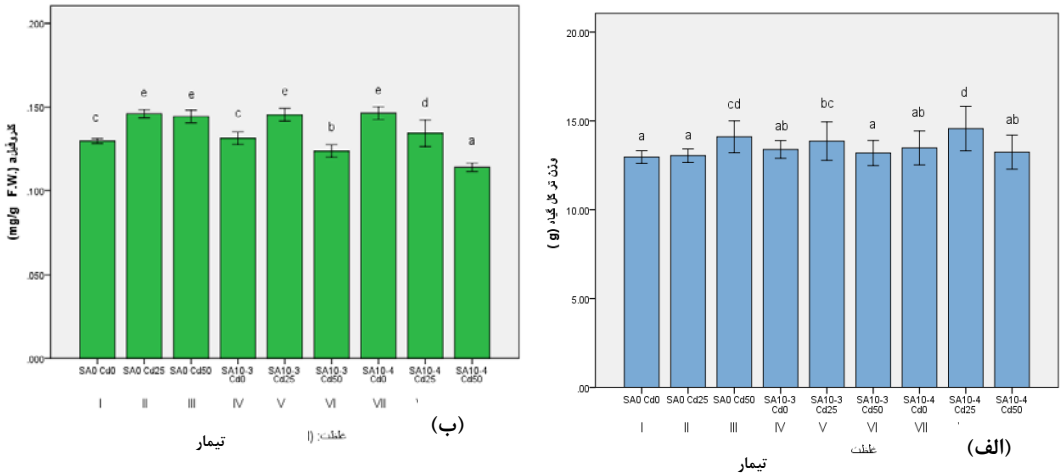
تیمارها	غلظت SA(M) + Cd(μM)
I	SA- + Cd -
II	SA- + Cd 25
III	SA- + Cd50
IV	$SA10^{-3}$ + Cd -
V	$SA10^{-3}$ + Cd 25
VI	$SA10^{-3}$ + Cd 50
VII	$SA10^{-4}$ + Cd -
VIII	$SA10^{-4}$ + Cd 25
IX	$SA10^{-4}$ + Cd 50

تجزیه و تحلیل‌های آماری: برای تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح

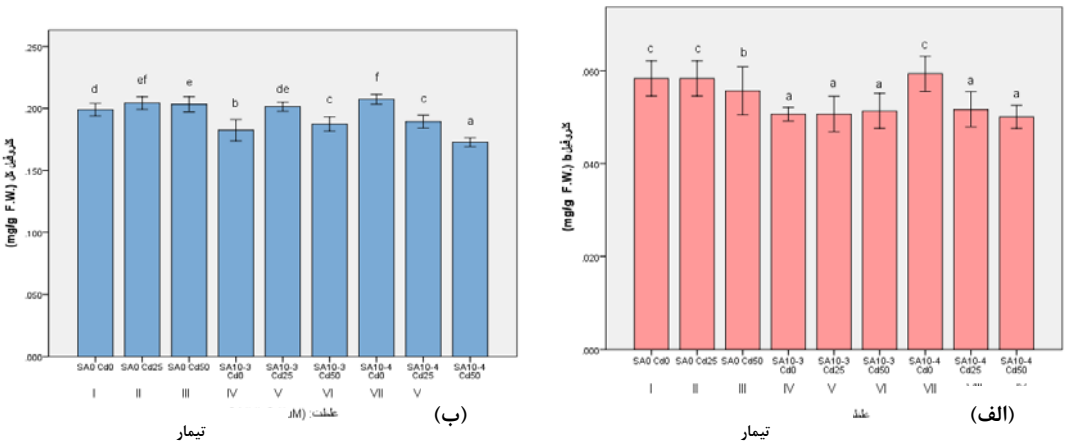
احتمال ۵ درصد (P ≤ ۵٪) انجام شد.

نتایج

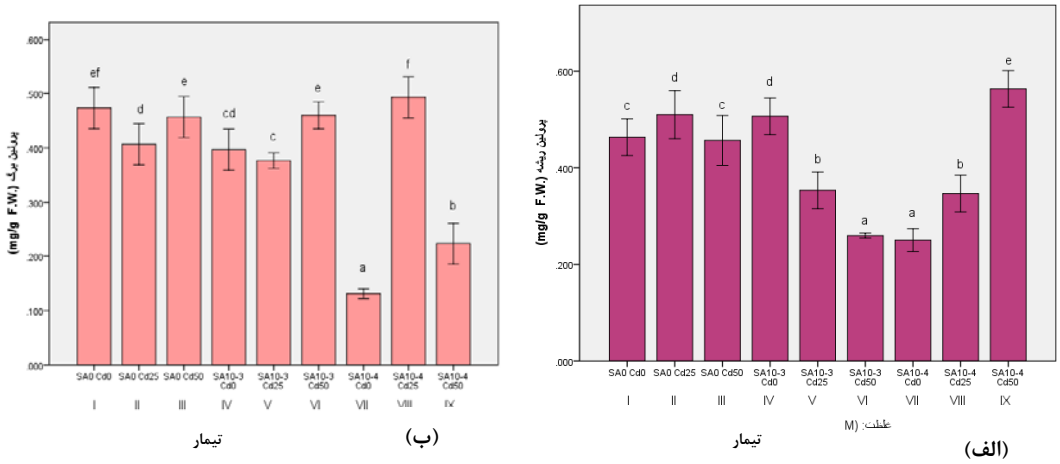
وزن تر کل: در تیمارهای Cd بدون حضور SA (II و III)، وزن تر کل گیاه در ۵۰ µM از Cd در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار پیدا کرد. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، وزن تر کل در هر دو سطح از SA، تنها در ۲۵ µM از Cd در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد (جدول۲). بیشترین میانگین وزن تر کل در تیمارهای III و VIII و کمترین مقدار آن در سایر تیمارها، به‌استثناء تیمار V بود (شکل۱ الف).



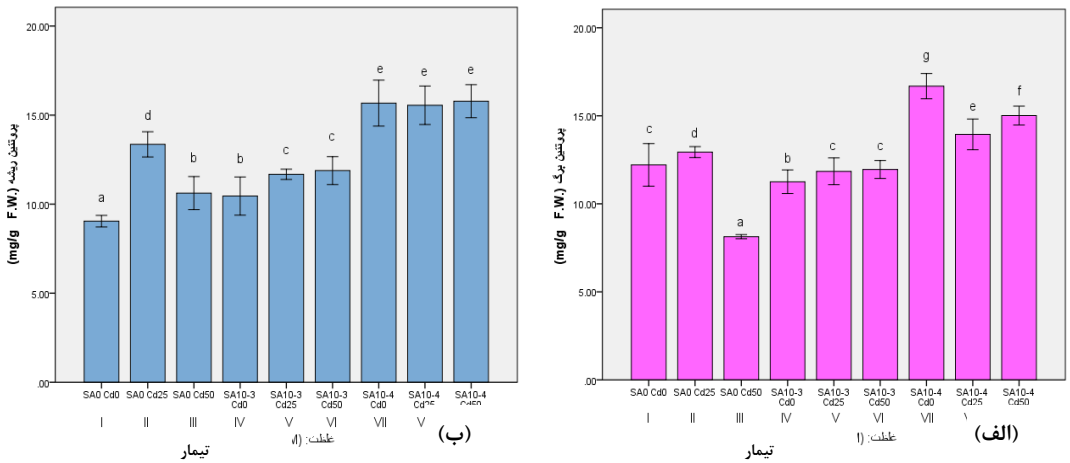
شکل۱- الف) وزن تر کل گیاه و ب) مقدار کلروفیل a در گندم رقم زرین در غلظت‌های مختلف از SA و Cd (جدول۱). در همه نمودارها مقادیر موجود در هر نمودار خطای استاندارد ± میانگین می‌باشند. حروف مشترک در هر نمودار نشانگر غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک نشانگر معنی‌دار بودن اختلافات در سطح احتمال ۵٪ است.



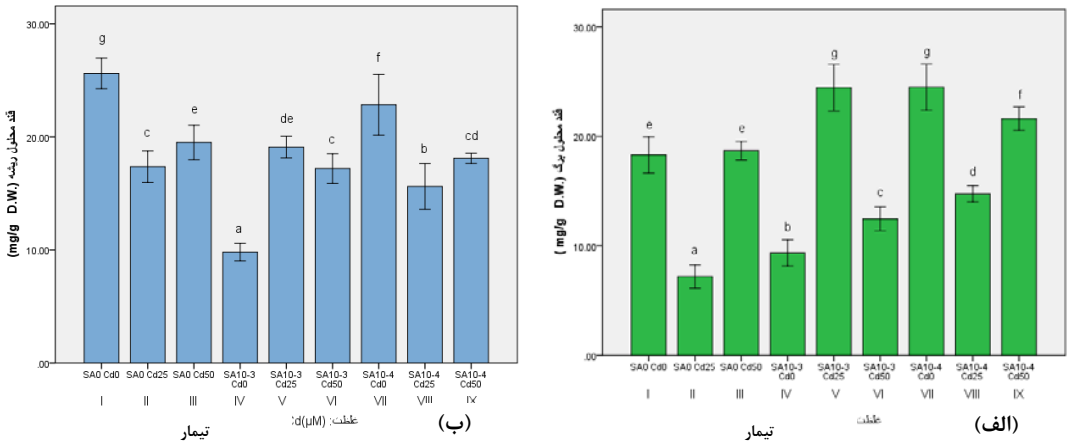
شکل۲- الف) مقدار کلروفیل b و ب) مقدار کلروفیل کل در گندم رقم زرین در غلظت‌های مختلف از SA و Cd (جدول۱)



شکل۳- الف) میزان پرولین برگ و ب) میزان پرولین ریشه در گندم رقم زرین در غلظت‌های مختلف از SA و Cd (جدول ۱)



شکل۴- الف) میزان پروتئین برگ و ب) میزان پروتئین ریشه در گندم رقم زرین در غلظت‌های مختلف از SA و Cd (جدول۱)



شکل۵- الف) میزان قند محلول برگ و ب) میزان قند محلول ریشه در گندم رقم زرین در غلظت‌های مختلف از SA و Cd (جدول۱)

کلروفیل a: در تیمارهای Cd بدون حضور SA (II و III)، کلروفیل a برگ‌ها در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. در تیمارهای SA بدون وجود Cd (IV و VII)، در 10^{-3} M از SA تفاوت در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود، در حالی که در 10^{-4} M از SA افزایش معنی دار نسبت به شاهد مشاهده شد. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، مقدار کلروفیل a برگ‌ها با افزایش غلظت Cd به ۵۰ µM، کاهش معنی‌دار و در ۲۵ µM از Cd افزایش معنی‌دار در هر دو سطح از SA در مقایسه با شاهد نشان داد (جدول ۲). بیشترین مقادیر کلروفیل a در تیمارهای II، III، V، VII و کمترین مقدار در تیمار IX بود (شکل۱ الف).

کلروفیل b: در تیمارهای Cd بدون حضور SA (II و III)، مقدار کلروفیل b برگ‌ها در ۵۰ µM از Cd نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد. در تیمارهای SA بدون وجود Cd (IV و VII)، در 10^{-3} M از SA کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد دیده شد. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، غلظت کلروفیل b برگ در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌دار یافت. غلظت کلروفیل b در این ۴ تیمار نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). بیشترین مقدار میانگین کلروفیل b برگ در تیمارهای I، IIو VII و کمترین مقدار میانگین کلروفیل b برگ در سایر تیمارها، به‌استثناء تیمار III یافت شد (شکل ۲ الف).

کلروفیل کل: مقادیر کلروفیل کل برگ‌ها در هر دو سطح از Cd بدون حضور SA (II و III)، نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد، در حالی که تفاوت بین دو سطح از Cd معنی‌دار نبود. همچنین، در تیمارهای SA بدون حضور Cd (IV و VII)، مقدار کلروفیل کل در 10^{-3} M از SA کاهش معنی‌دار و در 10^{-4} M از SA افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد پیدا کرد. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، غلظت کلروفیل کل برگ با افزایش غلظت Cd در هر دو سطح از SA کاهش معنی‌دار نشان داد (جدول۲). به‌طوری‌که بیشترین مقادیر کلروفیل کل برگ در تیمارهای II و VII و کمترین مقدار در تیمار IX وجود داشت (شکل۲ ب).

پرولین برگ: در تیمارهای Cd بدون حضور SA (II و III)، با مقایسه میانگین‌ها کاهش معنی‌دار پرولین برگ در غلظت ۲۵ µM از Cd نسبت به شاهد دیده شد. به‌نحوی‌که تفاوت بین میزان پرولین برگ در دو سطح از Cd معنی‌دار بود. در تیمارهای SA بدون حضور Cd (IV و VII) نیز میزان پرولین برگ نسبت به شاهد کاهش یافت. تفاوت بین میزان پرولین برگ در دو سطح از SA معنی‌دار و در تیمار 10^{-3}M از SA بیشتر بود. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، میزان پرولین برگ در سطح 10^{-3} M از SA در ۲۵ µM از Cd و در 10^{-4} M از SA در ۵۰µM از Cd در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد (جدول۲). البته بیشترین مقدار میانگین پرولین برگ در تیمار I و VIII و کمترین مقدار در تیمار VII دیده شد (شکل۳ الف).

پرولین ریشه: در تیمارهای Cd بدون حضور SA (II و III)، افزایش معنی‌دار بین میانگین‌های پرولین ریشه در ۲۵ µM از Cd نسبت به شاهد وجود داشت ولی در غلظت ۵۰ µM از Cd بدون حضور SA میزان پرولین ریشه نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در تیمارهای SA بدون حضور Cd (IV و VII)، در 10^{-3} M از SA افزایش معنی‌دار و در 10^{-4} M از SA کاهش معنی‌دار در مقایسه با شاهد وجود داشت. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، میزان پرولین ریشه در سطح 10^{-3} M از SA نسبت به شاهد کاهش یافت ولی در سطح 10^{-4} M از SA در ۵۰ µM از Cd نسبت به شاهد افزایش وجود داشت (جدول ۲). به‌طوری‌که بیشترین مقدار میانگین پرولین ریشه در تیمار IX و کمترین مقدار در تیمارهای VI و VII وجود داشت (شکل۳ ب).

پروتئین برگ: در تیمارهای Cd بدون حضور SA (II و III)، با افزایش غلظت Cd، مقدار پروتئین برگ در ۲۵ μM از Cd افزایش معنی‌دار و در ۵۰ μM از Cd کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد. در تیمارهای SA بدون حضور Cd (IV و VII)، در 10^{-3} M از SA کاهش معنی‌دار و در سطح 10^{-4} M از SA افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد دیده شد. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، میزان پروتئین برگ در سطح 10^{-4} M از SA در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد (جدول۳). به‌طوری‌که بیشترین مقدار پروتئین برگ در تیمار VII و کمترین مقدار آن در تیمار III وجود داشت (شکل ۴ الف).

پروتئین ریشه: افزایش معنی‌دار بین میانگین‌های پروتئین ریشه در غلظت‌های مختلف از Cd بدون حضور SA (II و III) نسبت به شاهد به‌دست آمد. در تیمارهای SA بدون حضور Cd (IV و VII)، با اعمال تیمار SA میزان پروتئین ریشه در هر دو سطح از SA نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، میزان پروتئین ریشه در هر دو سطح از SA نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار پیدا کرد (جدول ۳). به‌نحوی‌که بیشترین مقدار میانگین پروتئین ریشه در سه تیمار VII، VIII و IX و کمترین مقدار میانگین آن در تیمار I اندازه‌گیری شد (شکل ۴ ب).

قند محلول برگ: در تیمارهای Cd بدون حضور SA (II و III)، کاهش معنی‌دار بین میانگین‌های قند محلول برگ در ۲۵ μM از Cd نسبت به شاهد دیده شد. در تیمارهای SA بدون Cd (IV و VII)، اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های قند محلول برگ در هر دو سطح از SA نسبت به شاهد وجود داشت که این اختلاف در 10^{-3} M از SA به صورت کاهش معنی‌دار و در 10^{-4} M از SA به صورت افزایش معنی‌دار بود. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، میزان قند محلول برگ با افزایش غلظت Cd به ۵۰ μM در سطح 10^{-3} M از SA کاهش معنی‌دار و در سطح 10^{-4} M از SA افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۳). به‌طوری‌که بیشترین مقدار میانگین قند محلول برگ در دو تیمار V و VII و کمترین مقدار در تیمار II یافت شد (شکل۵ الف).

قند محلول ریشه: کاهش معنی‌دار بین میانگین‌های قند محلول ریشه‌ها در غلظت‌های مختلف از Cd بدون حضور SA (II و III)، در مقایسه با شاهد به‌دست آمد. در تیمارهای SA بدون اعمال Cd (IV و VII)، در هر دو سطح از SA کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد وجود داشت. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، میزان قند محلول ریشه کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد (جدول۳). به‌طوری‌که در تیمار I بیشترین مقدار و در تیمار IV کمترین مقدار میانگین قند محلول ریشه اندازه‌گیری شد (شکل۵ الف).

قند نامحلول برگ: اختلاف معنی‌دار در غلظت‌های مختلف از Cd بدون حضور SA (II و III)، نسبت به شاهد به‌دست آمد، به این ترتیب که در ۲۵ μM از Cd کاهش معنی‌دار و در ۵۰ μM از Cd افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد دیده شد. همچنین در تیمارهای SA بدون اعمال Cd (IV و VII)، افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد وجود داشت. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، مقدار قند نامحلول برگ در هر دو سطح از SA، در ۲۵ μM از Cd در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار و در ۵۰ μM از Cd کاهش معنی‌دار نشان داد (جدول۳). به‌طوری‌که بیشترین مقدار میانگین قند نامحلول برگ در تیمار III و کمترین مقدار میانگین قند نامحلول برگ در تیمار II بود (شکل۶ الف).

قند نامحلول ریشه: در تیمارهای Cd بدون حضور SA (II و III)، در ۲۵ μM از Cd در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌دار و در غلظت ۵۰ μM از Cd افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد به‌دست آمد.

جدول ۲- مقایسه وزن تر کل گیاه، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین ریشه و پرولین برگ در گیاهان تیمار شده با غلظت‌های مختلف از Cd و SA

	تیمار SA(M), Cd (µM)	وزن تر کل گیاه g	کروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرولین ریشه	پرولین برگ
۱	$SA_{0}\ Cd_{0}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۲/۹۶±۰/۱۴۲ a	۰/۱۲۹±۰/۰۰۰۵۷ C	۰/۰۵۸±۰/۰۰۱۵ C	۰/۱۹۹±۰/۰۰۲ d	۰/۴۶۳± ۰/۰۱۵۲ c	۰/۴۷۳± ۰/۰۱۵۲ ef
۲	$SA_{0}\ Cd_{25}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۳/۰۴۶±۰/۱۵۲ a	۰/۱۴۶ ±۰/۰۰۱ E	۰/۰۵۸±۰/۰۰۱۵ C	۰/۲۰۴±۰/۰۰۲ ef	۰/۰۵۱± ۰/۰۲ d	۰/۴۰۶± ۰/۰۱۵۲ d
۳	$SA_{0}\ Cd_{50}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۴/۱۰۳±۰/۳۶ cd	۰/۱۴۴±۰/۰۰۱۵ E	۰/۰۵۵±۰/۰۰۲ B	۰/۲۰۳±۰/۰۰۲۵ e	۰/۴۵۶± ۰/۰۲ c	۰/۴۵۶± ۰/۰۱۵ e
۴	$SA_{10^{-3}}\ Cd_{0}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۳/۳۹±۰/۱۹۹ ab	۰/۱۳۱±۰/۰۰۱۵ C	۰/۰۵۰±۰/۰۰۰۵ A	۰/۱۸۲±۰/۰۰۳۵ b	۰/۵۰۶± ۰/۰۱۵ d	۰/۳۹۶± ۰/۰۱۵ cd
۵	$SA_{10^{-3}}\ Cd_{25}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۳/۸۶±۰/۴۳۵ bc	۰/۱۴۵±۰/۰۰۱۵ E	۰/۰۵۰±۰/۰۰۱۵ A	۰/۲۰۱±۰/۰۰۱۵ de	۰/۳۵۳± ۰/۰۱۵ b	۰/۳۷۶± ۰/۰۰۵ c
۶	$SA_{10^{-3}}\ Cd_{50}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۳/۱۹±۰/۲۸۳ a	۰/۱۲۳±۰/۰۰۱۵ B	۰/۰۵۱±۰/۰۰۱۵ A	۰/۱۸۷±۰/۰۰۲۳ c	۰/۲۵۹± ۰/۰۰۲ a	۰/۴۶± ۰/۰۱ e
۷	$SA_{10^{-4}}\ Cd_{0}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۳/۴۸±۰/۳۸۳ ab	۰/۱۴۶±۰/۰۰۱۵ E	۰/۰۵۹±۰/۰۰۱۵ C	۰/۲۰۷±۰/۰۰۱۵ f	۰/۲۵± ۰/۰۰۹ a	۰/۱۳۱± ۰/۰۰۳ a
۸	$SA_{10^{-4}}\ Cd_{25}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۴/۵۶±۰/۵۰۴ d	۰/۱۳۴±۰/۰۰۳۲ D	۰/۰۵۱±۰/۰۰۱۵ A	۰/۱۸۹±۰/۰۰۲ c	۰/۳۴± ۰/۱۵۲ b	۰/۴۹۳± ۰/۰۱۵ f
۹	$SA_{10^{-4}}\ Cd_{50}$ انحراف معیار ± میانگین	۱۳/۲۴±۰/۳۸۶ ab	۰/۱۱۴±۰/۰۰۱ A	۰/۰۵۰±۰/۰۰۱ A	۰/۱۷۲±۰/۰۰۱۵ a	۰/۵۶± ۰/۰۱۵ e	۰/۲۲۳± ۰/۰۱۵ b

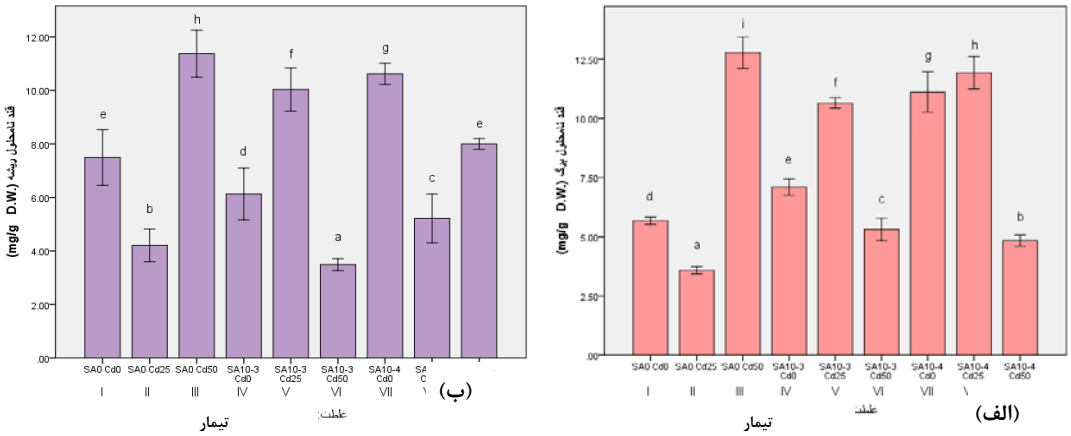
حروف مشترک در هر ستون نشانگر غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک نشانگر معنی‌دار بودن اختلافات در سطح ۵٪ است.

جدول ۳- مقایسه مقادیر قند محلول ریشه، قند نامحلول ریشه، قند محلول برگ، قند نامحلول برگ، پروتئین ریشه و پروتئین برگ در گیاهان تیمار شده با غلظت‌های مختلف از Cd و SA

	تیمار SA(M), Cd(µM)	قند محلول ریشه	قند نامحلول ریشه	قند محلول برگ	قند نامحلول برگ	پروتئین ریشه	پروتئین برگ
۱	$SA۰ Cd۰$ انحراف معیار ± میانگین	۲۵/۶۱ ± ۰/۵۴ g	۷/۴۹ ± ۰/۴۱ e	۱۸/۳ ± ۰/۶۶ E	۵/۶۸ ± ۰/۰۶ d	۹/۰۴ ± ۰/۱۳ a	۱۲/۲۱ ± ۰/۴۸ c
۲	$SA۰ Cd۲۵$ انحراف معیار ± میانگین	۱۷/۳۶ ± ۰/۵۶ c	۴/۲ ± ۰/۲۴ b	۷/۲ ± ۰/۴۲ A	۳/۵۸ ± ۰/۰۶ a	۱۳/۳۶ ± ۰/۲۸ d	۱۲/۹۴ ± ۰/۱۲ d
۳	$SA۰ Cd۵۰$ انحراف معیار ± میانگین	۱۹/۵۱ ± ۰/۶۱ e	۱۱/۳۷ ± ۰/۳۵ h	۱۸/۶۸ ± ۰/۳۴ E	۱۲/۷۷ ± ۰/۲۶ i	۱۰/۶۲ ± ۰/۳۷ b	۸/۱۳ ± ۰/۰۴۷ a
۴	$SA۱۰^{-۳} Cd۰$ انحراف معیار ± میانگین	۹/۸ ± ۰/۳۱ a	۶/۱۳ ± ۰/۳۸ d	۹/۳۴ ± ۰/۴۸ b	۷/۰۸ ± ۰/۱۳ e	۱۰/۴۵ ± ۰/۴۳ b	۱۱/۲۵ ± ۰/۲۷ b
۵	$SA۱۰^{-۳} Cd۲۵$ انحراف معیار ± میانگین	۱۹/۱ ± ۰/۳۸ de	۱۰/۰۳ ± ۰/۳۲ f	۲۴/۴ ± ۰/۸۵ g	۱۰/۶۵ ± ۰/۰۹ f	۱۱/۶۷ ± ۰/۱۱ c	۱۱/۸۴ ± ۰/۳۰۶ c
۶	$SA۱۰^{-۳} Cd۵۰$ انحراف معیار ± میانگین	۱۷/۲ ± ۰/۵۲ c	۳/۴۹ ± ۰/۰۹ a	۱۲/۴۵ ± ۰/۴۳ C	۵/۳۱ ± ۰/۱۹ c	۱۱/۸۸ ± ۰/۳۱ c	۱۱/۹۵ ± ۰/۲۰۵ c
۷	$SA۱۰^{-۴} Cd۰$ انحراف معیار ± میانگین	۲۲/۸۴ ± ۱/۰۸ f	۱۰/۶۲ ± ۰/۱۵ g	۲۴/۴۸ ± ۰/۸۴ g	۱۱/۱۱ ± ۰/۳۴ g	۱۵/۶۷ ± ۰/۵۱ e	۱۶/۶۸ ± ۰/۲۸ g
۸	$SA۱۰^{-۴} Cd۲۵$ انحراف معیار ± میانگین	۱۵/۶۱ ± ۰/۸۱ b	۵/۲۱ ± ۰/۳۶ c	۱۴/۷۴ ± ۰/۳۰۲ d	۱۱/۹۳ ± ۰/۲۷ h	۱۵/۵۵ ± ۰/۴۳ e	۱۳/۹۴ ± ۰/۳۵ e
۹	$SA۱۰^{-۴} Cd۵۰$ انحراف معیار ± میانگین	۱۸/۱۱ ± ۰/۱۸ cd	۸ ± ۰/۰۸۱ e	۲۱/۶ ± ۰/۴۳ F	۴/۸۴ ± ۰/۰۹۵ b	۱۵/۷۸ ± ۰/۳۷ e	۱۵/۰۱ ± ۰/۲۱ f

حروف مشترک در هر ستون نشانگر غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک نشانگر معنی‌دار بودن اختلافات در سطح ۵٪ است.

در تیمارهای SA بدون اعمال Cd (IV و VII) نیز اختلاف معنی‌دار در دو سطح از SA نسبت به شاهد وجود داشت، به این ترتیب که در $۱۰^{-۳}$ M از SA کاهش معنی‌دار و در سطح $۱۰^{-۴}$ M از SA افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد دیده شد. در تیمارهای توأم Cd و SA (V، VI، VIII و IX)، مقدار قند نامحلول ریشه در ۲۵ µM از Cd در سطح $۱۰^{-۳}$ M از SA افزایش معنی‌دار و در سطح $۱۰^{-۴}$ M از SAکاهش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد (جدول۳). به‌طوری‌که بیشترین مقدار میانگین قند نامحلول ریشه در تیمار III و کمترین مقدار میانگین قند نامحلول ریشه در تیمار VI دیده شد (شکل۶ ب).



شکل۶- الف) میزان قند نامحلول برگ و ب) میزان قند نامحلول ریشه در گندم رقم زرین در غلظت‌های مختلف از SA و Cd (جدول۱)

با توجه به نتایج به‌دست آمده، غلظت‌های Cd استفاده شده اثر افزایشی روی مقادیر وزن تر کل، کلروفیل a، کلروفیل کل، پرولین ریشه، پروتئین ریشه، قند نامحلول برگ و ریشه (در ۵۰ µM از Cd) و اثرات کاهشی بر روی کلروفیل b، پرولین برگ، قند محلول برگ و ریشه داشت. در تیمارهای SA بدون وجود Cd، SA باعث افزایش کلروفیل a، پروتئین ریشه و قند نامحلول برگ و کاهش کلروفیل b، پرولین برگ و قند محلول ریشه شد. استفاده توأم Cd و SA نیز باعث افزایش وزن تر کل و کلروفیل a در ۲۵ µM از Cd، افزایش پروتئین برگ در $۱۰^{-۴}$ M از SA و افزایش پروتئین ریشه شد، در حالی که کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین برگ و قند نامحلول ریشه را کاهش داد.

بنابراین به نظر می‌رسد بهتر است مقادیر دیگری نیز از این دو ماده مورد استفاده قرار بگیرند، به‌خصوص باید در میزان کاربرد این دو ماده به صورت توأم دقت لازم انجام گیرد.

بحث

وزن تر: با استفاده از نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان نشان داد که در نبود SA با افزایش Cd، وزن تر کل در ۵۰ µM از Cd در مقایسه با شاهد افزایش یافت. در تیمارهای توأم SA و Cd، وزن تر کل در هر دو سطح از SA با افزایش Cd کاهش نشان داد. این کاهش ممکن است به دلیل تشدید اثر کاهنده Cd در این غلظت از SA باشد.

کلروفیل: نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهند که در نبود SA با افزایش Cd، مقدار کلروفیل a و کل افزایش یافت که همسو با نتایج تحقیق John و همکاران می‌باشد.

آنها با مطالعه روی گیاه *Lemna* گزارش کردند که غلظت پایین کادمیوم (1mg/L)، مقدار کلروفیل (a و کل) را افزایش داد (۹). مقدار کلروفیل b در سطح ۵۰ μM از Cd نسبت به شاهد کاهش نشان داد. سلطانی و همکاران (۲۰۰۶) با مطالعه روی گیاه کلزا کاهش مقدار کلروفیل را تحت تیمار کادمیوم نشان دادند که می‌تواند به علت مهار بیوسنتز کلروفیل احتمالا به واسطه مهار سنتز آلفا-آمینولوولنیک اسید و مهار تشکیل پروتوکلروفیلد رداکتاز باشد (۲). اثر کاهنده کادمیوم روی فتوسنتز از طریق: ۱- کاهش محتوای هر دو کلروفیل a و b، ۲- مهار تشکیل کلروفیل، ۳- کاهش فعالیت روبیسکو، ۴- مهار هر دو سیستم نوری I و II و ۵- افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز می‌باشد (۱۳). در تیمارهای SA بدون حضور Cd، مقادیر کلروفیل a و کل در $۱۰^{-۴}$M از SA افزایش پیدا کرد. مقادیر افزایش یافته در این آزمایش همسو با نتایج تحقیق عبدالغریب (۲۰۰۷) می‌باشد، به‌طوری که با مطالعه روی مرزه و ریحان نشان داد که SA رنگیزه‌های فتوسنتزی را افزایش داد و SA به‌کار رفته با غلظت $۱۰^{-۴}$M مؤثرتر بود (۴).

پرولین: در تیمارهای کادمیوم بدون SA، میزان پرولین ریشه در ۲۵ μM از Cd نسبت به شاهد بیشتر، در حالی که میزان پرولین برگ در ۲۵ μM از Cd در مقایسه با شاهد کمتر بود. نتایج به‌دست آمده در مورد پرولین ریشه همسو با نتایج زیر می‌باشد. Farage و Mullen (۱۹۷۹) پیشنهاد کردند که این اسید آمینه به‌عنوان یک اسمولیت به وسیله ویژگیهای حفاظت اسمزی، آنتی اکسیداتیو و شلاته کننده فلز فعالیت می‌کند و در بازسازی کلروفیل، تنظیم اسیدیته سیتوزولی، افزایش مقاومت به تنش و پایداری سنتز پروتئین، پایداری ماکرومولکول‌ها و اندامک‌ها و حفاظت آنزیم‌ها از واسرشتگی شرکت می‌کند و نیز به‌عنوان منبع نیتروژن و انرژی در بازیافت رشد به‌کار می‌رود (۱۸). نتایجی که ما در این تحقیق در مورد پرولین برگ بدست آوردیم همسو با نتایج Dhir و همکاران (۲۰۰۴) می‌باشد که نشان دادند تنش Cd^{2+} انباشت پرولین را در هیدروفیت‌ها کاهش داد (۹). در تیمارهای SA بدون حضور Cd، میزان پرولین ریشه در $۱۰^{-۴}$ M و میزان پرولین برگ در هر دو سطح SA در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد؛ که این احتمالاً به این دلیل است که در حضور SA نیاز زیادی به پرولین آزاد به‌عنوان یک محافظت‌کننده از تنش وجود ندارد. در تیمارهای با هم SA و Cd، با افزایش غلظت Cd از ۲۵ به ۵۰ μM میزان پرولین ریشه در $۱۰^{-۴}$ M افزایش یافت که می‌تواند به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی خود SA باشد.

پروتئین: مقدار پروتئین ریشه در تیمارهای Cd بدون حضور SA افزایش یافت. پروتئین برگ در ۲۵ μM افزایش، ولی در ۵۰ μM کاهش یافت. Mishra و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که افزایش در محتوای پروتئین محلول کل تحت تنش فلز سنگین ممکن است به القای سنتز پروتئین‌های تنشی، ازجمله بیوسنتز گلوتاتیون و فیتوکلاتین و بعضی پروتئین‌های شوک حرارتی مربوط باشد (۱۸). به علاوه اینکه ممکن است کادمیوم در ریشه‌ها انباشته شود تا از آسیب به برگ‌ها جلوگیری شود. مقادیر کاهش یافته در این آزمایش همسو با نتایج Garg و همکاران (۱۹۹۶) می‌باشد، آنها با مطالعه روی گیاه *Hydrilla verticillata* کاهش محتوای پروتئین را در μM ۲۵ از Cd گزارش کردند (۷). به عقیده John و همکاران (۲۰۰۹) تصور می‌شود که کاهش محتوای پروتئین محلول کل تحت تنش فلزات سنگین ممکن است به دلیل افزایش فعالیت پروتئاز، تغییرات عملکردی و ساختاری گوناگون بوسیله واسرشته شدن و قطعه قطعه شدن پروتئین‌ها، برهم‌کنش با باقی‌مانده‌های تیول پروتئین‌ها و جانشینی آنها با فلزات سنگین در متالو پروتئین‌ها و اتصالات متقابل پروتئین_DNA باشد (۱۸). گزارش شده است که کادمیوم قادر به کاهش محتوای پروتئین به وسیله بازدارندگی جذب Mg و K و افزایش تغییر پس از ترجمه، کاهش در سنتز یا

افزایش تجزیه پروتئین و پیشگیری از فعالیت روبیسکو می‌باشد (۱۸).

در تیمارهای SA بدون حضور Cd، مقدار پروتئین ریشه نسبت به شاهد افزایش یافت. مقدار پروتئین برگ فقط در $۱۰^{-۴}$ M از SA نسبت به شاهد افزایش نشان داد. این نتایج همسو با نتایج Khan و همکاران (۲۰۰۳) می‌باشد. آنها افزایش سنتز پروتئین را در گیاه گندم تحت تیمار SA نشان دادند (۱۵). مقدار پروتئین برگ در $۱۰^{-۳}$ M از SA در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌دار یافت که همسو با نتایج مجد و همکاران (۱۳۸۵) می‌باشد که کاهش مقدار پروتئین را در گیاه نخود رقم هاشم تحت غلظت ۱/۵ mM اسید سالیسیلیک نشان دادند (۳). در تیمارهای توأم Cd و SA، میزان پروتئین ریشه در $۱۰^{-۴}$ M از SA نسبت به $۱۰^{-۳}$ M در هر دو سطح از Cd افزایش نشان داد. این افزایش ممکن است به دلیل تأثیر SA روی سنتز پروتئین‌های دفاعی در برابر تنش ایجاد شده توسط کادمیوم باشد.

قندهای محلول: بدون حضور SA با افزایش Cd، میزان قند محلول ریشه در هر دو سطح و میزان قند محلول برگ در ۲۵ μM از Cd نسبت به شاهد کاهش یافت. Mohan و Hosetti (۲۰۰۵) با مطالعه روی گیاه *Salvinia natans* کاهش محتوای کربوهیدرات را تحت تأثیر کادمیوم گزارش کردند. این ممکن است به تشکیل مجموعه‌هایی از کربوهیدرات با مولکولهای کادمیوم نسبت داده شود که از تجزیه آنزیمی به وسیله تغییر ساختار کربوهیدرات جلوگیری می‌کند (۱۴). در تیمارهای SA بدون حضور Cd، میزان قند محلول ریشه با افزایش SA کاهش نشان داد. قند محلول برگ در $۱۰^{-۳}$ M کاهش، ولی در $۱۰^{-۴}$ M افزایش یافت. Sharma و Lakhvir (۱۹۸۸) نشان دادند که افشانه برگی SA در گیاهان چاودار سطح قند محلول را کاهش داد (۱۱). مقادیر افزایش یافته با نتایج زیر همسو می‌باشند. Prasanna و همکاران (۲۰۱۰) با مطالعه روی گندم نشان دادند که کربوهیدرات کل به وسیله ۲۰۰mg/L یا ۱۰۰ اسید سالیسیلیک افزایش یافت (۸).

منابع

۱. خدابنده، ن.، ۱۳۶۸، جلد اول، زراعت غلات، انتشارات سپهر، صفحات ۶-۵، ۲۰-۱۹، ۲۶، ۲۸، ۳۰، ۱۱۰- ۱۰۸، ۱۱۸.

سلطانی، ف.، قربانلی، م.، منوچهری کلانتری، خ.، ۱۳۸۵، اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه های فتوسنتزی، قندها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)، مجله زیست شناسی ایران، جلد ۱۹، شماره ۲، صفحات ۱۳۶-۱۴۵.

۲. مجد، الف.، مداح، م.، فلاحیان، ف.، صباغ پور، ح.، چلبیان، ف.، ۱۳۸۵، بررسی مقایسه ای اثر اسید سالیسیلیک بر عملکرد، اجزاء عملکرد و مقاومت دو رقم حساس و مقاوم نخود نسبت به قارچ *Ascochyta rabiei*، مجله زیست شناسی ایران، جلد ۱۹، شماره ۳، صفحات ۳۱۴-۳۲۴.

3. Abd El-Lateef G. F., 2007, Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. International Journal of Agriculture & Biology, 2: 294-301.

4. Arian, M., 2009, Exogenous application of salicylic acid through rooting medium modulates ion accumulation and antioxidant activity in spring wheat under salt stress. International Journal of Agriculture & Biology, 11: 437-442.

5. Bates, L. S., Waldern, R. P., and Tear, I. D., 1973, Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

6. Garg, P., Tripathi, R. D., Rai, U. N., Sinha, S., and Chandra, P., 1996, Cadmium accumulation and toxicity in submerged plant *Hydrilla verticillata* (L. F.) royle. Aquatic Botany, 167-173.

7. Jayalakshmi, P., Devi, P. S., Prasanna, N. D., Revathi, G., and Shaheen, S. K., 2010, Morphological and physiological changes of groundnut plants by foliar application with salicylic acid. International Quarterly Journal of Life Sciences, 5: 193-195.

8. John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S., 2008, Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza*L. Journal of Plant Soil Environ, 54: 262-270.

9. Joseph, B., Jini, D., and Sujatha,S., 2010, Insight into the role of exogenous salicylic acid on plants

grown under salt environment. Asian Journal Crop Science, 2: 226-235.

10. Khodary, S. E. A., 2004, Effect of salicylic acid on the growth, photo synthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed mize plants. International Journal of Agriculture & Biology, Vol. 6, No. 1.

11. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randal, R. J., 1951, Protein measurement with folin- phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, 193: 265-275.

12. Mishra, S., and Dubey, R. S., 2005, Heavy metal toxicity induced alterations in photosynthetic metabolism in plants. Journal of Plant Physiology, 4: 265-310.

13. Mohan, B. S., and Hosetti, B. B., 2006, Phytotoxicity of cadmium on the physiological dynamics of *Salvinia natans* L. grown in macrophyte ponds. Journal of Environmental Biology, 27: 701-704.

14. Moussa, H. R., and El-Gamal, S. M., 2010, Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat. Biologia Plantarum, 54: 315-320.

15. Pal, M., Horvath, E., Janda, T., Poldi, E., and Szalai, G., 2005, Cadmium stimulates the accumulation of salicylic acid and its putative precursors in maize (*Zea mays*) plants. Physiologia Plantarum, 125: 356-364.

16. Porra, R. J., 2002, The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Research, 73:149- 156.

17. Rastgoo, L., and Alemzadeh, A., 2011, Biochemical responses of gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. Australian Journal of Crop Science, 5: 375-383.

18. Riazi, A., Matsuda, K., and Arslan, A., 1985, Water stress induced changes in concentrations of proline and other solutes in growing regions of young barley leaves. Journal Experimental Botany, 36: 1716-1725.

19. Taiz, L., and Zeiger, E., 2006, Plant physiology. Sinauer associates, 4 edition, Chapter5:75.

Salicylic acid pretreatment effect on cadmium toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.)

Faraji M. and Dilmaghany K.

Islamic Azad University-Marand Branch, Marand, I.R. of Iran

Abstract

This study has investigated the effects of the different levels of Salicylic acid (SA) on the total fresh weight, Chlorophyll (a, b, and total), proline, total soluble protein, soluble and insoluble sugar under stress of cadmium (Cd) in the plant of wheat (Triticum aestivum L. cu. Zarrin). The seedlings received pretreatment of salicylic acid (0, 10^{-3} and 10^{-4} M) and treatment of Cd (0, 25 and 50µM). The results showed that the total fresh weight at 50µM of Cd had a significant increase in the Cd treatments without SA in comparison with control. At SA treatments without Cd, the concentration of Chl a and the total Chl at10^{-4}M of SA increased. At Cd treatments without SA in 25µM of Cd, the amount of the root proline in comparison with control increased whereas the amount of the leaf proline decreased. At the lack of Cd with increasing SA, the amount of the leaf prolin by comparison with control decreased. By increasing the concentration of SA in the lack of Cd, the level of the root protein increased. In the absence of SA with increasing Cd, the amount of soluble sugar of the root and leaf decreased. In the SA treatments without Cd, the amount of the soluble sugar of the root was decreased. With the lack of SA within increasing Cd, the amount of insoluble sugar of the root and leaf in 25µM of Cd decreased. In the SA treatments with the lack of Cd, the amount of insoluble sugar of the leaf increased

Key words: Cadmium, Salicylic acid, Chlorophyll, Protein, Carbohydrate.