

اثر متقابل مس و سالیسیلیک اسید بر میزان کربوهیدرات‌های محلول، نامحلول، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز دو رقم گیاه ماش (*Vigna radiata* L.)

سرور عارفی^{۱*}، حسین لاری یزدی^۲، حمزه امیری^۳

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۶

تاریخ تصویب: ۹۵/۰۷/۰۵

چکیده

مس یک ریزمغذی اصلی گیاهی است که برای اجزای تشکیل دهنده پروتئین چند آنزیم مورد نیاز است. سالیسیلیک اسید یا اروتو هیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات مربوطه به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارند و نقش اساسی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد، تکامل گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه زنی ایفا می کند. در پژوهش حاضر تأثیر

* کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد، ایران (نویسنده مسئول Sorur.Arefi@yahoo.com)

۲ دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

۳ دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

توأم غلظت‌های مختلف سولفات مس (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌مولار) و سالیسیلیک اسید (۵ میکرومولار) در کشت هیدروپونیک بر برخی از فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه ماش در دو رقم پرتو و گوهر ماش مورد توجه قرار گرفت. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و هرتیمار با ۴ تکرار انجام پذیرفت. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، غلظت بالای مس در گیاه ماش رقم پرتو و گوهر موجب کاهش نشاسته در برگ گردید. در مقابل میزان پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافتند. در این پژوهش سالیسیلیک اسید توانست تا حدودی اثرات منفی مس را تعدیل نماید. و شواهد نشان داد که تحت تنش غلظت بالای فلز سنگین مس در تمام پارامترهای مورد سنجش رقم گوهر نسبت به رقم پرتو ماش مقاوم‌تر و بردبارتر بود.

واژه‌های کلیدی: سالیسیلیک اسید، ماش، مس، هیدروپونیک.

مقدمه

سالیسیلیک اسید یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید به گروهی از ترکیب‌های فنلی تعلق دارد که به عنوان یک مولکول سیگنالی مهم برای تعدیل پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی شناخته شده است (Simaei et al., 2011). سالیسیلیک اسید تنظیم کننده ای است که نقش مهمی در مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کند و بر رشد گیاه، ساختار غشا، جذب و انتقال یون، نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، گلدهی و رسیدن میوه نیز تاثیر می‌گذارد (Belkhadi, 2010). اسید سالیسیلیک به عنوان یک آنتی اکسیدانت غیر آنزیمی بالقوه و یک سیگنال مولکولی مهم برای تغییر پاسخ‌های گیاه به تنش محیطی عمل می‌کند (Simaei, et al., 2011). اسید سالیسیلیک بر اکثر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر می‌گذارد و موجب تغییراتی در آنها می‌شود، این تغییرات اغلب به صورت سازش‌هایی است که مقدار تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (Metvally et al., 2003).

تنش‌های محیطی همچون فلزات سنگین بر رشد و نمو، ساختار فیزیولوژیک گیاه، سنتز پروتئین، تنفس و متابولیسم سلولی تاثیر دارند (Syta et al., 2013).

تجمع غلظت‌های سمی مس معمولاً روی خاک‌های آلوده آنتروپوژنیک نظیر خاک‌های استخراج معدن، دفع مواد زائد، کاربرد کودها، آفت‌کش‌ها و قارچ‌کش‌ها مشاهده شده است (Kopittke et al., 2006). مس یک ریز مغذی اصلی است که در غلظت‌های معمولی رشد گیاه را افزایش می‌دهد اما در غلظت‌های بالا برای گیاه سمی است (Sheng, 2007). گیاهان در شرایط متفاوت محیطی مانند تنش، مواد محلول با وزن مولکولی کم که به طور کلی مواد محلول سازگار نامیده می‌شوند را سنتز می‌نمایند این مواد حل شونده سازگار شامل اسیدهای آمینه (پرولین، گلايسين)، قندها (ساكارز ساير اليگوساكاريدها و پلی ساکاریدها) می‌باشد (Pagter et al., 2005). تغییر سطح کربوهیدرات‌ها یکی از واکنش‌های گیاه به تنش محیطی از جمله فلزات سنگین محسوب می‌شود (Alaoui - sosse et al., 2004). انباشتگی کربوهیدرات‌ها در برگ‌های تحت تنش به نوبه خود باعث القاء فیدبک (بازخورد) بازدارندگی بر روی فتوسنتز می‌شود (Dube and Singh, 2003). زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های غیرزیستی قرار می‌گیرند میزان پرولین آنها افزایش می‌یابد و ساختارهای سلولی و آنزیمی را در برابر فاکتورهای تنش‌زا حفاظت می‌کند. گزارش شده است

سالیسیلیک بر روی میزان قند محلول، نامحلول، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز دو رقم ایرانی پرتو و گوهر گیاه ماش مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها:

ابتدا گیاهک‌های ۵ روزه دو رقم پرتو و گوهر ماش به گلدان‌های محتوی محلول غذایی نیم قدرت هوگلدن با حجم ۶۵۰ میلی‌لیتر انتقال یافتند و روز بعد با غلظت‌های مختلف مس (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی مولار) و اسید سالیسیلیک با غلظت ۵ میکرومولار تیمار شدند هر تیمار با ۴ تکرار انجام شد و در هر گلدان ۴ گیاه قرار گرفت. گیاهان پس از ۱۴ روز جهت سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی برداشت شدند. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS با (Versian 19) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح کمتر از ۵ درصد و ترسیم نمودارها با استفاده از برنامه EXCEL صورت گرفت.

سنجش کربوهیدرات‌ها - کربوهیدرات‌های محلول:

به ۰/۱ گرم ماده خشک گیاهی (ریشه یا برگ)، ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. پس از گذشت یک هفته ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی نمونه برداشته

که پرولین در غلظت‌های زیاد در بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های غیر زنده همانند فلزات سنگین، شوری، خشکی و سرما در گیاه تجمع می‌یابد. (Yadava, 2010) پرولین در تنظیم فشار اسمزی، حفاظت از مولکول‌های پروتئینی و یکپارچگی غشای سلولی در نخیره کردن کربن، نیتروژن و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد با عمل آنتی‌اکسیدانی نقش دارد (Bartels and Sunkar, 2005). غلظت اضافی مس به دلیل افزایش گونه‌های اکسیژن واکنشگر (ROS) در بخش زیرسلولی موجب افزایش تنش اکسیداتیو می‌شود (Khatun et al., 2008). افزایش مس موجب تنش اکسیداتیو و در نتیجه ایجاد گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر مانند رادیکال‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن می‌گردد. گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) ممکن است به چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، اسیدهای کربوهیدرات‌ها، ماکرومولکول‌های تولید شده در سلول‌ها آسیب بزند (Gajewska and Skolodowska, 2007).

با توجه به فراگیر شدن آلودگی زیست محیطی و همچنین ارزش غذایی گیاه ماش در کشورهای در حال توسعه در پژوهش حاضر سعی بر این است که اثر عنصر مس و برهم‌کنش آن با تعدیل‌کننده اسید

برای سنجش میزان پرولین از روش Bates (1973) et al., استفاده شد. بعد از توزین ۰/۵ گرم وزن تر (برگ)، مقدار ۱۰ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به آن اضافه گردید و تا هموژن شدن کامل ساییده شد و سپس با کاغذ صافی واتمن، صاف شده و ۲ میلی لیتر استیک اسید و ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین اضافه گردید. لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن ماری جوشان قرار گرفتند تا رنگ آجری آنها ثابت شود. پس از سرد شدن لوله‌ها، ۴ میلی لیتر تولوئن به هریک از آنها اضافه شد و بعد از به شدت هم زدن آنها میزان جذب آن در ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (۴۰۰۱،۴ مدل SPEC-TRONIC® 20GENESYS) خوانده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:

برای این آزمایش از ۰/۲ میلی لیتر از محلول عصاره گیاهی برگ استفاده شد برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Chance, (1955) استفاده شد.

نتایج محتوای قند محلول برگ دو رقم پرتو و گوهر ماش ۱۴ روزه:

طبق آزمون دانکن مشاهده می شود که تغییرات قند محلول برگ دو رقم پرتو و گوهر ماش با رشد ۱۴ روزه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف سولفات مس به تنهایی

و حجم آن با مقطر به ۲ میلی لیتر رسانده شد. سپس بر روی آن ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد اضافه کرده خوب هم زده و پس از آن ۵ میلی لیتر سولفوریک اسید غلیظ به آن اضافه شد محلول زرد رنگی به دست آمد که به مرور زمان تغییر رنگ داده و به قهوه‌ای روشن تمایل پیدا کرد. پس از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه با استفاده از طول موج ۴۸۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر ۴۰۰۱،۴ مدل (SPEC-TRONIC® 20GENESYS) خوانده شد (Kochert, 1987).

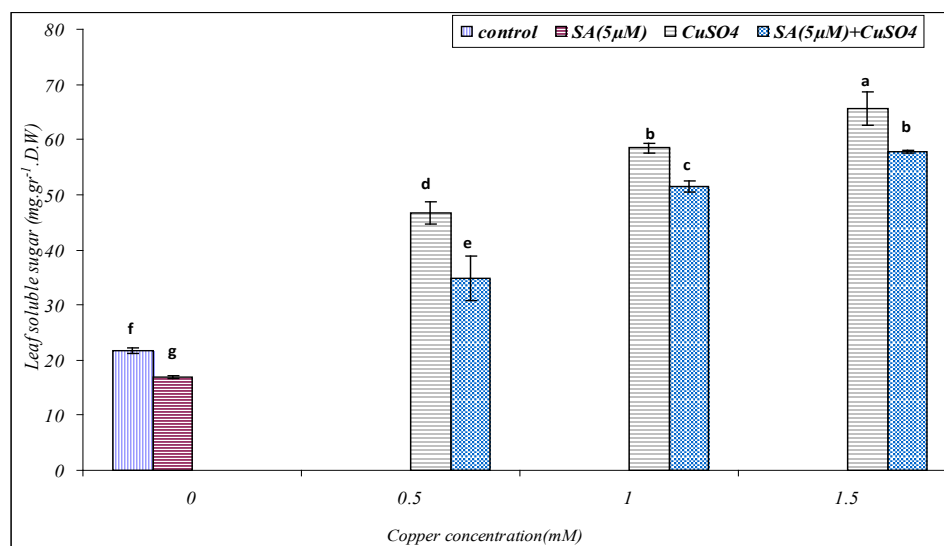
سنجش کربوهیدرات‌های نامحلول:

رسوب باقی مانده از محلول اتانولی سنجش کربوهیدرات‌های محلول برای اندازه‌گیری نشاسته استفاده شد. رسوب حاصل پس از خشک شدن و توزین به لوله آزمایش محتوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر منتقل شد و ۱۵ دقیقه در بن ماری محتوی آب جوش قرار گرفت حجم محلول مورد نظر پس از صاف شدن با آب مقطر به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد با استفاده از روش فنل - سولفوریک اسید جذب رنگ حاصل را با دستگاه اسپکتروفتومتر (۴۰۰۱،۴ مدل SPECTRON-IC® 20GENESYS) در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد (Kochert, 1987).

سنجش پرولین

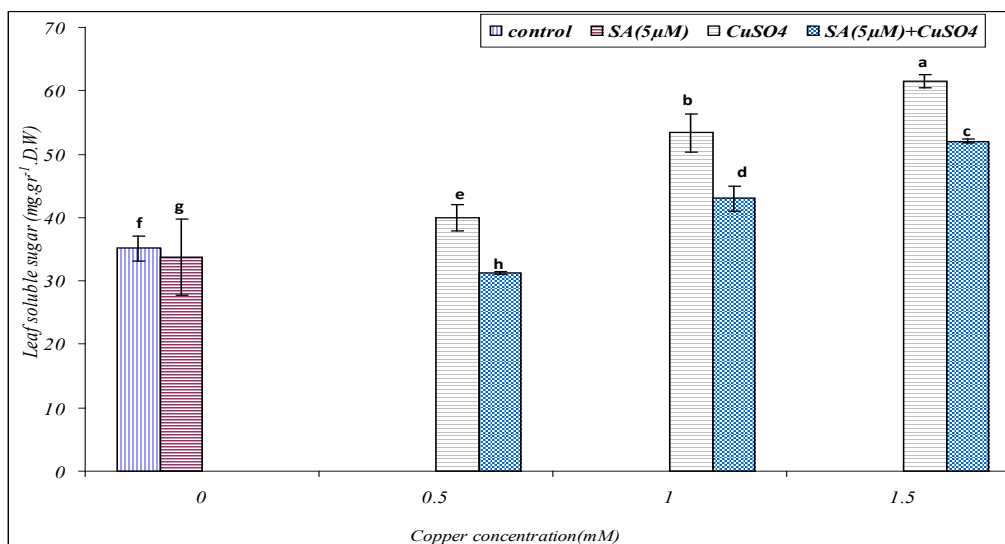
و برهم‌کنش آن با سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد روند افزایشی معنی داری را نشان داد. ($p < 0.01$) با افزایش غلظت (CuSO_4) بیش‌ترین میزان قند محلول در تیمار ۱/۵ میلی مولار (CuSO_4) با ۷۵ و ۲۰۱ درصد

افزایش در هر دو رقم پرتو و گوهر و کم‌ترین میزان قند محلول در تیمار شاهد هر دو رقم مشاهده شد و همچنین در بررسی اثر متقابل بین تنش مس و اسید سالیسیلیک تیمار ۱/۵ ($\text{CuSO}_4 + \text{SA}$) با ۴۷



شکل ۱: نمودار اثرات غلظت‌های سولفات مس به تنهایی و برهم‌کنش با سالیسیلیک اسید ($5 \mu\text{M}$) بر محتوای قند محلول برگ رقم پرتو ۱۴ روزه

(هر ستون نمودار معرف میانگین \pm انحراف معیار ۴ تکرار است. حروف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی داری از لحاظ دانکن است).



شکل ۲: نمودار اثرات غلظت‌های سولفات مس به تنهایی و برهم‌کنش با سالیسیلیک اسید ($5 \mu\text{M}$) بر محتوای قند محلول برگ رقم گوهر ۱۴ روزه

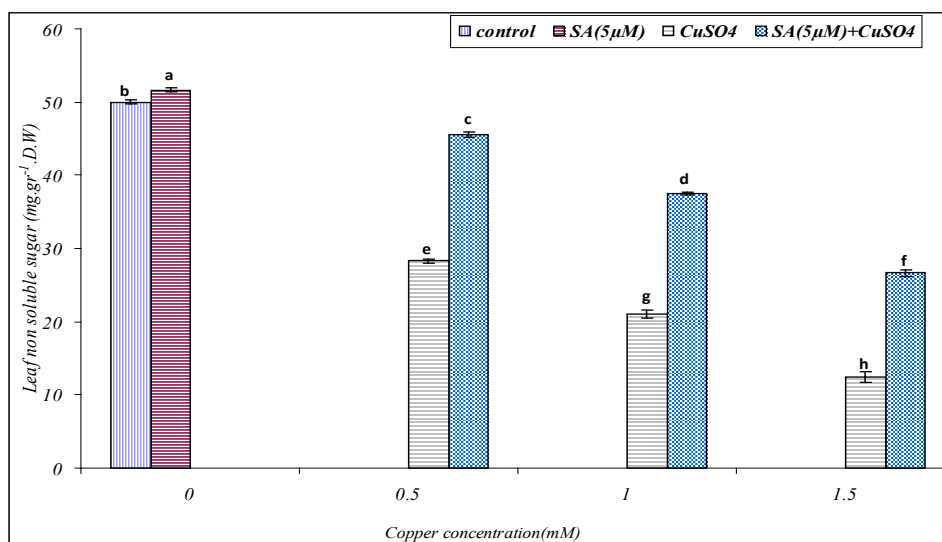
(هر ستون نمودار معرف میانگین \pm انحراف معیار ۴ تکرار است. حروف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی داری از لحاظ دانکن است).

و برهم کنش آن با سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد روند کاهشی معنی داری را نشان داد ($p < 0.01$). با افزایش غلظت (CuSO_4) بیشترین میزان قند نامحلول هر دو رقم پرتو و گوهر در تیمار شاهد و کمترین میزان قند نامحلول در تیمار ۱/۵ میلی مولار (CuSO_4) با ۷۵ و ۲ درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد و همچنین در بررسی اثر متقابل بین تنش مس و اسید سالیسیلیک تیمار با (SA) ۳ و ۱۷ درصد افزایش در هر دو رقم پرتو و گوهر

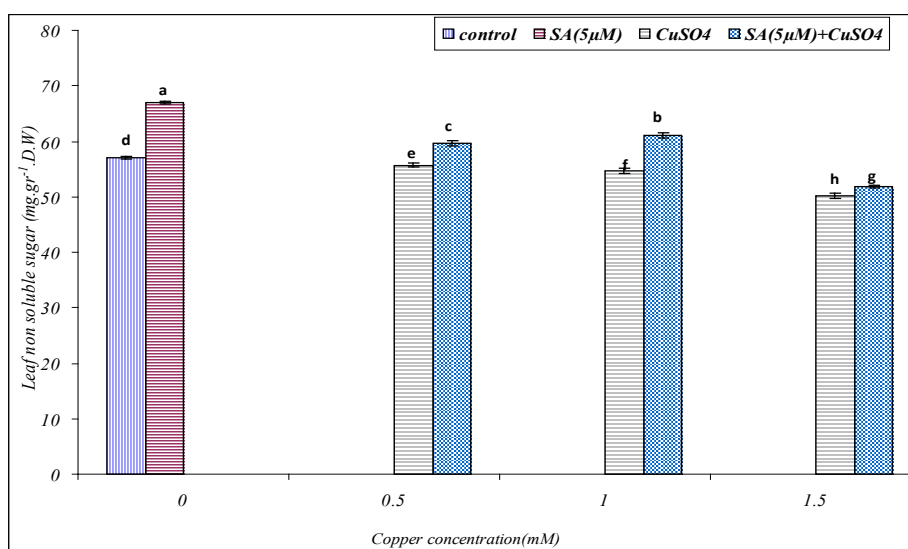
و ۱۶۵ درصد افزایش در هر دو رقم پرتو و گوهر بیشترین میزان قند محلول و تیمار با (SA) ۴ و ۲۲ درصد کاهش کمترین میزان قند محلول را نسبت به شاهد نشان داد (نمودار ۱ و ۲).

نتایج محتوای قند نامحلول برگ دو رقم پرتو و گوهر ماش ۱۴ روزه:

طبق آزمون دانکن مشاهده می شود که تغییرات قند نامحلول برگ دو رقم پرتو و گوهر ماش با رشد ۱۴ روزه تحت تاثیر غلظت های مختلف سولفات مس به تنهایی



شکل ۳: نمودار اثرات غلظت های سولفات مس به تنهایی و برهم کنش با سالیسیلیک اسید (۵µM) بر محتوای قند نامحلول برگ رقم پرتو ۱۴ روزه (هر ستون نمودار معرف میانگین \pm انحراف معیار ۴ تکرار است. حروف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی داری از لحاظ دانکن است).



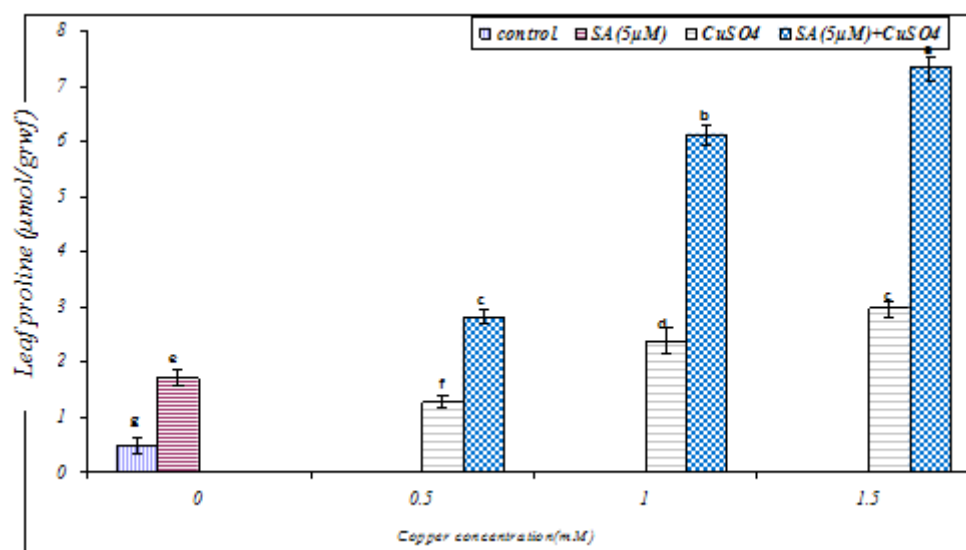
شکل ۴: نمودار اثرات غلظت‌های سولفات مس به تنهایی و برهم کنش با سالیسیلیک اسید (5µM) بر محتوای قند نا محلول برگ رقم گوهر ۱۴ روزه (هر ستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۴ تکرار است. حروف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی داری از لحاظ دانکن است).

به شاهد روند افزایشی معنی داری را نشان داد ($p < 0.01$). با افزایش غلظت (CuSO_4) در هر دو رقم بیشترین میزان پرولین در تیمار ۱/۵ میلی مولار (CuSO_4) با ۵۰۰ و ۵۰۶ درصد افزایش در هر دو رقم پرتو و گوهر و کمترین میزان پرولین در تیمار شاهد هر دو رقم مشاهده شد و همچنین در بررسی اثر متقابل بین تنش مس و اسید سالیسیلیک تیمار ۱/۵ ($\text{CuSO}_4 + \text{SA}$) با ۸۲۱ و ۱۳۹۶ درصد افزایش در هر دو رقم پرتو و گوهر بیشترین میزان پرولین و تیمار با (SA) با ۹۴ و ۲۵۱ درصد کمترین میزان پرولین را در هر دو رقم

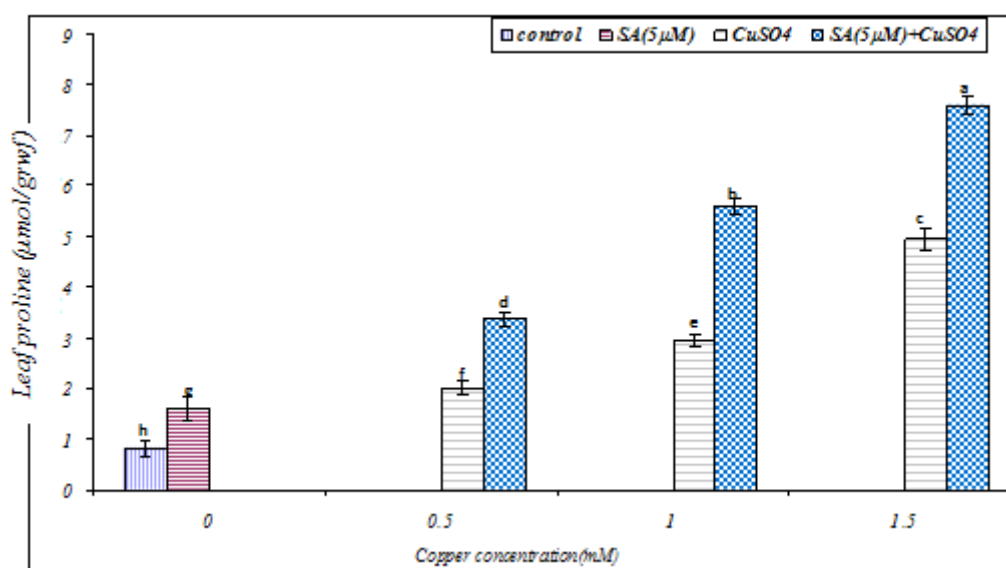
بیشترین میزان قند نا محلول و تیمار ۱/۵ ($\text{CuSO}_4 + \text{SA}$) با ۶۴ و ۹ درصد کاهش در هر دو رقم پرتو و گوهر کمترین میزان قند نا محلول را نسبت به شاهد نشان داد (نمودار ۳ و ۴).

نتایج محتوای میزان پرولین برگ دو رقم پرتو و گوهر ماش:

طبق آزمون دانکن مشاهده می‌شود که تغییرات پرولین برگ دو رقم پرتو و گوهر ماش با رشد ۱۴ روزه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف سولفات مس به تنهایی و برهم کنش آن با سالیسیلیک اسید نسبت



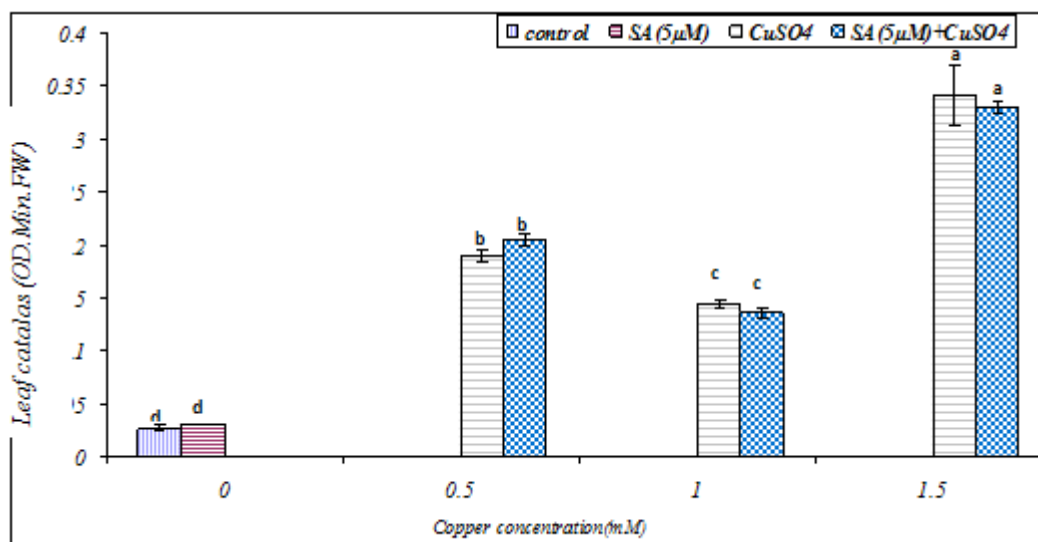
شکل ۵: نمودار اثرات غلظت های سولفات مس به تنهایی و برهم کنش با سالیسیلیک اسید (5µM) برمحتوای پرولین برگ رقم پرتو ۱۴ روزه (هر ستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۴ تکرار است. حروف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی داری از لحاظ دانکن است).



شکل ۶: نمودار اثرات غلظت های سولفات مس به تنهایی و برهم کنش با سالیسیلیک اسید (5µM) برمحتوای پرولین برگ رقم گوه‌ر ۱۴ روزه (هر ستون نمودار معرف میانگین ± انحراف معیار ۴ تکرار است. حروف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی داری از لحاظ دانکن است).

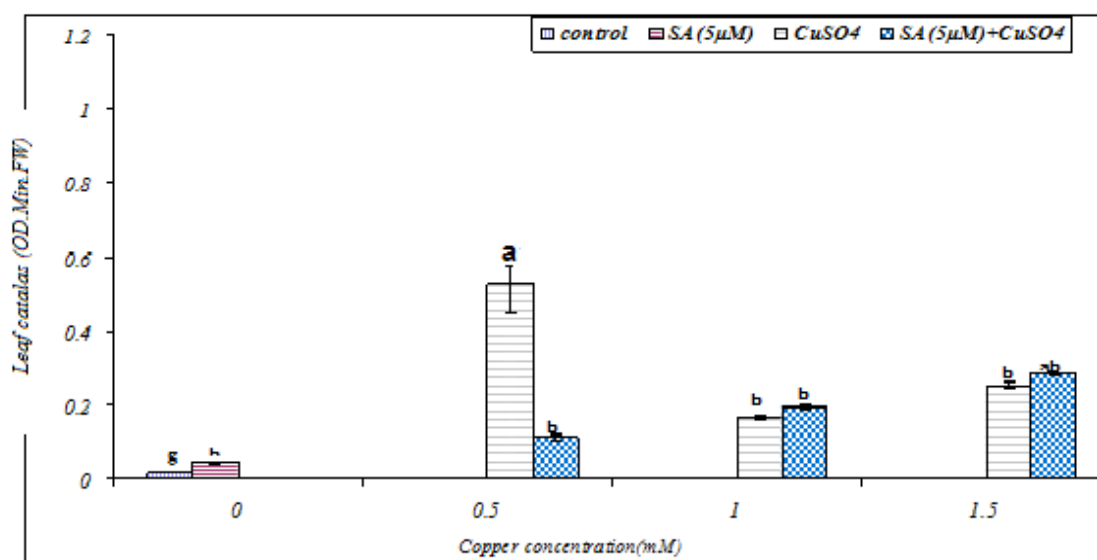
پرتو و گوه‌ر نشان داد (نمودار ۵ و ۶). رقم پرتو و گوه‌ر ماش ۱۴ روزه: طبق آزمون دانکن مشاهده می‌شود نتایج فعالیت آنزیم کاتالاز برگ دو که تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز برگ

در دو رقم پرتو و گوهر ماش با رشد ۱۴ روزه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف سولفات مس به تنهایی و برهم‌کنش آن با سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد روند افزایشی را نشان داد ($p < 0.01$). با افزایش غلظت (CuSO_4) بیش‌ترین میزان آنزیم کاتالاز در هر دو رقم پرتو و گوهر در تیمار $1/5$ میلی مولار (CuSO_4) با 463 و 1284 درصدافزایش و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو رقم پرتو



شکل ۷: نمودار اثرات مختلف سولفات مس به تنهایی و برهم‌کنش با سالیسیلیک اسید ($5 \mu\text{M}$) بر کاتالاز برگ رقم پرتو ۱۴ روزه

(هر ستون نمودار معرف میانگین \pm انحراف معیار ۴ تکرار است. حروف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی داری از لحاظ دانکن است).



شکل ۸: نمودار اثرات غلظت‌های سولفات مس به تنهایی و برهم‌کنش با سالیسیلیک اسید ($5 \mu\text{M}$) بر کاتالاز برگ رقم گوهر ۱۴ روزه

(هر ستون نمودار معرف میانگین \pm انحراف معیار ۴ تکرار است. حروف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی داری از لحاظ دانکن است).

برگها می‌تواند به دلیل کاهش بارگیری آوند آبکش و کاهش ظرفیت انتقال آسیمیلاتها و یا کاهش سرعت استفاده از آنها در اندام‌های مخزن باشد (Alaoui – Sosse et al., 2004). از عوامل افزایش قندهای محلول می‌توان افزایش آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی قندهای غیرمحلول مانند انورتاز و سوکروز سنتتاز و همچنین کاهش مصرف این قندها را مد نظر داشت (Verma and Dubey, 2001). افزایش قند محلول در گیاه لوبیا (Hendry et al., 1992) تحت تنش سولفات مس و افزایش قندهای محلول در گیاه ماش (Baskaran et al., 2009) تحت تنش فلزات سنگین گزارش شده است که با نتایج پژوهش ما مطابقت دارد. در پژوهش حاضر مشخص شد که استفاده از سالیسیلیک اسید تغییرات قندهای محلول و نامحلول ناشی از تیمار مس را تعدیل می‌نماید. سالیسیلیک اسید موجب کاهش قندهای محلول و افزایش قندهای نامحلول در هنگام تنش می‌شود (Jose and Francisco., 2000). کاربرد سالیسیلیک اسید ممکن است مصرف متابولیک قندهای محلول را فعال نموده تا به وسیله‌ی آن، ساختارهای جدید سلولی را به منظور تحریک و تنظیم رشد و نمو شکل دهد (Khodary, 2004). همچنین به نظر می‌رسد که تیمار سالیسیلیک اسید، سیستم آنزیمی هیدرولیز کننده پلی ساکاریدها را مهار کرده یا به عبارت دیگر، سرعت تبدیل

و گوهر ماش در تیمار شاهد مشاهده شد. و همچنین در بررسی اثر متقابل بین تنش مس و اسید سالیسیلیک تیمار ۱/۵ (+-CuSO₄) با ۵۸۳ و ۱۴۷۲ درصد افزایش نسبت به شاهد بیش‌ترین میزان فعالیت کاتالاز و تیمار (SA) با ۱۹۶ درصد کم‌ترین میزان فعالیت کاتالاز را در هر دو رقم پرتو و گوهر نشان داد (نمودار ۸ و ۷).

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش، افزایش غلظت مس، باعث افزایش میزان قند محلول و کاهش قند نامحلول در برگ دو رقم پرتو و گوهر گیاه ماش با رشد ۱۴ روزه شد. افزایش غلظت مس باعث کاهش مقدار نشاسته در گیاهان تحت تنش مس می‌شود زیرا نشاسته تجزیه شده و قندهای محلول را ایجاد می‌کند و همچنین افزایش کربوهیدرات‌های نوع محلول تحت تاثیر تنش مس در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (Alaoui – Sosse et al., 2004). تجمع قندهای محلول در شرایط تنش، به تنظیم اسمزی درون سلول کمک می‌کند و موجب حفظ و نگهداری مولکول‌های زینتی و غشاها می‌شود همچنین، گیاه با افزایش قندهای محلول در شرایط تنش، علاوه بر حفظ پتانسیل اسمزی قادر خواهد بود تا ذخیره کربوهیدراتی خود را برای متابولیسم پایه سلولی در حد بهینه نگه دارد (Dubey and Singh., 2003). افزایش قندها می‌تواند در اثر انباشتگی آنها باشد. انباشتگی در

قندهای نامحلول به قندهای محلول را کاهش می‌دهد (Shar-Odray, Khodray, 2004). در سال ۱۹۸۸ بیان کردند افشانه برگی سالیسیلیک اسید در گیاه چاودار میزان قند محلول را کاهش داده است. گزارش شده است که به دنبال تنش اکسیداتیو تجمع قند نامحلول با تیمار هورمون سالیسیلیک اسید در برنج افزایش می‌یابد (Karimi et al., 2005). که این نتایج گزارش شده با نتایج پژوهش ما مطابقت دارد. اسید سالیسیلیک باعث کنترل بیان ژن و سنتز پروتئین‌های تحمل به تنش‌ها می‌شود. مشخص شده است که بعد از پیام‌رسانی اسید سالیسیلیک، میزان مولکول‌های پروتئین فسفاتاز، MAP کینازها، فاکتورهای رونویسی bZIP و پروتئین‌های دارای واحدهای تکراری آنکیرین افزایش می‌یابد (Metwally et al., 2003). پرولین تحمل گیاهان به تنش را از طریق سازوکارهایی مانند تنظیم اسمزی، حفاظت آنزیم‌ها در برابر دناتورده شدن و تثبیت سنتز پروتئین، افزایش می‌دهد. Ver-bruggen and Hermans, (2008) پرولین به علت تخریب پروتئین سینتتاز و کاهش تبدیل پرولین به پروتئین بوده که در نتیجه باعث کاهش رشد می‌گردد در شرایط تنش پروتئین گیاه صرف تولید پرولین می‌شود. بنابراین تولید اندام گیاهی متوقف شده و باعث کاهش رشد اندام گیاهی خواهد شد Mit-

(Tler, 2006). پرولین به عنوان یکی از محافظت‌کننده‌های غشاها است. به نظر می‌رسد افزایش میزان پرولین در کاهش اثرات تنش نقش دارد. تجمع پرولین سبب کاهش اثرات تنش، کاهش اسیدی شدن سلول، در نتیجه تولید $NADP^+$ و حمایت از مسیر اکسیداتیو پنتوز فسفات می‌شود چون وابسته به $NADP^+$ بوده و توسط NADPH مهار می‌شود (Kavikisho-ra et al., 2005). همچنین طی تحقیقی روی کلزا افزایش میزان پرولین با افزایش غلظت فلز سنگین مس گزارش شد (Mey-ghati et al., 2007). انباشتگی پرولین در گیاه لوبیا (Snchez et al., 2002) تحت تنش فلزات سنگین با نتایج پژوهش ما مطابقت دارد. گزارش شده است که تیمار با هورمون‌هایی مانند سالیسیلیک اسید موجب تجمع پرولین تحت شرایط تنش شد (Kuznetsov et al., 1999). سالیسیلیک اسید باعث تجمع پرولین در گیاه عدس تحت تنش شد (Heidari et al., 2006). از علت‌های مهم آسیب بافتی در گیاهانی که در معرض فلزات سنگین قرار می‌گیرند، ایجاد تنش اکسیداتیو است. رادیکال‌های اکسیژن عمدتاً در کلروپلاست و میتوکندری تولید می‌شوند و با ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو بر چربی‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها سبب اختلال در متابولیسم طبیعی سلول، اختلال در فرآیندهای مهم

سالیسیلیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه گندم تحت تنش غیر زیستی مانند سرب شده است. گزارش شده است که سالیسیلیک اسید مانند سرب باعث افزایش توان آنتی اکسیدانی در گوجه فرنگی و لوبیا شده است Gapinska and Sklodowska., (2008) هم چنین بیان شده است که تیمار با سالیسیلیک اسید اثرات سمی کادمیوم بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را بر ذرت کاهش می دهد Popova et al., (2008). که این نتایج با نتایج پژوهش ما مطابقت دارد.

نتایج این پژوهش نشان داد که در گیاهان ماش تحت تنش مس میزان قند محلول، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافتند و میزان قند نامحلول کاهش یافت. تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش میزان قند نامحلول، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش قند محلول در گیاهان ماش تحت تنش مس شد. سالیسیلیک اسید صدمات ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش داده و گیاه ماش توانسته است پارامترهای فیزیولوژیکی خود را بهبود بخشد. سالیسیلیک اسید مقاومت گیاهانی مانند ماش را در برابر سمیت مس تا حدودی افزایش داد. با مقایسه نتایج سنجش ها در دو رقم مورد مطالعه گوهر و پرتو ماش می توان نتیجه گرفت رقم گوهر مقاوم تر از رقم پرتو بوده است.

تنفس و فتوسنتز و کاهش رشد می شوند Mishra et al., (2006). گزارش شده است که مس و سرب در ایجاد تنش اکسیدی در گیاهان مشارکت دارند Groppa et al., (2007). گزارش شده است که در برگ های گندم Gajewska and Sklodowska (2007) و گیاه علف چشمه *Nasturtium officinale* Fatih and Fatma, (2010) تحت تنش نیکل و گیاه بوزیدان *Witha-sonnifera* تحت تنش مس Serida et al, (2008) فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافته است. و هم چنین در گیاه ماش (*Vigna radiata* L. تحت تنش سولفات مس فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان افزایش یافت (Prakash verma et al., 2011). که این نتایج گزارش شده با نتایج پژوهش ما همسو بود. در پژوهش حاضر کاربرد سالیسیلیک اسید نیز باعث افزایش معنی دار ($p < 0.01$) فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو رقم پرتو و گوهر گردید. نقش سالیسیلیک اسید در تعدیل کردن سمیت فلزات سنگین در گیاهان به وسیله بسیاری از دانشمندان گزارش شده است Hayat et al., (2010). سالیسیلیک اسید با تأثیر بر آنزیم کاتالاز، تنظیم کننده های اسمزی مثل پرولین، گلیسین و بتائین آثار ناشی از فلزات سنگین و گرما را کاهش می دهد Kumar .Senaranta et al., (2002) و همکارانش در سال ۲۰۰۴ بیان کردند

منابع

- Alaousi – sosse, B., Genet,p., vinit – Dunand, F., Toussaint, M. L., Eproh, D. and Badot, P.M. (2004). Effect of copper on growth in cucumber plant (*Cucumis sativus*) and its relationship. *Plant Science*. 166, 1213 – 1218.
- Bartels, D. and Sunkar, R., (2005). Drought and Salt tolerance in plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*. 24, 23-58.
- Baskaran, L., Sundaramoorthy, P., Chidambaram, A. L. A. and Sankar Ganesh, K. (2009). Growth and Physiological Activity of Green gram (*Vigna radiate* L.) under effluent stress. *Botany Research International*. 2(2), 107-114.
- Bates, L. S. Waldren, R. P., Teare, I. D. (1973). Rapid Determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39, 205-207.
- Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes,Z., Nouairi, I., Barhoumi,Z., zarrouk, M., chai-bi,W. and Djebali,W. (2010). Effects of exogenous salicylic acid pre – treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitissimum* L. *Environmental safety*. 1-8.
- Chance, B. and Maehly, A.C. (1995). Assay of catalaseand peroxidase. *Methods in Enzymology*. 2: 764-777.
- Dubey, R.S., Singh, A.K. (2003). Salinity in duces accumulation of solumle sugars and alters the activity of sugers metabolicing enzgme in rice Plant. *plant Biology*. 42: 233 – 239.
- Fatih, D., Fatma, O. (2010). Nickel accumulation and itseffect on biomass. protein content and antioxidativeenzymes in roots and leaves of watercress(*Nasturtium officinale* R. Br.). *Journal of Environmental Sciences*. 22: 526–532.
- Gajewska, E., Sklodowska, M. (2007). Effect of Nickelon Rose content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. *Biometals*. 20(1), 27-36.
- Groppa, M. D., Tomaro, M. L., Benarides, M. P. (2007). Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in cadmium and copper treated wheat leaves. *Biometals*. 20: 185-195.

- Hendry, G.A.F., Baker, A.J.M. and Ewart, C.F. (1992). Copper tolerant and copper sensitive clons of *Holcus lantust* L. Acta Botanica neerlandica. 271 – 281.
- Hayat, Q., Hayat, S. H., Irfan, m., Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under. Environmental and Experimental Botany. 68, 14-25.
- Heidari, R., Zare, S. and Norastehnia, A. (2006). Antioxidant response of two saltstressedbarley varieties in the presence or absence of exogenous proline. General and Applied Plant Physiology. 32(3-4): 233-251.
- Karimi, G., Ghorbanli, M., Heidari, H., Khavarinejad, R. A. and Assareh, M. H. (2005). The effects of *NaCl* on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrate*. Biologia Plantarum. 49(2): 301-304.
- Kavikishor, P. B., Songam, S., Amrutha, R. N., Sri, Laxmi, P., Naidu, K. R., Rao, K. R. S. S., Rao, S., Reddy, K. J., Theriappan, P., Steenivasulu, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants, its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Current Science 88(3): 424-438.
- Khatun, S. M., Ali, B., Hahn, E. J., Paek, K. (2008). Copper toxicity in *Withania somnifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plant. Environment and experimental Botany, 64: 279-285.
- Kochert, G. (1987). Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method in *Helebus cambrig*. press Cambridge.
- Khodary, S. E. A. (2004). Effect of Salicylic acid on the growth photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. International Journal of Agriculture and Biology, 5-8.
- Jose, P. Francisco, M. (2000). Recent breath roughs in the study of salicylic acid Biosynthesis. Plant science. 7, 332-334.
- Meyghati, F., Ghorbanli, M., and Asadolahi, B. (2007). The role of inorganic ions and proline in tolerant two varieties of rape seed (*Brassica napus* L.) copper stress. Journal of Science Teacher Education. 7(1): 74-83. (In Persian).
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., and Dietz, K. J. (2003). Salicylic acid Alleviates the cadmium toxicity in Barley seedling. physiology and Bio-

- chemistry of plant. 132, 272-281.
- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends in Plant Science. 11: 15-19.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, P. D. (2006). Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Baccopa monnieri* L. J. Plant Physiology and Biochemistry. 44: 25-31.
- Prakash Verma, J., Singh, V. and Yadav, J. (2011). Effect of copper sulphate on seed Germination. plant Growth and Peroxidase activity of Mung bean (*Vigna radiata*). International Journal of Botany, 7(2): 200-204.
- Pagter, M., Bragato, C. and Brix, H. (2005). Tolerance and physiological responses of phragmites australis to water deficit. Aquatic Botany. 81: 285-299.
- Popova L., Maslenkova L., Yordanova R., Krantev A., Szalai G. and Janda T. (2008). Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. Plant Physiology. 34: 133-148.
- Sanchez, E., Lopez-lefebvre, L. R., Garcia, P. C., Rivero R. S., Ruiz, J. M., Romero, L. (2001). Proline metabolism in response to highest nitrogen dosages in green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Physiology. 158: 593-598.
- Serida, K., Mohammad, B. A., Eun, J. H. and Kee, Y. P. (2008). Copper toxicity in *Withania somnifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Environmental and Experimental Botany 64: 279-285.
- Senaranta, T., Touchell, D., Bumm, E. and Dixon, K. (2002). Acetylsalicylic (aspirin) and Salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. plant Growth Regulation. 30: 157-161.
- Sheng, K.S. (2007). Effect of copper on the photosynthesis and oxidative metabolism of *Amaranthus tricolor* seedling. Agricultural sciences in china. 10:1182 - 119.
- Simaei, M., Khavri - Nejad, R.A. Saadatmand, S., Bernard, f., Fahimi. H. (2011). Effect of salicylic acid and nitric oxide on antioxidant capacity and proline

accumulation in Glycine maxle. Treated with Nacl Salinity. African journal of Agricultare Research. 6 (16): 3775 – 3782.

Sytar, O., Kumar A., Latowski D., Kuczynska, P., Strzałka K., and Prasad, M.N.V. (2013). Heavymetal-induced oxidative damage. defensereactions, and detoxification mechanisms in plants. Acta Physiologiae Plantarum. 35(4): 985-999.

Verma, S. and Dubey, R. S. (2001). Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of hair metabolism in rice. Biologia Plantarum. 1: 117-123 .

Verbruggen, N., and Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. Amino Acids. 35(4): 753-759.

Yadav, S.K. (2010). Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. South African Journal of Botany. 76(2): 167-179.

