کمی‌سازی پاسخ رشد رویشی و برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) به غلظت‌های مختلف سرب در خاک

مهرانوش امامیان طبرستانی[۱]، همت‌اله پیردشتی[۲*]، محمدعلی تاجیک قنبری[۳] و فردین صادق‌زاده[٤]

[۱] گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۲] گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۳] گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [٤] گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۰٦، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۹/۲٦)

چکیده

به‌منظور کمی‌سازی پاسخ گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) به سطوح مختلف سرب، آزمایشی در سه تکرار با دوازده غلظت عنصر سرب از منبع نیترات سرب (صفر، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰، ۳۰۰۰، ۳۵۰۰، ٤۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) به‌صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت سرب صفات رویشی به‌صورت مدل دوتکه‌ای کاهش یافتند. همچنین محتوی کلروفیل *a*، *b* و *a+b* و شاخص سبزینگی برگ (عدد اسپد) به‌ترتیب حدود ۲۳، ٤۷، ۳۰ و ۲۲ درصد کاهش ولی نسبت کلروفیل *a* بر *b* و کاروتنوئید به‌ترتیب حدود ٤٦ و ۳۹ درصد در سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب نسبت به شاهد روند افزایشی داشتند. به‌علاوه، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز ابتدا به‌ترتیب تا سطح حدود ۱۰، ٤٤۷ و ۱۸ میلی‌گرم سرب افزایش و سپس با افزایش غلظت سرب کاهش یافتند. در مقایسه، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب حدود ۲/۳ برابر بیشتر از شاهد شد. غلظت مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن نیز در سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب حدود دو برابر و غلظت پرولین حدود ۱۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافتند. در مجموع، صفات رویشی و رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطوح پایین سرب، تا سطح ۱۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک، بیشترین حساسیت را نشان دادند. در میان رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز حساسیت کلروفیل *b* نسبت به کلروفیل *a* بیشتر بود. همچنین، فعالیت بیشتر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به سایر آنزیم‌های مورد بررسی و پرولین در مقادیر بالای سرب می‌تواند دلیل احتمالی کاهش آسیب وارده به کلزا باشد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدانت، پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سرب، کلزا

مقدمه

امروزه یکی از مشکلات زیست‌محیطی عمده در جوامع بشری آلودگی خاک به انواع فلزات سنگین می‌باشد که صنعتی شدن، کشاورزی مدرن و شهرنشینی ورود فلزات سنگین به خاک را افزایش داده و مسائل جدی زیست‌محیطی را ایجاد می‌کند. به‌طوری‌که موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان شده و با ورود به زنجیره غذایی، سلامتی انسان و دیگر موجودات زنده را به مخاطره می‌اندازد (Li *et al*., 2016 ;Nikolic, 2008;

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: h.pirdashti@sanru.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

Sharma, and Dubey, 2005). در میان فلزات سنگین، سرب یکی از عوامل اصلی آلودگی محیط زیست می‌باشد که به دلیل تأثیر آن بر سلامتی انسان اهمیت قابل‌توجهی دارد (ashraf *et al.*, 2012). سرب به دلیل انباشت زیاد در بخش‌های سطحی خاک به راحتی در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد و با جذب از طریق ریشه‌ها موجب تغییر در برخی فرآیندهای متابولیکی گیاه و اختلال در رشد و نمو آن‌ها می‌شود (پارسادوست و همکاران، ۱۳۸٦). در همین زمینه گزارش شد که تنش سرب موجب کاهش طول ریشه، ساقه و تولید زیست‌توده در گیاه ذرت گردید (Lin *et al.*, 2009). به‌علاوه، سرب سبب اختلال در سیستم فیزیولوژیکی گیاهان (Georgieva and Tasev, 1997)، مسمویت گیاه، زردی برگ‌های جوان، کاهش جذب برخی عناصر ضروری، کاهش فتوسنتز و فعالیت‌های داخل سلول می‌گردد (Larbi *et al.*, 2003). همچنین سرب بر فتوسنتز گیاهان از طریق کاهش بیوسنتز کلروفیل ناشی از کاهش غلظت عناصر ضروری منیزیم و آهن در برگ‌ها، ایجاد کمپلکس با پروتئین‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت کلروفیلاز جهت تجزیه کلروفیل بر فتوسنتز گیاهان اثر منفی می‌گذارد (Sharma and Dubey, 2005). در آزمایشی با افزایش سرب میزان کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل در کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) کاهش یافت (کریمی و همکاران، ۱۳۹۲). یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل‌ها تخریب آن‌ها به‌وسیله گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که در تنش عناصر سنگین در گیاهان تشکیل می‌شود (Sharma *et al.*, 2004). سرب نیز به‌ویژه در غلظت‌های بالا موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود و در مقابل سلول‌های گیاهی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد دارای سیستم حفاظتی آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و نیز سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌باشد (Cho and Park, 2000). به‌طوری‌که در آزمایشی مشاهده شده است که با افزایش غلظت سرب فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سویا (*Glycine max* (L). Merril) و برنج (*Oryza sativa* L.) افزایش یافت (Sharma and Dubey, 2005). با ایجاد سمیت فلزی در گیاه در نتیجه تغییرات در فرآیندهای فیزیولوژیکی در سطح سلولی و مولکولی مانند غیرفعال کردن آنزیم یا مسدود کردن گروه‌های مهم متابولیکی منجر به تولید بالاتری از گونه‌های اکسیژن می‌شود که می‌تواند به ترکیبات ماکرومولکولی مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسید نوکلئیک آسیب رسانده (Rascio and Navari-Izzo, 2011) و میزان نشت الکترولیت را در اندام‌های مختلف گیاهان افزایش دهد (Viveros *et al.*, 2010). بنابراین نیاز به خارج کردن این عناصر از محیط می‌باشد.

در این میان برخی گونه‌های گیاهی از طریق گیاه‌پالایی می‌توانند غلظت‌های بالایی از فلزات سنگین را بدون بروز علایم مسمومیت در بافت‌های خود ذخیره و موجب احیاء مجدد محیط‌زیست شوند (Baker *et al.*, 2000). تاکنون بیش از ٤۰۰ گونه‌ی گیاهی متعلق به ٤٥ خانواده مانند کاسنی (Asteraceae) ، شب‌بو (Brassicaceae) ، میخک (Caryophyllaceae) ، بقولات (Fabaceae) ، نعناع (Lamiaceae) که از پتانسیل ژنتیکی جذب و تحمل مقادیر بالای عناصر سنگین در اندام هوایی خود برخوردار هستند، شناسایی شده است (Winter Sydnor and Redente, 2002). در میان بیش‌اندوزهای شناخته شده گیاهان خانواده شب‌بو بیشترین میزان جذب و بالاترین تعداد بیش‌اندوزهای فلزات سنگین را دارا می‌باشند. در این میان، یکی از مهم‌ترین گیاهان این خانواده کلزا است که در سال‌های اخیر به‌دلیل کیفیت ویژه این گیاه شامل قابلیت رشد در مناطق مختلف، محتوا، تغذیه حیوانات، کیفیت روغن به‌دلیل داشتن کمترین میزان اسیدهای چرب اشباع و داشتن پروتئین فراوان از اهمیت ویژه‌ای در ایران و جهان برخوردار می‌باشد (Solgi *et al.*, 2015) و از آن‌جایی‌که به‌عنوان گیاه بیش‌اندوز فلزات سنگین معرفی شده است (تشکری‌فرد و همکاران، ۱۳۹٦) نیاز به بررسی تغییرات پارامترهای مختلف این نوع گیاهان از جمله شناسایی سازوکارهای دفاعی که نقش مهمی در بهبود فرآیند گیاه‌پالایی دارد، احساس می‌شود. بنابراین هدف از انجام این پژوهش کمی‌سازی پاسخ رشد رویشی و صفات فیزیولوژیک و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

بیوشیمیایی گیاه کلزا به غلظت‌های مختلف سرب در خاک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در تابستان و پاییز سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه تنش‌های محیطی و گلخانه تحقیقاتی و پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. ابتدا خاک مورد استفاده در آزمایش از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری مزرعه پژوهشی برداشت و پس از عبور از الک دو میلی‌متری، به نسبت دو به یک با ماسه مخلوط گردید (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی شامل دوازده غلظت عنصر سرب از منبع نیترات سرب به‌صورت خاک کاربرد ($Pb(NO_3)_2$) (صفر، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰، ۳۰۰۰، ۳۵۰۰، ۴۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بود. نیتروژن افزوده شده به خاک توسط نمک نیترات سرب، با افزودن مقادیر محاسبه شده اوره به تیمارهای مختلف تصحیح شد. پس از گذشت چهار هفته از مخلوط کردن خاک، بذور کلزا (رقم هایولا ۴۰۱) به مدت ده دقیقه با هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی و سپس کشت گردید. در نهایت پس از اتمام دوره رشد رویشی و قبل از شروع مرحله گلدهی گیاه کلزا صفات رویشی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شدند.

برای اندازه‌گیری صفات رویشی ابتدا تعداد برگ شمارش و سپس برای اندازه‌گیری صفاتی مانند ارتفاع بوته، قطر ساقه و سطح برگ به‌ترتیب از خط‌کش مدرج، کولیس دیجیتالی (مدل Guanglu) و نرم‌افزار Digimizer استفاده گردید. سپس نمونه‌های گیاهی برای خشک شدن به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. اندازه‌گیری وزن خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته با استفاده از ترازوی حساس ۰/۰۰۰۱ (HR-100i) انجام شد.

سنجش کلروفیل، کاروتنوئید و شاخص سبزینگی برگ: برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ، شش عدد پانچ از برگ‌های کلزا تهیه و در هشت میلی‌لیتر متانول غوطه‌ور شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس میزان نور جذبی محلول در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytic jena-SPEKOL 1300) قرائت و ثبت گردید. در نهایت میزان کلروفیل a (Chl_a)، b (Chl_b)، کلروفیل کل (Chl_{a+b})، نسبت کلروفیل a/b ($Chl_{a/b}$) و کاروتنوئید به‌ترتیب با استفاده از روابط یک تا پنج محاسبه و بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش گردید (Porra, 2002). شاخص سبزینگی برگ نیز با استفاده از دستگاه SPAD (SPAD-502 Minolta, Japan) و از سه نقطه برگ اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به عنوان عدد نهایی در محاسبه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

رابطه ۱) $$Chl_a\ (\mu g/ml) = 16.72\ A_{665.2} - 9.16\ A_{652.4}$$

رابطه ۲) $$Chl_b (\mu g/ml) = 34.09\ A_{652.4} - 15.28\ A_{665.2}$$

رابطه ۳) $$Chl_{a+b}\ (\mu g/ml) = Chl_a + Chl_b$$

رابطه ۴) $$Chla_{/b} (\mu g/ml) = Chl_a / Chl_b$$

رابطه ۵)
$$\text{Carotenoid}\ (\mu g/ml) = (1000\ A_{470} - 1.63\ Chl_a - 104.96\ Chl_b)/221$$

محتوای نسبی آب برگ: جهت سنجش محتوی نسبی آب برگ (RWC) از آخرین برگ توسعه یافته گیاه نمونه تهیه و بلافاصله وزن تر آن‌ها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد (FW). سپس نمونه‌های برگی به لوله آزمایش حاوی آب مقطر منتقل و به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری گردید تا برگ‌ها آماس پیدا کنند. برای محاسبه وزن آماس، برگ‌ها از لوله آزمایش خارج و رطوبت اضافی با دستمال کاغذی گرفته و نمونه‌ها وزن شد (TW). سپس نمونه‌ها در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و سپس توزین انجام گردید (DW). محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها با استفاده از رابطه شش محاسبه شد (Ritchie *et al.*, 1990).

رابطه ۶) $$RWC=(Fw-Dw)/(Tw-Dw)\times 100$$

نشت الکترولیت: به منظور اندازه‌گیری نشت الکترولیت، نمونه‌ی برگی در لوله‌های آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

بافت خاک	رس	سیلت	شن	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	اسیدیته	هدایت الکتریکی
	درصد (٪)			(ppm)			pH	($ds.m^{-1}$)
رسی لومی	٤۲/٦	۳٥/۲	۲۲/۲	۰/۲٥	۱٤/۱	۲۷۰	۷/٥٦	۱/٤٦

هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (CON 410) انـدازه‌گیری شد (EC_1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه بن ماری با دمای ۹۰ درجه قرار گرفته و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (EC_2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از رابطه ۷ محاسبه گردید (Lutts *et al*., 1995).

رابطه ۷) $EC_1 / EC_2 \times 100$ =درصد نشت الکترولیت

صفات بیوشیمیایی: میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از روش Sergive و همکاران (۱۹۹۷) و براساس واکنش H_2O_2 با یدیدپتاسیم (KI) تعیین گردید. در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در پنج میلی TCA ۰/۱ درصد در حمام آب یخ ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. سپس بـه ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر بـافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار و اسیدیته ۷/۵ و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشا نیز براساس روش Stewart و Bewley (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. در حدود ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در ده میلی‌لیتر از محلول ۰/۱٪ تری کلرواستیک اسید هموژن و به مدت ده دقیقه در ۱۵۰۰۰×g سانتریفیوژ گردید و سپس دو میلی‌لیتر از سوپرناتانت حاصل با چهار میلی‌لیتر از محلول ۲۰٪ تری کلرواستیک اسید محتوی ۰/۵٪ تیوباربیوتوریک اسید مخلوط و کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل گردید. در مرحله بعد نمونه‌ها دوباره به مدت ده دقیقه در ۱۰۰۰۰×g سانتریفیوژ شد. درنهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۳ و ٦۰۰ نانومتر ثبت شد. میزان پراکسید شدن لیپیدها از اختلاف بین طول موج‌های جذبی در ضریب خاموشی ۱۵۵ میکرومول بر سانتی‌متر بدست آمد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیـسموتاز بر اساس روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) انجام شد. محلول واکنش در حجم نهایی شامل ۸۳۵ میکرولیتر بافر فسفات‌سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۸)، ۳۳ میکرولیتر نیتروبلوتترازولیـوم ۰/۷۵ میلی‌مولار، ۳۳ میکرولیتر ریبوفلاوین و ۳۳ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب محلول واکنش نسبت به شاهد در طول موج ٥٦۰ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز بـه روش Abi (۱۹۸٤) و بر پایه تجزیه پراکسیدهیدروژن توسط آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، ده میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره، کاهش جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

مخلوط واکنش آنزیم گایاکول پراکسیداز شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار (pH=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر گایاگول ۵ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. واکنش با اضافه کردن محلول آنزیمی شروع شده و افزایش جذب در طول موج ٤۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد (Tang and Newton, 2005).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از طریق بررسی میزان اکسیداسیون آسکوربات به‌روش Yoshimura و همکاران (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر از کمپلکس واکنش حاوی ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷، ۲۵۰ میکرولیتر آسکوربات ۱ میلی‌مولار، ۲۵۰ میکرولیتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

EDTA ۰/٤ میلی‌مولار، ۱۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۱۰ میلی‌مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده بود. با اضافه شدن پراکسید هیدروژن فعالیت آنزیمی شروع گردید. تغییرات جذب کمپلکس واکنش در طول موج ۲۹۰ نانومتر شروع و پس از یک دقیقه یادداشت شد. سپس، با استفاده از ضریب خاموشی $۲/۸ \ cm^{-1}mmol^{-1}$ میزان فعالیت آنزیم محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان پروتئین محلول کل نیز به روش Bradford (۱۹۷٦) صورت گرفت. بدین منظور کمپلکس واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی نمونه با ۵۰۰ میکرولیتر معرف بردفورد و ۱۸۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه می‌باشد. بعد از پنج دقیقه میزان جذب مخلوط در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد و با قراردادن عدد بدست آمده در منحنی استاندارد میزان پروتئین نمونه مجهول بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد.

اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) به دست می‌آید. ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی را با هاون خرد کرده و درون یک تیوب ریخته شد، سپس ده میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد آماده شده را به آن اضافه نموده و نمونه را درون یخ قرار داده خواهد شد. تیوب را در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ نموده تا مواد اضافی از محلول جدا گردد. می‌توان به جای سانتریفیوژ از قیف شیشه‌ای و کاغذ صافی برای صاف کردن نمونه ها استفاده کرد. مقدار دو میلی‌لیتر از عصارهٔ صاف شده را درون تیوب جدید ریخته و دو میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن افزوده و سپس خوب مخلوط می‌شود. نمونه‌ها را در حمام آب گرم به مدت یک ساعت حرارت داده و سپس درون حمام یخ قرار داده می‌شود. مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه نموده و به مدت ۲۰ ثانیه با دستگاه ورتکس به هم زده می‌شود. پس از اندازه‌گیری جذب محلول‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر منحنی استاندارد رسم و معادله خط تعیین شد. با قرار دادن جذب نمونه‌ها در معادله خط، محتوای پرولین محاسبه شد. برای رسم منحنی استاندارد از پرولین استفاده گردید.

در نهایت آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام گردید. همچنین برای کمی‌سازی اثر تنش سرب از تجزیه رگرسیونی و برازش معادله خطی (رابطه ۸) و دو تکه‌ای (رابطه ۹) (Bakhshandeh *et al.*, 2012) و برای رسم منحنی‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

$$y = b_1 x + a \qquad \text{رابطه ۸)}$$

$$y = b_1 x + a \quad \text{if} \quad x \le x_0 \qquad \text{رابطه ۹)}$$

$$y = (b_1 x_0 + a) + b_2 (x - x_0) \quad \text{if} \quad x > x_0$$

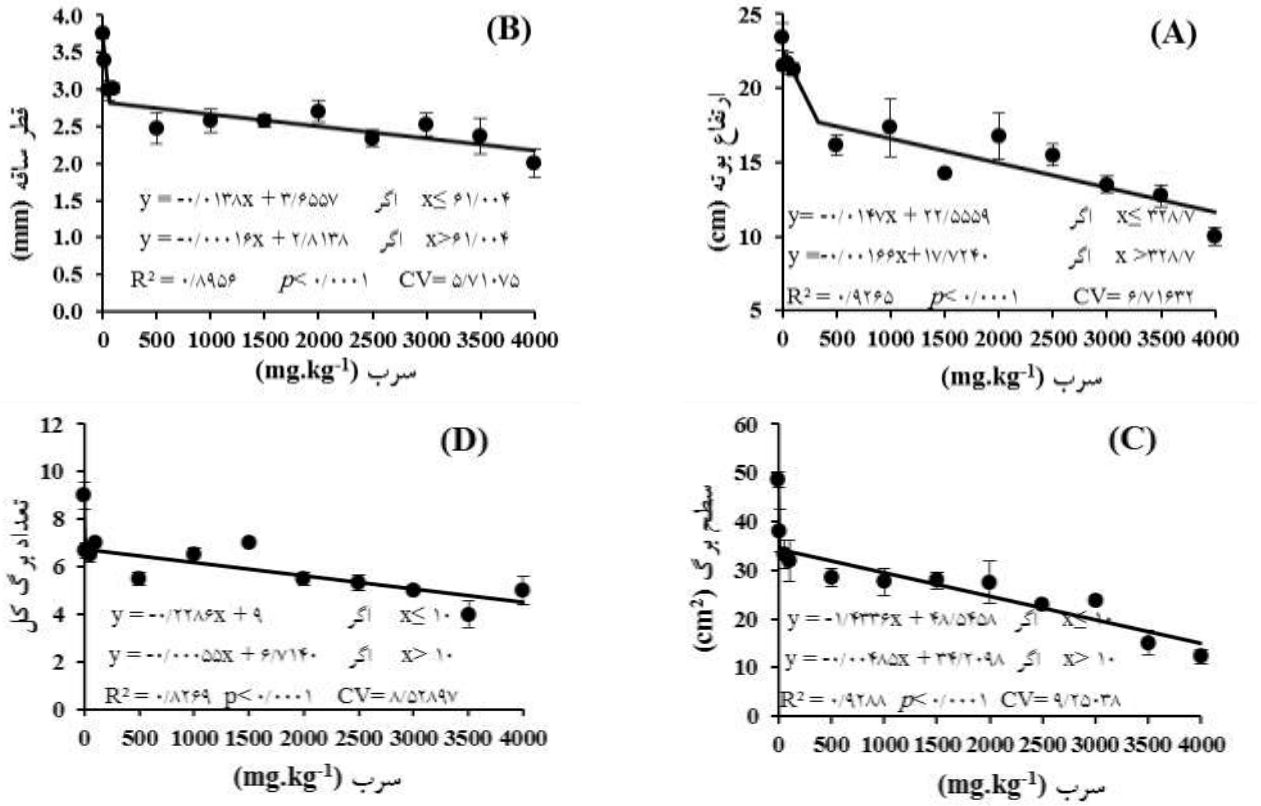
در این روابط a: عرض از مبدأ در سطح بدون تنش (غلظت صفر سرب). b_1 و b_2: شیب تغییرات مؤلفه به‌ترتیب در مرحله ۱ و ۲. x_0: نقطه پرخش بین دو مرحله.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه رگرسیونی اثر سطوح مختلف سرب بر صفات مورفولوژیک کلزا (شکل ۱– D–A) نشان داد که روند تغییرات ارتفاع بوته، قطر ساقه، سطح برگ و تعداد برگ کل به‌صورت مدل دو تکه‌ای کاهش یافت. با افزایش غلظت سرب از صفر به‌ترتیب تا حدود ۳۲۹، ٦۱، ۱۰ و ۱۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک با شیب ۰/۰۱٤۷، ۰/۰۱۳۸، ۱/٤۳۳٦ و ۰/۲۲۸٦ کاهش و سپس با شیب ۰/۰۰۱٦٦، ۰/۰۰۰۱٦، ۰/۰۰٤۸۵ و ۰/۰۰۰۵۵ به روند کاهشی خود تا سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک ادامه داد. در بین این صفات، حساسیت سطح برگ به افزایش سرب بیشتر از بقیه صفات بود. در همین زمینه در آزمایشی روی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) نیز کاهش این صفات با افزایش غلظت کادمیم از صفر تا ۲۰۰ میلی‌گرم در گیلوگرم خاک گزارش شد (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین مشاهده شد با افزایش غلظت عنصر سنگین سرب و مس به‌ترتیب ارتفاع بوته در بادرنجبویه (یوسفی‌راد و همکاران، ۱۳۹۵) و کلزا (موحدپور و همکاران، ۱۳۹۳) روند کاهشی داشت. سطح برگ در سورگوم (امانی‌فر و همکاران، ۱۳۹۱) نیز با افزایش غلظت سرب کاهش یافت. در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

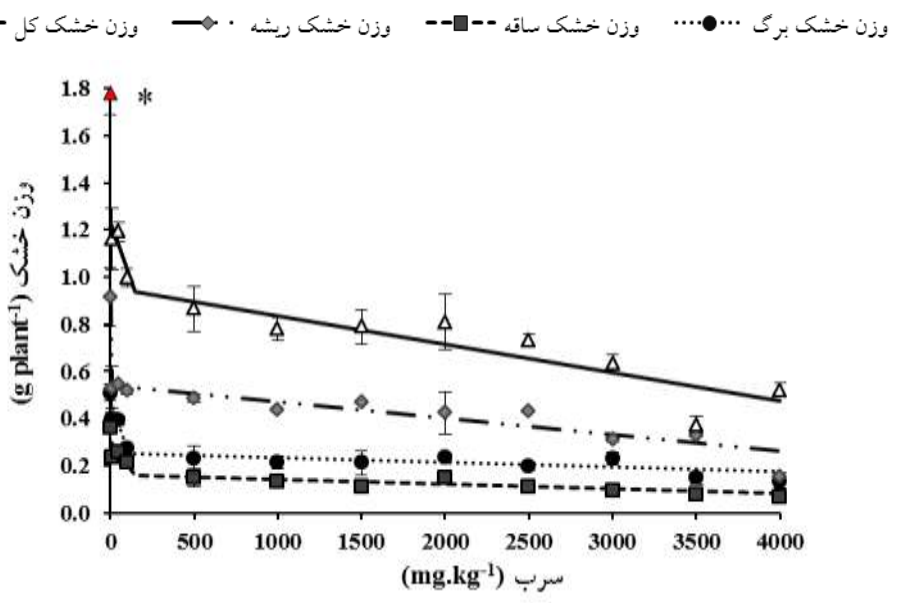


شکل ۱- روند تغییرات ارتفاع بوته (A)، قطر ساقه (B)، سطح برگ (C) و تعداد برگ (D) گیاه کلزا در پاسخ به افزایش غلظت سرب خاک با استفاده از مدل دو تکه‌ای (رابطه ۹). میله‌ها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است.

همین رابطه برخی محققان بیان کردند کاهش سطح برگ پاسخ عمومی گیاهان به عناصر سنگین است (Sharma and Dubey, 2005) و از آن‌جایی‌که اهمیت برگ به‌دلیل دریافت نور و فتوسنتز برای گیاه می‌باشد، بنابراین کاهش سطح برگ در اثر سمیت سرب موجب بازدارندگی رشد گیاه می‌گردد (Shu *et al*., 2012).

روند کاهش وزن خشک اندام‌های رویشی کلزا نسبت به افزایش غلظت سرب نیز به‌صورت رابطه‌ی دوتکه‌ای برازش شد. شیب کاهش این صفات در غلظت‌های مختلف سرب متغیر بود (شکل۲ و جدول ۲). بر اساس یافته‌ها، با افزایش غلظت سرب، وزن خشک برگ، ساقه، ریشه و بوته ابتدا به ترتیب تا سطح حدود ۱۱۲، ۱٤٤، ۱۰ و ۱٤۹ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک به‌میزان حدود ٤۷، ٤۷، ٤۱، ۲۳ درصد نسبت به شاهد با شیب بیشتری کاهش یافت. اما پس از آن کاهش با شیب کمتری تا سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک مشاهده گردید. این نتایج با پژوهش‌های یوسفی‌راد و همکاران (۱۳۹۵) در بادرنجبویه، نورانی‌آزاد و همکاران (۱۳۹۰) در گلرنگ، کریمی شرودانی و همکاران (۱۳۹۳) در جو و امانی‌فر و همکاران (۱۳۹۱) در سورگوم مطابقت دارد. همچنین کاهش در وزن اندام‌های رویشی با افزایش غلظت عناصر دیگری مانند کادمیم در بادرنجبویه (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۵) و سویا (Xue *et al*., 2013) و مس و نیکل در گیاه بامیه (*Hibiscus esculentus* L.) (کارگر خرّمی و جامعی، ۱۳۹٤) مشاهده شد. در همین رابطه پژوهشگران بیان کردند روش‌های مختلفی مانع رشد گیاهان توسط فلزات سنگین می‌شود. به این‌صورت‌که فلزات با کاهش تورژسانس سلولی موجب کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلولی می‌شود و از طرف دیگر با تجمع در دیواره سلولی و ورود به سیتولاسم در متابولیسم طبیعی سلول اختلال ایجاد کرده و باعث کاهش رشد می‌گردند (Molassiotis *et al*., 2005). به‌علاوه کاهش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]



شکل ۲- روند تغییرات وزن خشک برگ، ساقه، ریشه و کل گیاه کلزا در پاسخ به افزایش غلظت سرب خاک با استفاده از مدل دو تکه‌ای (رابطه‌ی ۹). میله‌ها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است. *در برازش منحنی استفاده نشده است.

جدول ۲- برآورد مقادیر پارامترهای مربوط به معادلات برازش یافته (دوتکه‌ای) بر صفات رویشی گیاه کلزا در غلظت‌های مختلف سرب خاک

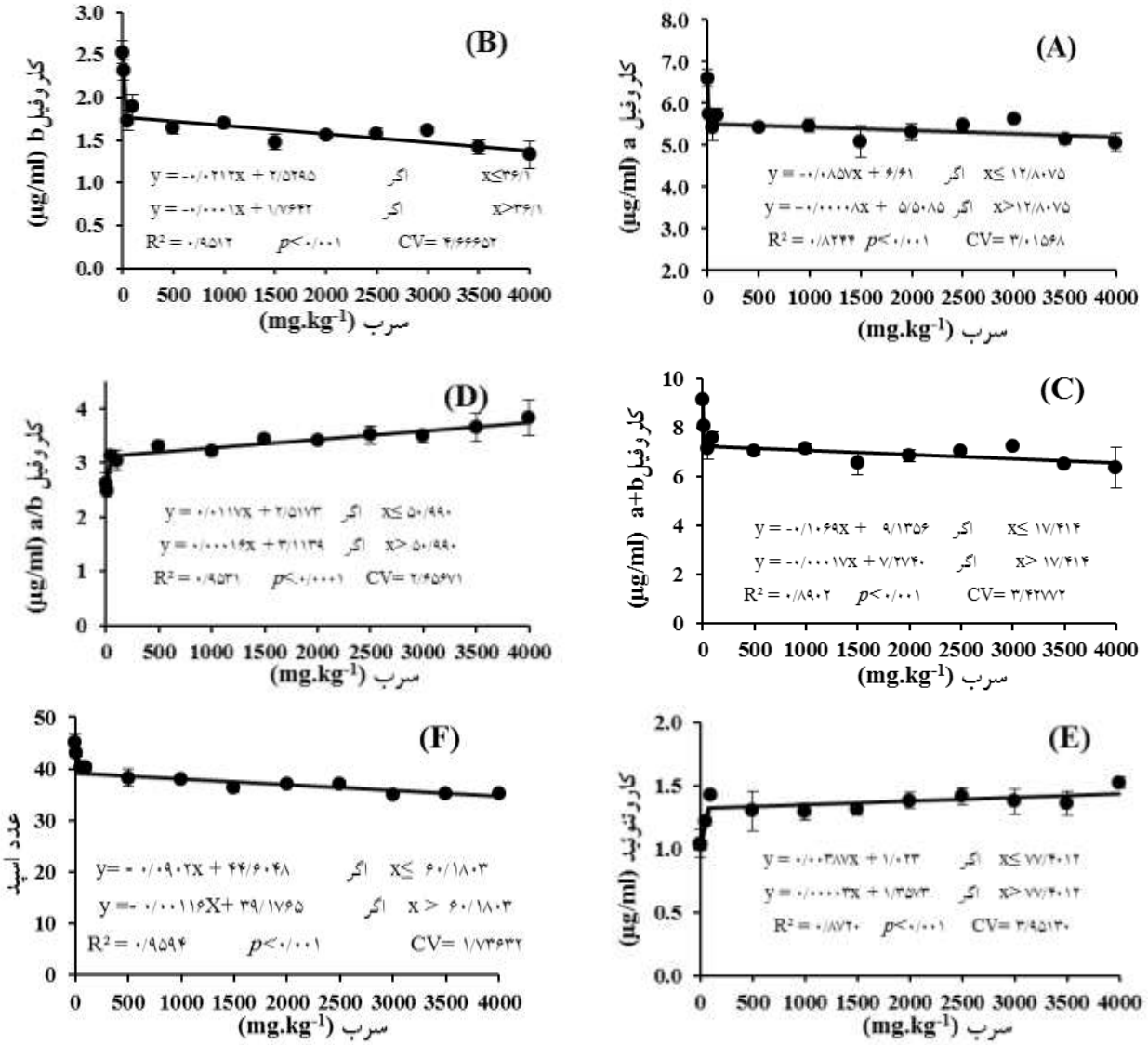
صفات	a ± SE	b_1 ± SE	b_2 ± SE	x_0 ± SE	R^2	RMSE	CV	Sig
وزن خشک برگ	۰/۴۷۲ ± ۰/۰۲۵	−۰/۰۰۱۹۸ ± ۰/۰۰۰۴۴۱	−۰/۰۰۰۰۲ ± ۰/۰۰۰۰۱۱	۱۱۱/۹ ± ۲۲/۷	۰/۹۳۱۷	۰/۰۲۹۹۶	۱۱/۴۰	<۰/۰۰۰۱
وزن خشک ساقه	۰/۳۰۲ ± ۰/۰۲۴	−۰/۰۰۱ ± ۰/۰۰۰۴۲۴	−۰/۰۰۰۰۲ ± ۰/۰۰۰۰۱	۱۴۳/۷ ± ۵۴/۴	۰/۸۹۲۸	۰/۰۲۸۲۲	۱۷/۵۷	<۰/۰۰۰۱
وزن خشک ریشه	۰/۹۱۳ ± ۰/۰۴۷	−۰/۰۳۷۲ ± ۰/۰۰۵۱۹	−۰/۰۰۰۰۷ ± ۰/۰۰۰۰۱۰	۱۰ ± ۰/۰۰	۰/۹۴۴۷	۰/۰۴۳۳۱	۹/۳۹	<۰/۰۰۰۱
وزن خشک کل	۱/۲۲ ± ۰/۰۹۰	−۰/۰۰۱۸۷ ± ۰/۰۰۱۳۹	−۰/۰۰۰۱۲ ± ۰/۰۰۰۰۲۷	۱۴۹/۴ ± ۹۰	۰/۹۱۱۳	۰/۰۷۴۸۴	۹/۳۰	<۰/۰۰۰۱

a: عرض از مبدأ در سطح بدون تنش (غلظت صفر سرب). b_1 و b_2: شیب تغییرات مؤلفه به‌ترتیب در مرحله ۱ و ۲. x_0: نقطه پرخش بین دو مرحله. R^2: ضریب تبیین. RMSE: جذر میانگین مربعات خطا. CV: ضریب تغییرات. Sig: معنی‌داری مدل. SE: خطای استاندارد.

زیست‌توده تحت تأثیر عناصر سنگین نشان‌دهنده کاهش و اختلال در سنتز پروتئین‌ها و همچنین کاهش فعالیت دستگاه فتوسنتزی می‌باشد (Manivasagaperumal *et al*., 2011).

همچنین بر اساس یافته‌های آزمایش حاضر، با افزایش سطوح سرب روند تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه کلزا به‌صورت معادله دوتکه‌ای بود (شکل ۳). با افزایش سطوح سرب از صفر به ۴۰۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک به‌ترتیب محتوی کلروفیل *a*، *b* و *a+b* و سبزینگی برگ ابتدا با شیب ۰/۰۸۶، ۰/۰۲۱، ۰/۱۰۷ و ۰/۰۹۰۲ و سپس با شیب ۰/۰۰۰۰۸، ۰/۰۰۰۱۷/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۱۱۶ روند کاهشی را نشان دادند (شکل۳- A–C و F). در همین‌زمینه کاهش کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل در گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) (فاطمی و همکاران، ۱۳۹۶) و نوعی خردل (*Brassica juncea* L.) (Sinha and Sharivastava, 2012) با افزایش سرب گزارش شد. این کاهش در کلروفیل با افزایش فلزات دیگری مانند نیکل در گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) (خطیب و همکاران، ۱۳۸۷) و کادمیم در کلزا (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۵) نیز مشاهده گردید. البته این افزایش در عنصر سنگین کادمیم کاهش سبزینگی برگ را در گیاه بادرنجبویه به‌صورت خطی در پی داشت (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۵). کاهش فتوسنتز در نتیجه اختلال در ساختار کلروپلاست، ممانعت از ساخت کلروفیل،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]



شکل ۳- روند تغییرات محتوای کلروفیل *a* (A)، *b* (B)، کلروفیل *a+b* (C)، نسبت کلروفیل *a* بر *b* (D)، کاروتنوئید (E) و سبزینگی برگ (F) گیاه کلزا در پاسخ به افزایش غلظت سرب خاک با استفاده از مدل دو تکه‌ای (رابطه‌ی ۹). میله‌ها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است.

پلاستوکوئینون و کاروتنوئیدها، جلوگیری از انتقال الکترون، جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین و کمبود دی‌اکسید کربن به‌دلیل بسته شدن روزنه‌ها ایجاد می‌شود (Akinci *et al*., 2010). یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل‌ها تخریب آن‌ها به‌وسیله گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که در تنش عناصر سنگین در گیاهان تشکیل می‌شود (Sharma *et al*., 2004). عنصر سنگین سرب با افزایش فعالیت کلروفیلاز نیز موجب تخریب کلروفیل‌ها می‌گردد (Piotrowska *et al*., 2010).

نسبت کلروفیل *a* بر *b* (*a/b*) با افزایش سطوح سرب روند افزایشی را نشان داد. این نسبت با افزایش سطح سرب از صفر تا حدود ۵۱ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک با شیب حدود ۰/۰۱۲ و سپس با کاهش شیب به ۰/۰۰۰۱۶ بیشتر شد (شکل۳- D). این افزایش در نسبت کلروفیل *a* بر *b* نشان‌دهنده حساسیت بیشتر کلروفیل *b* و کاهش بیشتر آن نسبت به کلروفیل *a* به افزایش غلظت سرب می‌باشد. در همین‌زمینه مشاهده شده است افزایش غلظت آنتیموان در یک نوع مینا (*Tanacetum polycephalum*) کاهش بیشتر کلروفیل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

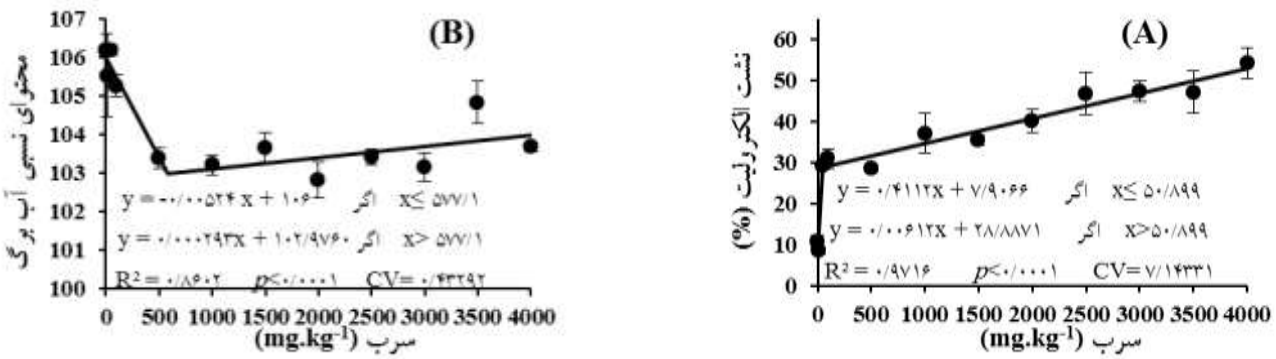
b نسبت به کلروفیل *a* در پی داشت (جمالی حاجیانی و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین این افزایش در میزان کاروتنوئید نیز مشاهده شد به‌طوری که ابتدا تا سطح ۷۷ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک با شیب حدود ۰/۰۰۳۹ و سپس با شیب ۰/۰۰۰۳ افزایش یافت (شکل ۳- E). در همین رابطه گزارش شده است با افزایش غلظت عنصر سنگین نیکل در گیاه گشنیز میزان کاروتنوئید افزایش یافت (تقربیان و همکاران، ۱۳۹٤). چون کاروتنوئیدها علاوه بر این‌که رنگیزه کمکی هستند، نقش‌های مهم دیگری از جمله توان آنتی‌اکسیدانی، محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از اکسیداسیون نوری کلروفیل‌ها را بر عهده دارند (Pandey and Sharma, 2002).

همچنین بر اساس یافته‌ها، با افزایش سطوح سرب نشت الکترولیت به‌صورت دوتکه‌ای افزایش یافت. به‌طوری‌که تا سطح حدود ۵۱ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک با شیب ۰/٤۱۱۲ و سپس با شیب ۰/۰۰٦۱۲ افزایش یافت. این صفت در سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب حدود پنج برابر نسبت به شاهد بیشتر شد (شکل٤- A). در آزمایشی مشابه نیز افزودن سرب، کادمیم، نیکل و مس موجب افزایش نشت الکترولیت در گیاه لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) شد (بلوچی و همکاران، ۱۳۹٦). چنین افزایشی در نشت الکترولیت در تیمار سرب و کادمیم در نخود (Garg and Aggarwal, 2012) و مس در دو نوع آزولا (Sanchez-Viveros *et al*., 2010) نیز پیش‌تر گزارش شد. علت افزایش نشت‌پذیری غشاهای زیستی و آسیب به غشاهای زیستی در تنش‌های مختلف محیطی، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (Wahid, 2007). محتوای نسبی آب برگ با افزایش سطوح سرب روند کاهشی را نشان داد. به‌طوری‌که در سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب به میزان حدود ۲/۳ برابر نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل٤- B). در دو گیاه گل گندم (*Centaurea cyanus*) (خداوردی‌لو و همکاران، ۱۳۹۲) و گشنیز (فاطمی و همکاران، ۱۳۹٦) نیز سرب موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ گردید. سرب در گیاه با کاهش اندازه و تعداد سلول‌های نگهبان روزنه موجب کاهش انتقال آب به برگ‌ها و کاهش سطح برگ شده و با آسیب به دیواره سلولی و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ و بروز تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلول، محتوای نسبی آب برگ را کاهش می‌دهد (Cenkci *et al*., 2010).

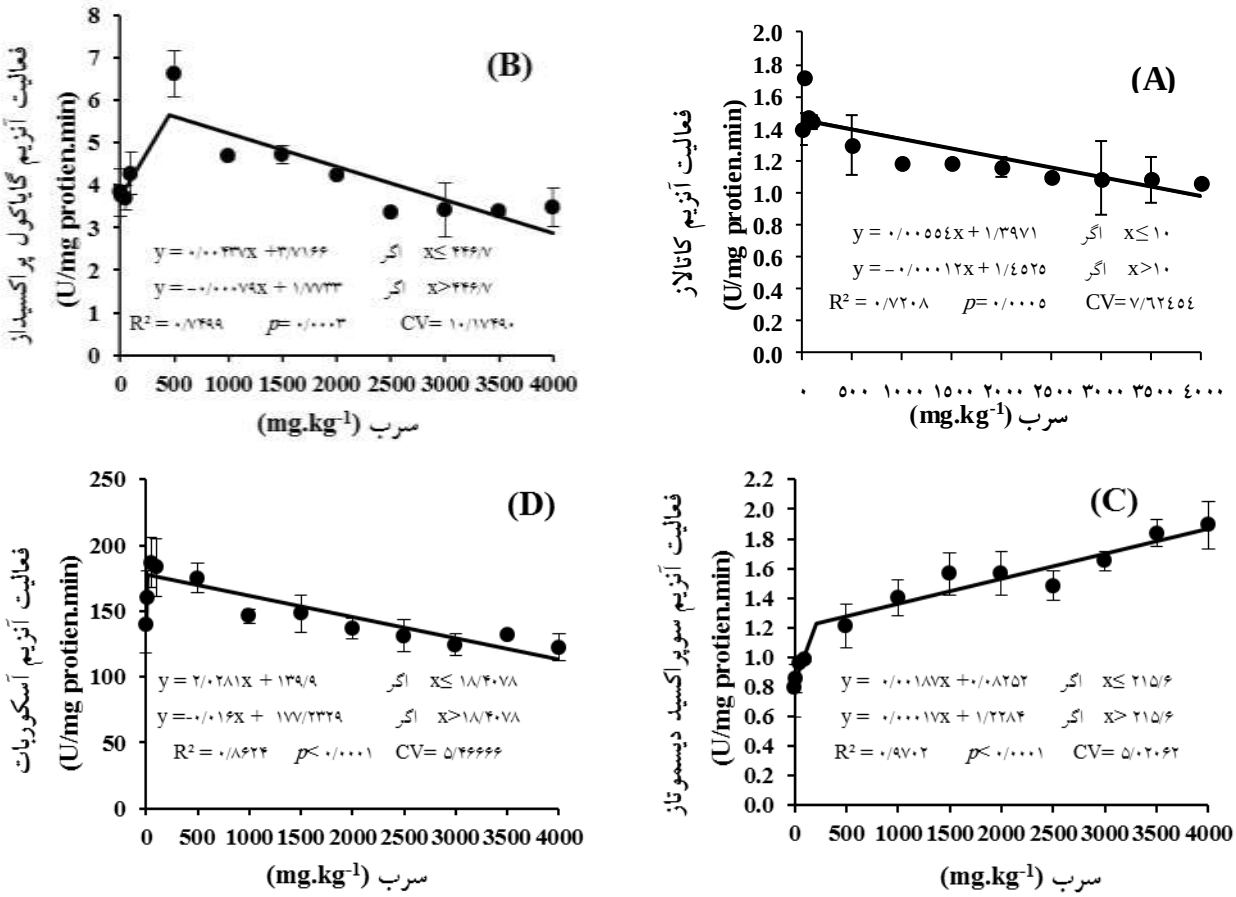
بر اساس نتایج پژوهش حاضر روند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه کلزا در پاسخ به ازدیاد غلظت سرب به‌صورت مدل دوتکه‌ای تغییر نمود (شکل ۵). با افزایش غلظت‌های سرب از صفر به ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب ابتدا تا حدود سطوح ۱۰، ٤٤۷ و ۱۸ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک با شیب ۰/۰۰۵، ۰/۰۰٤ و ۲/۰۳ افزایش و سپس با شیب حدود ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۸ و ۰/۰۰۲ روند کاهشی را نشان دادند (شکل ۵- A، B و D). بیشترین کاهش فعالیت در سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب مربوط به آنزیم کاتالاز به‌میزان ۲٤ درصد بود. در همین زمینه مشاهده شد که تنش سرب موجب کاهش آنزیم کاتالاز و افزایش آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه گلرنگ شد (نورانی‌آزاد و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین گزارش شد که دو شکل آیزوزایمی آنزیم کاتالاز در برگ‌های گیاهک‌های برنج تحت تیمار سرب بسیار کاهش یافت که موجب کاهش فعالیت این آنزیم شد (Verma and Dubey, 2003). کاهش در این آنزیم می‌تواند به‌دلیل کاهش سنتز این آنزیم یا تغییر در اجتماع زیر واحدهای این آنزیم در اثر سمیت سرب باشد (نورانی‌آزاد و همکاران، ۱۳۹۰). اما عنصر سنگین آنتیموان در مینا (جمالی حاجیانی و همکاران، ۱۳۹۵) و مس و نیکل در بامیه (کارگر خرّمی و جامعی، ۱۳۹٤) افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و همچنین کادمیم در ژنوتیپ‌های نخود افزایش فعالیت کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را در پی داشت (Foroozesh *et al*., 2012). در مقایسه، روند تغییر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌صورت دوتکه‌ای بود (شکل ۵- C). این افزایش در سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک حدود ۲/۳ برابر نسبت به شاهد بود که می‌تواند دلیل تحمل بالای گیاه کلزا به سطوح بالای سرب باشد. درهمین رابطه مشاهده شد تنش شوری و عنصر سنگین سرب فعالیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]



شکل ٤- روند تغیرات نشت الکترولیت (A) و محتوی نسبی آب برگ (B) گیاه کلزا در پاسخ به افزایش غلظت سرب خاک با استفاده از مدل دوتکه‌ای (رابطه‌ی ۹). میله‌ها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است.

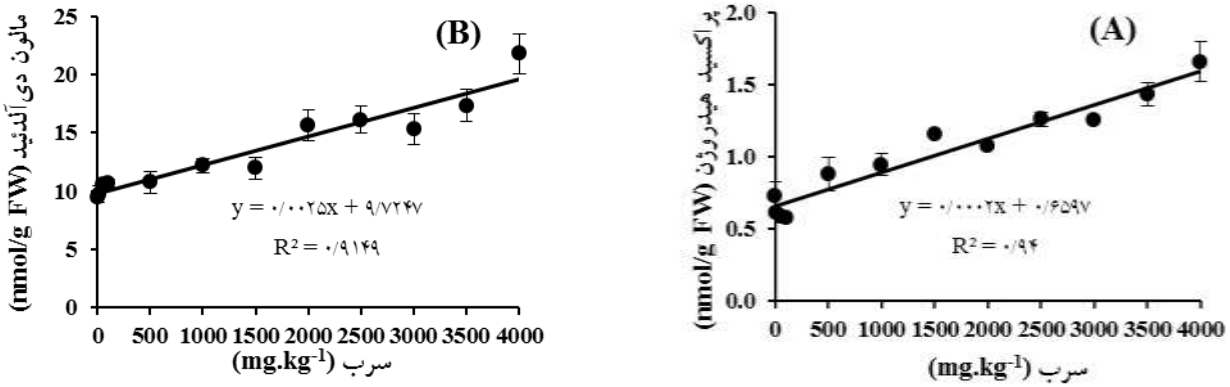


شکل ۵- روند تغییرات فعالیت کاتالاز (A)، پراکسیداز (B)، سوپراکسید دیسموتاز (C) و آسکوربات پراکسیداز (D) در گیاه کلزا در پاسخ به افزایش غلظت سرب خاک با استفاده از مدل دو تکه‌ای (رابطه‌ی ۹). میله‌ها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است.

سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات را بیشتر از کاتالاز افزایش داد و این افزایش در آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بیشتر بود (Siddiqui, 2013). در همین رابطه گزارش شده است عنصر سرب موجب افزایش فعالیت این آنزیم در ریشه گیاه لوبیا شد که دلیل آن تولید رادیکال‌های اکسیژن می‌باشد (Garnczarska and Ratajczak, 2000).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]



شکل ٦- روند تغیرات میزان مالون دی‌آلدئید (A) و پراکسید هیدروژن (B) در گیاه کلزا در پاسخ به افزایش غلظت سرب خاک با استفاده از مدل خطی (رابطه‌ی ٨). میله‌ها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است.

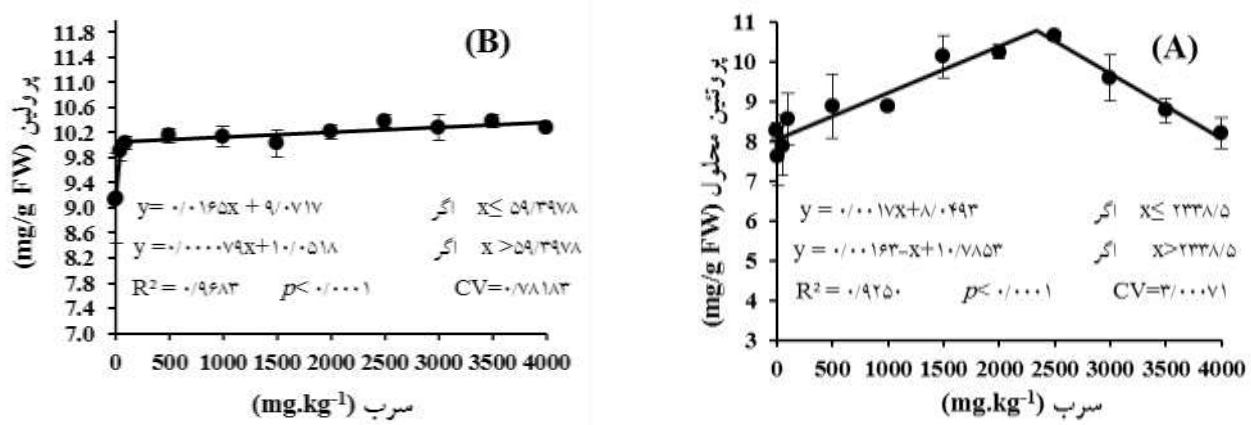
روند افزایش مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن نیز به‌صورت خطی بود. به‌طوری‌که در سطح ٤٠٠٠ میلی‌گرم سرب به‌میزان حدود دو برابر نسبت به شاهد بیشتر شد (شکل ٦- A و B). در همین زمینه در بررسی اثر سرب، مس و نیکل بر ظرفیت مالون دی‌آلدئید گونه‌ای از گیاه بید (*Salix acmophylla* Bioss) مشاهده شد که میزان پراکسیداسیون لیپید در گیاهان تحت تنش سرب بیشتر بود (Ali *et al*., 2003). همچنین با افزایش عناصر سنگینی مانند جیوه (Malar *et al*., 2015)، روی (Hosseini and Poorakbar, 2013)، کادمیم (کرامت و همکاران، ١٣٩٣)، مس و نیکل (کارگر خرّمی و جامعی، ١٣٩٤) میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید در گیاهان مختلف افزایش یافت. در همین رابطه بیان شده است که فلزات سنگین به‌وسیله گونه‌های فعال اکسیژن موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Jain *et al*., 2010). از آن‌جایی‌که ماکرومولکول‌های لیپیدی، به‌ویژه لیپیدهای غیر اشباع نسبت به اکسیداسیون توسط انواع اکسیژن فعال حساس هستند، بنابراین افزایش مالون دی‌آلدئید به‌عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدی، نشان‌دهنده تنش شدید اکسیداتیو در گیاهان در نظر گرفته می‌شود (Behnamnia *et al*., 2009).

به‌علاوه با افزایش سطوح سرب تغییرات پروتئین محلول به‌صورت دوتکه‌ای بود. پروتئین محلول تا سطح حدود ٢٣٣٨ میلی‌گرم سرب با شیب ٠/٠٠١٧ افزایش و سپس با شیب ٠/٠٠١٦ کاهش یافت. چنین روندی نشان‌دهنده مقاومت گیاه تا سطح ٢٣٣٨ میلی‌گرم سرب بود و پس از آن مقاومت خود را از دست داد (شکل ٧- A). بیشبود آهن در گیاه برنج نیز کاهش پروتئین محلول در بخش هوایی را به‌دنبال داشت (مهربان و عبدل‌زاده، ١٣٩١). میزان پرولین تا سطح حدود ٥٩ میلی‌گرم سرب با شیب ٠/٠١٦٥ و سپس با شیب ٠/٠٠٠٠٧ به‌صورت دوتکه‌ای افزایش یافت. این افزایش در سطح ٤٠٠٠ میلی‌گرم سرب نسبت به شاهد حدود ١٢ درصد بود (شکل٧- B). همچنین در گیاه گشنیز افزایش میزان پرولین با افزایش غلظت سرب تا سطح ١٥٠٠ میلی‌گرم سرب مشاهده شد (فاطمی و همکاران، ١٣٩٦). نتایج مشابهی در زرشک (*Berberis integerrima*) (Hakimi *et al*., 2015)، پریوش (*Catharantus roseus*) (امیرجانی و همکاران، ١٣٩٤)، لوبیا چیتی (بلوچی و همکاران، ١٣٩٦) و نخود (Faiazan *et al*., 2011) گزارش شد. پرولین به‌عنوان اسمولیت انباشته شده در شرایط تنش فعالیت می‌کند (Shah *et al*., 2001) و تجمع آن در شرایط تنش ممکن است به‌دلیل اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز به‌عنوان اولین نقش محافظت‌کنندگی آنزیم‌های سیتوزولی (حفاظت از آنزیم کربوکسیلاز) ساختار سلولی باشد (فاطمی و همکاران، ١٣٩٦).

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج بیانگر حساسیت بیشتر صفات رویشی به سمیت سرب بود. به‌طوری‌که بیشترین کاهش در بین این

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]



شکل ۷- روند تغیرات میزان پروتئین محلول (A) و پرولین (B) در گیاه کلزا در پاسخ به افزایش غلظت سرب خاک با استفاده از مدل دوتکه‌ای (رابطه‌ی ۹). میله‌ها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است.

صفات در سطح برگ (۷۵ درصد) و وزن خشک ریشه (۸۳ درصد) مشاهده شد. همچنین کلروفیل *b* (٤٦ درصد) نسبت به کلروفیل *a* (۲۱ درصد) با افزایش غلظت سرب از صفر به ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک حساسیت بیشتری نشان داد. همچنین بیشترین حساسیت در سطوح پایین سرب مشاهده شد به‌طوری‌که در اغلب صفات به‌طور میانگین تا حدود سطح ۱۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک شیب تغییرات افزایش و سپس با افزایش غلظت سرب تا سطح ٤۰۰۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک کاهش شیب خط نشان‌دهنده کاهش حساسیت بود. این تغییرات منجر به تخریب بیشتر کلروفیل‌ها گردید که احتمالاً این کاهش در صفات رویشی و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌تواند به‌دلیل افزایش میزان نشت الکترولیت، مالون‌دی آلدئید و پراکسید هیدروژن با افزایش غلظت سرب باشد. در نهایت فعالیت بیشتر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به سایر آنزیم‌های مورد بررسی و پرولین نسبت به افزایش غلظت سرب می‌تواند موجب کاهش آسیب وارده به گیاه شده باشد.

منابع

امانی‌فر، س.، علی‌اصغرزاد، ن.، نجفی، ن.ا.، شاهین، ا. و بلند نظر، ص. (۱۳۹۱) اثر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر گیاه‌پالایی سرب توسط سورگوم (*Sorghum bicolor* L.)، نشریه دانش آب و خاک ۲۲: ۱۵۵- ۱۷۰.

امیرجانی، م.، آبنوسی، م.ح.، مهدیه، م. و قره‌شیخ‌لو، س. (۱۳۹٤) بررسی اثر سرب بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی، میزان پرولین و آلکالوئید کل کالوس گیاه پریوش، مجله سلول و بافت ٦: ۹- ۲۱.

بلوچی، ح. ر.، امینی، ف.، موحدی دهنوی، م. و عطارزاده، م. (۱۳۹٦) تأثیر بسترهای مختلف کاشت بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش فلزات سنگین، مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ٦: ۲۷- ۳۹.

پارسادوست، ف.، بحرینی‌نژاد، ب.، صفری سنجانی، ع. ا. و کابلی، م. م. (۱۳۸٦) گیاه‌پالایی عنصر سرب توسط گیاهان مرتعی و بومی د ر خاک های آلود ه منطقه ایران کوه (اصفهان)، فصلنامه پژوهش و سازندگی ۲۰: ٥٤- ٦۳.

تشکری فرد، ا.، تقوی قاسمخیلی، ف.، پیردشتی، ه. ا.، تاجیک قنبری، م. ع. و بهمنیار، م. ع. (۱۳۹٦) تأثیر همزیستی قارچ *Trichoderma atroviride* بر ویژگی‌های رشد و عملکرد دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.) در خاک آلوده تیمار شده با نیترات مس، نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۵: ۷٤- ۸٦.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

تقربیان، م.، پوزش، و. و خورشیدی، م. (١٣٩٤) اثر نیکل بر شاخص های رشد، محتوی رنگیزه های فتوسنتزی، پروتئین، قندهای محلول، پرولین و میزان انباشتگی نیکل در گیاه گشنیز، نشریه تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی ٢: ٥٩- ٧٤.

جمالی حاجیانی، ن.، قادریان، س.م. و کریمی، ن. (١٣٩٥) بررسی جذب، انباشتگی و مقاومت به آنتیموان در گیاه *Tanacetum polycephalum*، مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ٢٩: ٤٩٤- ٥٠٥.

خداوردی‌لو، ح.، رسولی صدقیانی، م. ح. و کریمی، ا. (١٣٩٢) تأثیر مایه‌زنی میکروبی یک خاک آلوده به سرب بر رشد، برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و جذب و انتقال سرب، آهن و روی توسط گل گندم (*Centaurea cyanus*)، نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار ٣: ٧٦- ٩٣.

خطیب، م.، راشد محصل، م. ح.، گنجعلی، ع. و لاهوتی، م. (١٣٨٧) تأثیر غلظت‌های مختلف نیکل بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*)، مجله پژوهش‌های زراعی ایران ٦: ٢٩٥-٣٠٢.

سلطانی، ف.، قربانلی، م. و منوچهری کلانتری، خ. (١٣٨٥) اثر کادمیم بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)، مجله زیست‌شناسی ایران ١٩: ١٣٦-١٤٥.

فاطمی، ح.، اسماعیل‌پور، ب.، اشرف سلطانی طولارود، ع. و نعمت‌الله‌زاده، ع. (١٣٩٦) تأثیر محلول‌پاشی نانو ذرات سیلیسیم بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) در شرایط تنش فلز سنگین سرب، دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ٣٣: ٨٥٣- ٨٧٠.

کارگر خرّمی، س. و جامعی، ر. (١٣٩٤) تأثیر غلظت‌های مختلف مس و نیکل بر روی برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی در گیاه بامیه (*Hibiscus esculentus* L.)، مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ٤: ٣٣- ٤٤.

کرامت، ب.، دریایی، ف. و آروین، م.ج. (١٣٩٣) بررسی اثرات متقابل سلنیوم و کادمیوم بر محتوای آلدئیدها، پراکسیدهیدروژن و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه گندم رقم کویر، مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ٢٧: ٤٩٠- ٥٠٠.

کریمی شرودانی، ف.، سپهری، م.، افیونی، م. و حاج عباسی، م. ع. (١٣٩٣) اثر قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* بر افزایش مقاومت گیاه جو به فلز سرب، نشریه علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی) ١٩: ٣١١- ٣٢٠.

کریمی، ن.، خان احمدی، م. و مرادی، ب. (١٣٩٢) اثر غلظت های مختلف سرب بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه کنگرفرنگی، مجله پژوهش‌های تولید گیاهی ٢٠: ٤٩-٦٢.

موحدپور، ف.، دباغ محمدی‌نسب، ع.، نجفی، ن. ا. و امینی، ر. ا. (١٣٩٣) اثر اسید هیومیک و EDTA بر ویژگی‌های رشدی، عملکرد و اجزای عملکرد دانه کلزا تحت تنش سمیت سرب، ویژه‌نامه نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار ٢٤: ١٠٣- ١٢١.

مهربان، پ. و عبدل‌زاده، ا. (١٣٩١) اثرات بیشبود آهن در فعالیت آنتی اکسیدانی و الگوی الکتروفورزی پروتئین ها در گیاه برنج رقم شفق، مجله پژوهش‌های تولید گیاهی ١٩: ٨٥- ١٠٦.

نورانی‌آزاد، ح.، حاجی باقری، م. ر.، کفیل زاده، ف. و نجفیان، م. (١٣٩٠) مطالعه برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی یک رقم گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) به سمیت سرب، فصلنامه علمی-پژوهشی گیاه و زیست‌بوم ٧: ٦٣- ٧٤.

یعقوبیان، ی.، سیادت، س. ع. ا.، مرادی‌تلاوت، م. ر. و پیردشتی، ه. ا. (١٣٩٥) کمی‌سازی پاسخ رشد رویشی و مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) به غلظت کادمیوم در خاک، نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی ٢٣: ١٦٥- ١٨٥.

یوسفی‌راد، م.، اصغری، م.، معصومی زواریان، ا. و فضل‌الهی، ح. (١٣٩٥) مقایسه اثرات همزیستی دو سویه میکوریزا بر توان گیاه‌پالایی سرب بادرنجبویه (*Melissa afficinalis* L.)، دوفصلنامه بیوتکنولوژی و میکروبیولوژی کاربردی ٥: ١- ١١.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

Abi, H. (1984) Catalase in vitro. Method of Enzymology 105: 121-126.

Akinci, I. E, Akinci, S. and Yilmaz, K. (2010) Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to lead toxicity: growth, element uptake, chlorophyll and water content. African Journal of Agriculture Research 5: 416-423.

Ali, B. M., Vajpayee, P., Tripathi, R. D., Rai, U. N., Singht, S. N. and Singhgh, S. P. (2003) Phytoremediation of lead, nickel, and copper by salix acmophylla boiss. : role of antioxidant enzymes and antixidant substances. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 70: 462-469.

Ashraf, M. Y., Azhar, N., Mahmood, k., Ahmad, R. and Waraich, E. H. (2012) Oilseed *Brassica napus* and phytoremediation of lead. In: Phytotechnologies: Remediation of Environmental Contaminants (eds. Anjum, A., Pereira, N. M. E. I., Ahmad, Duarte, A. C., Umar, Sh. And Khan N. A.) Pp. 151-178. CRC Press, Boca Raton, United Stated.

Baker, A. J. M., McGrath, S. P., Reeves, R. D. and Smith, J. A. C. (2000) Metal Hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediaton of metal polluted soil. In: Phytoremediation of Contaminated Soil and Water (eds. Terry, N. and Banuelos, G.S) Pp. 85-107. Lewis Publications, Boca Raton, United Stated.

Bakhshandeh, E., Soltani, A., Zeinali, E. and Kallate-Arabi, M. (2012) Prediction of plant height by allometric relationships in field-grown wheat. Cereal Research Communications 40: 487-496.

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

Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44: 276-287.

Behnamnia, M., Manouchehri Kalantari, K. and Ziaie, J. (2009) Effects of brassinosteroid on the induction of biochemical changes in *Lycopersicon esculentum* under drought stress. Turkish Journal of Botany 33: 417-428.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Cenkci, S., Cioerci, I. H., Yildiz, M., Oezay, C., Bozdao, A. and Terzi, H. (2010) Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. Environmental Experimental Botany 67: 467-470.

Cho, U. H. and Park, J. O. (2000) Mercury- induced oxidative stress in tomato seedlings. Plant Science 156:1-9.

Faiazan, S., Kausar, S. and Perveen, R. (2011) Varietal differences for cadmium-induced seedling mortality, foliar toxicity symptoms, plant growth, proline and nitrate reductase activity in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Biology and Medicine 3: 196-206.

Foroozesh, P., Bahmani, R., Pazouki, A., asgharzadeh, A., rahimdabbagh, S. and Ahmadvand, S. (2012) Effect of cadmium stress on antioxidant enzymes activity in different bean genotypes. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science 7: 351- 356.

Garg, N. and Aggarwal, N. (2012) Effect of mycorrhizal inoculations on heavy metal uptake and stress alleviation of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. genotypes grown in cadmium and lead contaminated soils. Plant Growth Regulation 661: 9-26.

Garnczarska, M. and Ratajczak, L. (2000) Metabolic responses of lemna minor to lead ions, II. induction of antioxidant enzymes in roots. Acta Physiologiae Plantarum 22: 429-432.

Georgieva, V. and Tasev, C. (1997) Growth, yield, lead, zinc end cadmium content of radish, pea, and pepper plants as influenced by level of single and multiple contamination of soil. Bulgarian Journal of Plant Physiology 23: 12-23.

Hakimi, L., Matinizadeh, M., Shirvani, A. and Khalighi, A. (2015) Physiological and Biochemical Response of *Berberis integerrima* and *Cercis siliquastrum* to cadmium and lead stress. Advances in Bioresearch 6: 21- 24.

Hosseini, Z. and Poorakbar, L. (2013) Zinc toxicity on antioxidative response in (*Zea mays* L.) at two different pH. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 9: 66-73.

Jain, R., Srivastava, S., Solomon, S., Shrivastava, A.K. and Chandra, A. (2010) Impact of excess zinc on growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.). Acta Physiologiae Plantarum 32: 979-986.

Larbi, A., Morales, F. and Abadia, A. (2003) Effect of Cd and Pb in sugar beet Plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition. Functional Plant Biology 20: 1453-1464.

Li, X., Li, W., Chu, L., White Jr, J. F., Xiong, Z. and Li, H. (2016) Diversity and heavy metal tolerance of endophytic fungi from *Dysphania ambrosioides*, a hyperaccumulator from Pb–Zn contaminated soils. Journal of Plant Interactions 11: 186-192.

Lin, C. J., Liu, L., Liu, T., Zhu, L., Sheng, D. and Wang, D. (2009) Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. Environmental and Experimental Botany 65: 410- 416.

Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. (1995) Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. Journal of Experimental Botany 46: 1843–1852.

Malar, S., Sahi, S. V., Favas, P. J. C. and Venkatachalam, P. (2015) Assessment of mercury heavy metal toxicity-

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

induced physiochemical and molecular changes in *Sesbania grandiflora* L. International Journal of Environmental Science and Technology 12: 3273- 3282.

Manivasagaperumal, R., Vijayarengan, P., Balamurugan, S. and Thiyagarajan, G. (2011) Effect of coupper on growth, dry matter yield and nutrient content of *Viggna Radiata* L. Journal of Phytology 3: 53-62.

Molassiotis, A., Tanouc., G, Diamantidis, G. and Patakas, A. (2005) Effects of 4- month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism. Photosynthetic gas exchange chlorophyll fluorecence and antioxidant defense in two peach rootstock different in Fe deficiency tolerance. Journal of Plant Nutrition 25: 843- 860.

Nikolic, N., Kogic, D., Pilipovic, A., Pajivic, S., Krstic, B., Borisev, M. and Orlovic, S. (2008) Responses of hybrid poplar to cadmium stress photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation and antioxidant enzyme activity. Acta Biologica Cracoviensia. Series botanica 50: 95-103.

Pandey, N. and Sharma, C. P. (2002) Effect of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. Plant Science 163: 753-758.

Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Z-Ylkiewicz, B. and Zambrzycka, E. B. (2010) Changes in growth, biochemical components, and antioxidant activity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lamiaceae) exposed to cadmium and lead. Archives Environmental Contamination and Toxicology 58: 594-604.

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.

Rascio, N. and Navari-Izzo, F. (2011) Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? Plant Science 180: 169–181.

Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Holaday, A. S. (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.

Sanchez-Viveros, G., Gonzalez-Mendoza, D., Alarcon, A. and Ferrera-Cerrato, R. (2010) Copper Effects on Photosynthetic Activity and Membrane Leakage of *Azolla filiculoides* and *A. caroliniana.* International Journal of Agriculture and Biology 12: 365- 368.

Sergive, I., Alexieva, V. and Karanov, E. (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markes in plants. Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences 51: 121-124.

Shah, K., Kumar, R. G., Verma, S. and Dubey, R. S. (2001) Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Science 161: 1135–1144.

Sharma, P. and Dubey, R.S. (2005) Lead toxicity in plants. Plant physiology 17:35-52.

Sharma, S. S., Kaul, S., metwally, A., Goyal, K. C., Finkemeier, I. and Dietz, K. J. (2004) Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgar*) as affected by varying Fe nutritional status. Plant Science 166: 1287-1295.

Shu, X., Yin, L., Zhang, Q. and Wang, W. (2012) Effect of Pb toxicity on leaf growth, antioxidant enzyme activities, and photosynthesis in cuttings and seedlings of *Jatropha curcas* L. Environmental Science and Pollution Research 19: 893- 902.

Siddiqui, Z. S. (2013) Effects of double stress on antioxidant enzyme activity in *Vigna radiata* (L.). Wilczek. Acta Botanica Croatica 72: 145-156.

Sinha, j. and Sharivastava, S. (2012) Pot experiment study showed the effect of Pb and Cd in *Brassica juncea* L. by chlorophyll and ascorbic acid content estimation. Journal of Current Pharmaceutical Research 9: 33-36.

Solgi, T., Moradyar, M., Zamani, M. R. and Motallebi, M. (2015) Transformation of canola by Chit33 gene towards improving resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Protection Science 51: 1-6.

Stewart, R. R. C. and Bewley, J. D. (1980) Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiology 65: 245–248.

Tang, W. and Newton, J. R. (2005) Peroxidase and catalase activities are involved in direct adventitious shoot formation induced by thidiazuron in eastern white pine (*Pinus scorba* L.) zygotic embryos. Plant Physiolgy Biochemstery 43: 760-769.

Verma, S., and Dubey, R. S. (2003) Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Science 164: 645-655.

Viveros, S., Mendoza, G., Alarkon, D. and Cerrato, R. (2010) Copper effects on photosynthetic activity and membrane leakage of *Azolla filiculoides* and *A. caroliniana*. International Journal of Agriculture and Biology 12: 365- 368.

Wahid, A. (2007) Physiological implications of metabolites biosynthesis in net assimilation and heat stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. Journal Plant Research 120: 219–228.

Winter Sydnor, M. E. and Redente, E. F. (2002) Reclamation of high elevation, acidic mine waste with organic amendments and topsoil. Journal of Environmental Quality 31: 1528-1537.

Xue, Z. C., Gao, H. Y., and Zhang, L. T. (2013) Effects of cadmium on growth, photosynthetic rate, and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings. Biologia Plantarum 57: 587-590.

Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. (2000) Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. Plant Physiology 123: 223-234.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]

Quantifying the response of growth, some physiological and biochemical traits of canola (*Brassica napus* L.) plant to lead concentration in the soil

Mehranoosh Emamian Tabarestani[1], Hemmatollah Pirdashti[2*], Mohammad Ali Tajik Ghanbary[3], Fardin Sadeghzadeh[4]

[1.] Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[2.] Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[3.] Department of Plant Protection, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[4.] Department of Soil Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
(Received: 28/09/2018, Accepted: 17/12/2018)

Abstract

In order to quantify the response of canola (*Brassica napus* L.) plant to lead different levels, an experiment was conducted in completely randomized design with three replications. Treatments were twelve lead concentrations from lead nitrate source (0, 10, 50, 100, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 mg/kg soil). Results showed that decrease in vegetative traits fitted with segmented model when lead concentration increased. Also, chlorophyll *a*, *b*, *a+b* contents and SPAD index value declined about 23, 47, 30 and 22%, respectively. Chlorophyll *a*/*b* ratio (*a/b*) and carotenoid, however, showed increasing trend by 46 and 39% in 4000 mg/kg of soil as compared to the control. In addition, the activity of catalase, peroxidase and ascorbate enzymes increased until about 10, 447 and 18 mg/kg of soil, respectively and then decreased when lead concentration was increased. Superoxide dismutase activity in 4000 mg/kg of soil was about 2.3 times greater than the control. Also, malon-di-aldehyde (MDA) and H_2O_2 concentrations in 4000 mg/kg of soil were about two times and proline concentration was about 12% greater than the control. In conclusion, up to 100 mg/kg of soil vegetative traits and photosynthetic pigments particularly showed the highest sensitivity. Among photosynthetic pigments, the sensitivity of chlorophyll *b* was higher than chlorophyll *a*. Also, the higher activity of superoxide dismutase enzyme than the other enzymes and proline can be a possible reason for ameliorating the damage of high levels of lead in canola.

Keywords: Antioxidant, proline, photosynthetic pigments, lead, canola

Corresponding author, Email: h.pirdashti@sanru.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.7.0]