دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال دهم، شماره سی و پنجم، ۱۳۹۷

بر همکنش سرب و پوترسین بر بعضی شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه شاهی (*Lepidium sativum*)

فاطمه حسن پورنژاد[۱]، منیره رنجبر[۲]

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۱۵

چکیده

در پژوهش حاضر اثرات سرب و پوترسین بر گیاه شاهی (*Lepidium sativum*) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار انجام شد. دانه رستهای گیاه تحت تیمار های نیترات سرب با غلظت های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰ ، ۵۰۰ و۱۰۰۰ میکرومولار و سرب با غلظت های ذکر شده به همراه غلظت ۱ میلی مولار پوترسین قرار گرفتند. وزن تر گیاهان نسبت به تیمار سرب هم غلظت افزایش یافته و در غلظت ۵۰۰ میکرومولار به gr ۱۰رسید. وزن خشک گیاهان تفاوت معنی دار با شاهد نداشت. تیمار سرب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز(۰/۰۵۳ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) آنزیم کاتالاز (۰/۸ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) را باعث شد. استفاده از پوترسین همراه سرب سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز(۰/۹۹ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر گیاه در غلظت ۱۲۵ میکرومولار سرب همراه پوترسین) نسبت به سرب هم غلظت شد. به جز در غلظت ۲۵۰ میکرومولار سرب، کاهش میزان پرولین نسبت به گیاهان تحت تیمار سرب در همان غلظت دیده شد. در تیمار توام سرب با پوترسین در سه غلظت ۱۲۵ و ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار سرب کاهش درصد مهارکنندگی نسبت به تیمار های سرب در همان غلظت دیده شد. غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار سرب باعث افزایش درصد مهار کنندگی گردید. میزان فنل کل تحت تیمارهای سرب و پوترسین تفاوت معنی دار نداشت. درگیاه شاهی جهت مقابله با تنش سرب آنزیم پلی فنل اکسیداز و کاتالاز فعال شده، میزان پرولین افزایش می یابد. استفاده از پوترسین با کاهش اثرات تنش تولید پرولین را کنترل کرده است. کاربرد پوترسین در شاهی اثر مثبتی بر روی رشد داشته و اثرات منفی سرب را تا حدی کاهش دهد.

واژه های کلیدی: آنزیمهای آنتی اکسیدانی، پرولین، پوترسین، سرب، شاهی

حسن پور نژاد، ف. و م. رنجبر. ۱۳۹۷. تأثیر متقابل سرب و پوترسین بر شاخص های فیزیولوژیکی وبیوشیمیایی گیاه شاهی (*Lepidium sativum*) مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۳۵: ۵۱-۳۸.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

۲- استادیارگروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران- مسدئل مکاتبات. پست الکترونیک: ranjbar@iaufala.ac.ir

مقدمه

شاهی (*Lepidium sativum*) گیاهی یک ساله و متعلق به خانواده چلیپاییان است که در هند، آمریکای شمالی و قسمتی از اروپا کشت می شود(فرحناکی وهمکاران، ۱۳۹۰). از لحاظ مورفولوژیکی یک گیاه علفی بی کرک دارای ریشه و ساقه ی راست است که طول آن به ۲۰ تا ۳۰ سانتی متر می رسد. این گیاه دارای اسانس روغنی فرار بوده و حاوی گلوکوزید گلوکوتروپئولوزید و گلوکوزیدی به اسم تروپئولوزید است(نادکامی، ۱۹۵٤). با توجه به استفاده خوراکی و خواص دارویی گیاه شاهی، با بررسی اثر سرب به عنوان آلوده کننده ی محیط زیست، می توانیم به حفظ خواص دارویی این گیاه کمک کنیم(خداوردی لو و همکاران، ۱۳۸٦). در طول چند دهه گذشته آلودگی محیط زیست با فلزات سنگین به‌شدت افزایش یافته است. آلودگی خاک با فلزات سنگین منجر به ضرر و زیان‌هایی بر روی محصولات کشاورزی شده و یا با ورود به زنجیره غذایی، تأثیراتی بر روی سلامتی انسان می‌گذارند (هاجرا همکاران، ۲۰۱٤). فلزات سنگین به وسیله‌ی مهار تقسیم سلولی و یا کاهش گسترش سلولی در ناحیه‌ی طویل شدن و یا هر دو آنها سبب کاهش وزن تر گیاه می‌شوند(نالینی و چاندرا، ۲۰۰۲). سرب به عنوان خطرناک ترین فلز سنگین آلاینده محیط زیست بیشتر از طریق صنایع باتری های سربی، افزودنی های رنگ و بنزین، حشره کش ها، کودهای شیمیایی و غیره وارد محیط می شود(ایک و همکاران، ۱۹۹۹). آلودگی سرب در خاک موجب کاهش فعالیت فتوسنتزی گشته و اثرات مضری بر رشد گیاه بر جای می گذارد(کوپیرا، ۲۰۰۳). سرب در بدن از طریق زنجیره ی غذایی ذخیره شده و سلامت انسان را در معرض خطر قرار می دهد(جان و همکاران، ۲۰۰۹). از اثرات فیزیولوژیکی سرب بر روی گیاهان می توان اثر بر روی وضعیت آب، فتوسنتز، رشد و جوانه زنی گیاه، مواد معدنی در گیاه اشاره کرد(لاربی و همکاران، ۲۰۰۳؛ جورجیوا و تاسو، ۱۹۹۷). در مطالعه ی کیاوو و همکاران(۲۰۱۵) بر روی مکانیسم تحمل سرب بر روی گیاه گوشاب.*Potamogeton crispus* L آنها متوجه شدند که بیشترین مقدار سرب در دیواره سلولی ذخیره شده است. سرب ایجاد گونه های فعال اکسیژن را در گیاه افزایش داده و منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو در آنها می شود، بنابراین، موجب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی خاصی در گیاهان می شود(شارما و دوبی، ۲۰۰۵). در سیستم دفاعی گیاه آنتی اکسیدان ها به دو گروه آنتی اکسیدان های آنزیمی شامل شامل آسکوربات پراکسیداز(APOX)، گلوتاتیون ردوکتاز(GR)، سوپر اکسید دیسموتاز(SOD)، کاتالاز(CAT) و گروه دوم آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی شامل آسکوربیک اسید، فنولیک اسید، گلوتاتیون، ویتامینE، ویتامین C ، کارتنوئید ها ، α- توکوفرول تقسیم می شوند (اسچوتزاندوبل و پولی، ۲۰۰۲). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گونه ی گیاهی بید زرد نتیجه استراتژی های گیاه برای ادامه ی حیات خود تحت تنش فلزاتی مانند سرب بوده است. در مطالعات آیاز و کادیواوغلو (۱۹۹۷) نشان دهنده این بود که بذر گیاه (*Lenns esculent*) تحت تیمار سرب منجر به کاهش وزن ترآن گیاه شد. دفاع آنتی اکسیدانی برای محافظت از سلولها در برابر تاثیرهای خطرناک گونه های اکسیژن فعال وارد عمل میشود، طی تنش اکسیداتیو، وقایعی درگیاهان صورت میگیرد که عبارت هستند از افزایش تولید ROS ، افزایش میزان آنتی اکسیدان ها، افزایش پرولین و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی که منجر به افزایش تحمل گیاه به تنش می شوند(مبین و همکاران، ۲۰۰۷). بر اساس مشاهدات ورما و دوبی (۲۰۰۳) فعالیت کاتالاز گیاه برنج در اثر افزایش تنش سرب کاهش یافت. پراساد(۱۹۹۷) هنگام تحقیق بر روی اثر فلزات کمیاب درگیاه سنبل آبی معمولی متوجه شد در شرایط تنش، آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله گایاکول پراکسیداز و پراکسیداز فعال می شوند یا میزان فعالیت آنها در گیاه افزایش می یابد. کوستا و مورل(۱۹۹٤)دریافتند که پرولین یکی از ترکیبات مهم سیستم دفاعی گیاهان در شرایط تنش است و میزان آن در هنگام تنش و در پاسخ به فلزات سنگین افزایش یافته و تجمع پرولین آزاد در این شرایط شایع است. طبق آزمایشهای نومن و همکاران(۲۰۰۸) بر روی ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه شنبلیله به این نتیجه رسیدند که در این گیاه میزان ظرفیت انتی اکسیدانی پایین بوده است. بکارگیری غلظت بالای کبالت موجب افزایش معنی دار محتوی فنل کل آن شده است(گاد، ۲۰۱۲).

پلی آمین ها گروهی از پلی کاتیون هایی با وزن مولکولی پایین هستند که در همه گیاهان حضور دارند(اتیا، ۲۰۱۱). پلی آمین ها را می توان یک عامل ضروری برای رشد یوکاریوت ها و پروکاریوت ها شناخت که مسیر سنتز آنها با هم متفاوت است(جیمنز-برمونت و همکاران، ۲۰۱٤). پلی آمین ها در القای تقسیم سلولی، جنین زایی، ریخت زایی، نمو گل و میوه و دانه، تاخیر در پیری گیاه نقش ایفا می کنند(دل داکا و سارافینی-فراکازینی کای، ۲۰۱٤ و تاکاهاشی و کاکهی، ۲۰۱۰). پوترسین از تنظیم کننده های رشد طبیعی گیاه هستند که به عنوان عامل ضد پیری شناخته شده اند و باعث افزایش استحکام بافت گیاه می شوند(فولگادو و همکاران، ۲۰۱۳). پوترسین خارجی قادر به

بهبود مقاومت گیاهان در تنش اکسیداتیو می گردد. بکارگیری پوترسین خارجی باعث افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی شده و در نتیجه مقاومت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو افزایش می یابد. عقیده بر این است که پیش تیمار گیاهان با پوترسین نیز باعث مقاومت بالای گیاه در برابر تنش اکسیداتیو می شود(گروپا و همکاران، ۲۰۰۱).

با توجه به آلودگی خاکهای زراعی با سرب و تاثیر پوترسین بعنوان تنظیم کننده رشد گیاهی، در پژوهش حاضر، تأثیر متقابل پوترسین و سرب بر روی گیاه شاهی بعنوان یک گیاه خوراکی و دارویی بررسی گردید. بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی، فعالیت آنزیم های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز به عنوان آنتی اکسیدان آنزیمی و میزان فنل کل ومیزان پرولین از اهداف این تحقیق به شمار می رود. علی رغم اینکه دلایل مختلفی در مورد عملکرد پلی آمین پوترسین ارائه شده است، لیکن نقش احتمالی این ترکیب از طریق ایجاد تغییراتی در شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شاهی تاکنون مطالعه نشده است. این احتمال وجود دارد که پوترسین از طریق تنظیم رشد و القای سلول، باعث افزایش استحکام بافت گیاه شاهی شده و موجب تغییر در تحمل تنش ها شود. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر کاربرد پوترسین در ایجاد تغییر در پاسخ به فلز سنگین سرب در گیاه شاهی انجام گرفت. از پلی آمین پوترسین به دلیل وجود گزارش های متفاوت از اثر آنها روی پاسخ گیاه به فلزات سنگین استفاده شده است. تحت تاثیر پوترسین، انباشتگی وزن تر، فعالیت پلی فنل اکسیداز و درصد مهرکنندگی آنتی اکسیدانها، به دلیل نقش احتمالی پوترسین در تغییر پاسخ گیاه به فلز سنگین مورد سنجش قرار گرفته است.

مواد و روش ها

کشت و تیمار دهی

بذر گیاه شاهی (*Lepidium sativum*) از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و در گلدان های سایز۱٤ حاوی کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی کاشته شد. با توجه به ریز بودن بذرها، تعداد بذرهای کشت شده ۱۰۰ عدد بود. گلدان ها ، هر روز در ۳ نوبت با آب مقطر آبیاری شدند. با رشد گیاه و رسیدن به مرحله دو برگچه ای تیمار دهی به صورت محلول پاشی برگی با سرب (از منبع نیترات سرب) با غلظت های (۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) انجام گرفت. ابتدا با حل کردن ۰/۳۳۱ گرم نیترات سرب در آب مقطر، حجم محلول به۱۰۰۰ میلی لیتر رسید بدین ترتیب محلول مادر با غلظت ۱ میلی مولار دست آمد. این محلول معادل ۱۰۰۰ میکرومولار بوده و سایر غلظتها از ااین محلول تهیه شد. نیترات سرب (مرک آلمان) با غلظت های فوق به همراه پوترسین با غلظت ۱ میلی مولار همراه با آب آبیاری با چهار تکرار آغاز شد. گیاهان یک روز در میان تیمار شدند و در سایر روزها آبیاری با محلول غذایی هوگلند و شتشوی محیط با آب مقطر به منظور جلوگیری از انباشته شدن عناصر انجام گرفت. تیمارها به مدت ۳۰ روز اعمال شد. پس از گذشت دو روز از آخرین تیمار، اندام های هوایی جدا شده و به منظور اندازه گیری شاخص های رشد، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی ، ظرفیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنل کل و پرولین مورد بررسی قرار گرفتند.

اندازه گیری ارتفاع و وزن تر و خشک گیاه

پس از اتمام آزمایش، از هر گلدان به‌طور تصادفی بخش هوایی و زیر زمینی ۲۵ نمونه گیاه از جدا شده و جهت اندازه گیری ارتفاع استفاده شد. وزن تر با استفاده از ترازو اندازه گیری شد. نمونه‌ها به مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و وزن خشک **آنها** نیز بدست آمد (زارع و همکاران، ۱۳۹۰).

سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی

تهیه عصاره آنزیمی برای سنجش فعالیت آنزیم های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز

عصاره گیری به روش کاکمک و هورست (۱۹۹۱) صورت گرفت. ۰/۱ گرم بافت منجمد به همراه ۱/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ٦/۸ بر روی ازت مایع ساییده و عصاره گیری شد. محلول همگن حاصل در سانتریفیوژ یخچال دار مدل 5417R شرکت eppendorf با ۱٤۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد و محلول رویی برای سنجش آنزیم ها استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیم های کاتالاز

۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ۷، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، با ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳٪ مخلوط شده و پس از ٦۰ ثانیه جذب نوری آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV ۲۱۰۰ کمپانی یونیکو آمریکا قرائت شد. سپس فعالیت آنزیم برحسب واحد جذب بر گرم پروتیین وزن تر محاسبه گردید. محلول شاهد

شامل ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ۷ به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود (وحدتی و همکاران، ۱۳۸۹).

سنجش فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز

اندازه گیری فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز بر اساس روش کار و میشرا (۱۹۷۶) انجام شد. ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ۶/۸، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر پیروگالول ۱۰ میلی مولار مخلوط و جذب نوری آن پس از ۴۰ ثانیه در طول موج ۴۲۰ با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV ۲۱۰۰ کمپانی یونیکو آمریکا قرائت شد. سپس فعالیت آنزیم برجسب واحد جذب بر میزان پروتئین گرم وزن تر محاسبه گردید. شاهد حاوی ۲/۹ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ۶/۸ به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود.

سنجش پرولین

برای اندازه گیری میزان پرولین، طبق روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) از عصاره آنزیمی ۲ میلی لیتر برداشته و به هر کدام ۲ میلی لیتر معرف اسید نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک خالص افزوده و لوله ها را در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت قرار داده، سپس برای قطع واکنش، محلول ها را در حمام یخ قرار داده و به آنها ٤ میلی لیتر تولوئن افزوده و لوله ها را با استفاده از شیکر به شدت تکان داده و با ثابت نگه داشتن لوله ها به مدت ۲۰ ثانیه دو لایه کاملاً مجزا تشکیل گردید که از لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود. برای اندازه گیری مقدار پرولین استفاده شد و در طول موج ۵۲۰ نانومتر مقدار جذب قرائت گردید.

سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی

عصاره گیاهان با متانول ٪۸۰ تهیه و برای سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره از روش شیمادا (۱۹۹۲) استفاده شد. به این صورت که غلظت های مختلفی از آسکوربیک اسید (استاندارد) و عصاره گیاه در چهار تکرار تهیه و به آن ها به ترتیب آب مقطر و محلول DPPH (نام اختصاری ترکیب آلی diphenyl-1-picrylhydrazyl-2,2 می باشد که ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه های فنیل در ساختارش به صورت رادیکال در آمده و منبع رادیکال آزاد است. این ترکیب با دریافت یک الکترون از ترکیب آنتی اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می دهد. رادیکال های آزاد موجود در DPPH در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیرلامبرت پیروی می کنند و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چقدر میزان ماده ی آنتی اکسیدان زیاد شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد میل می کند) اضافه شد. در انتها، جذب محلول ها پس از ۳۰ دقیقه تکان در محیط تاریک توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV ۲۱۰۰ کمپانی یونیکو آمریکا) در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. برای محاس

به ظرفیت آنتی اکسیدانی از رابطه زیر استفاده و نتیجه بر حسب درصد مهار کنندگی گزارش گردید.

ظرفیت آنتی اکسیدانی (٪) = [(AC-AS) /AC] ×۱۰۰

جذب کنترل= AC و جذب نمونه= AS

سنجش فنل کل

برای بررسی محتوای فنل کل از روش سینگ و همکاران (۲۰۰۲) استفاده شد. غلظت های مختلف از گالیک اسید (استاندارد)، عصاره گیاه در چهار تکرار تهیه و به آنها به ترتیب آب مقطر، سدیم کربنات ٪۷ و فولین ٪۱۰ اضافه شد. بعد از ۳۰ دقیقه جذب نمونه ها توسط اسپکتروفترومتر UV در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد. برای محاسبه محتوای فنل کل از رابطه زیر که از منحنی استاندارد بدست آمده استفاده گردید:

$$Y=0.05X + 0.0912$$

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیزآماری

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار طراحی گردید. نتایج حاصل از اندازه گیری های مختلف، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح یک درصد انجام شد. رسم نمودارها با نرم افزار اکسل انجام شد.

نتایج و بحث

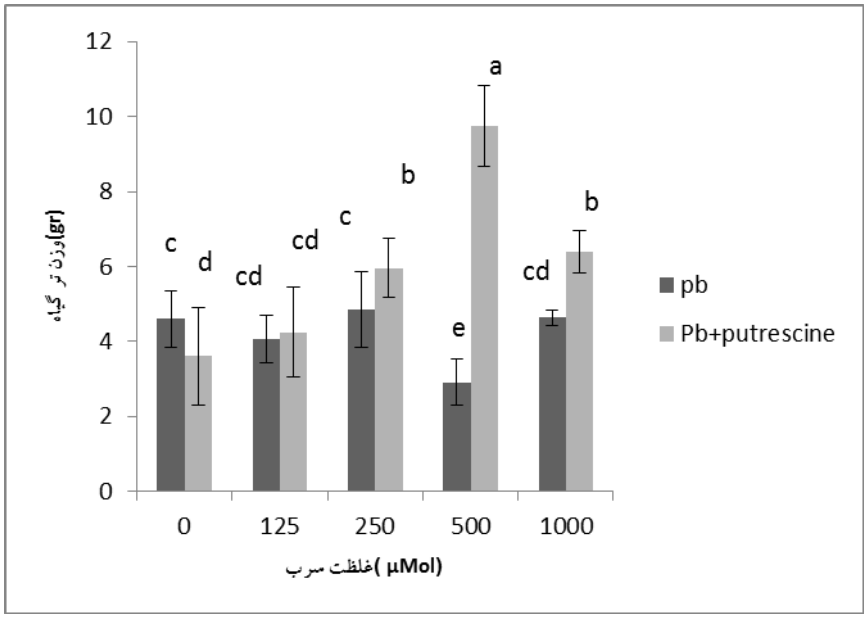
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه گیاه شاهی را تحت تیمار سرب و پوترسین نشان می دهد. تجزیه واریانس داده های مربوط به ارتفاع گیاه، وزن خشک گیاه شاهی پس از ۳۰ روز تیمار نشان داد که تحت تیمار سرب و اثرات متقابل سرب و پوترسین از نظر آماری معنی دار نبوده است(جدول ۱). با توجه به جدول ۱ آنالیز واریانس دادههای مربوط به وزن تر گیاه تحت

تیمار غلظت های مختلف سرب ازنظر آماری معنی دار نبوده در حالی که بررسی تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثرات سرب همراه با پوترسین بر روی وزن تر گیاه در سطح ۵ درصد معنی دار بوده است($P<0.05$). میزان وزن ترگیاه در تیمار توأم پوترسین با نیترات سرب نسبت به شاهد افزایش نشان داده است. افزایش وزن تر در تیمار ۵۰۰ میکرومولار سرب با پوترسین نسبت به سایر تیمارها بیشتر است (شکل ۱).

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در گیاه شاهی (*Lepidium sativum*)

منابع تغییر	درجه آزادی	طول گیاه (سانتیمتر)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	فعالیت کاتالاز (جذب در دقیقه بر وزن تر)	فعالیت پلی فنل اکسیداز(جذب در دقیقه بر وزن تر)	پرولین (میلی گرم بر لیتر)	آنتی اکسیدان (درصد)	فنل کل (میکروگرم بر میلی لیتر)
سرب	٤	۰/۷۳٤^{ns}	۱/۸۲۲^{ns}	۰/۰۱۳^{ns}	۰/۰۰۱**	۰/۲۸۲*	۰/۰۸۰*	۲۲۷/۷٤۹**	٦۲/۷۲۲*
پوترسین	۱	۰/۵۰٤^{ns}	۷/۹۰۵^{ns}	۰/۰۱٦^{ns}	۰/۰۰۱*	۱/۰۲۳*	۰/۰۰۱^{ns}	۳۷/۱۲۷**	۵۹/۲۵۰**
سرب وپوترسین	۱	۰/۸۵۳^{ns}	۱۳/۵٦۳**	۰/۱٦^{ns}	۰/۰۰۱**	۰/۱٤۷*	۰/۰۳۲**	۵۲۵/۹۷٦*	۱۹/٤۹۳^{ns}
ضریب تغییرات			۸/۰۳		۱۷/۹۸	۷/۰۷	۱٤/۱۸	۲/۵۹	۳/۱۹

* و ** به ترتیب وجود تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و ns عدم وجود تفاوت معنی دار را نشان می دهد



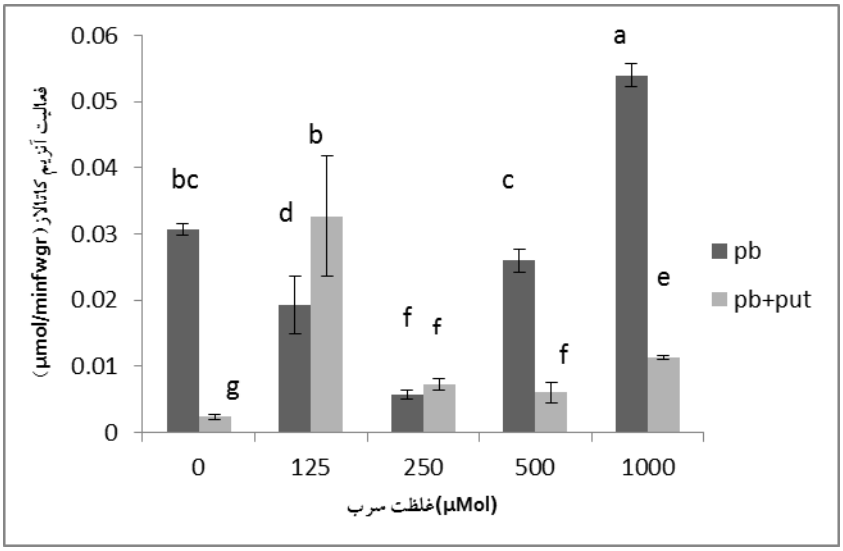
شکل ۱- مقایسه وزن ترگیاه(*Lepidium sativum*) تحت تیمار سرب همراه با پوترسین. نتایج میانگین٤ تکرار ± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها است

مطالعات آیاز و کادیواوغلو (۱۹۹۷) نشان دهنده این بود که تیمار سرب گیاه عدس خوراکی (*Lenns esculent*) منجر به کاهش وزن ترآن گیاه شد. این نتایج با نتایج حاصل از این پژوهش مغایرت دارد. احتمالا نتایج نشان دهنده این است که تیمار گیاه شاهی باعث تغییر در وضعیت جذب آب شده بطوری که بدون تغییر وزن خشک گیاه، وزن تر آن ثابت مانده و یا در غلظتهای بالاتر افزایش یافته است. فلزات سنگین به وسیله‌ی مهار تقسیم سلولی و یا کاهش گسترش سلولی در ناحیه‌ی طویل شدن و یا هر دو آنها سبب کاهش وزن تر گیاه می‌شوند(نالینی و چاندرا، ۲۰۰۲). لذا در این گیاه سرب اثر چندانی بر تقسیم

سلولی نگذاشته است. گیاهان مناسب برای گیاه پالایی دارای رشد سریع و وزن تر بالا بوده و به راحتی قابل برداشت هستند، همچنین نسبت به فلزات سنگین مقاوم بوده و آنها را در بخش هوایی خود بیش از ۰/۱ درصد تجمع می دهند بدون اینکه در رشد آنها تغییری ایجاد شود(هوآنگ، ۱۹۹۶). با توجه به مشاهدات صالح ، وزن‌تر و خشک دو گیاه تربچه وحشی و منداب تحت تیمار کادمیوم و سرب همرا با پلی آمین ها به طور قابل توجهی افزایش یافته است که احتمالا به دلیل افزایش سنتز مواد جهت مقابله با تنش است(صالح، ۲۰۰۱). پلی آمین‌ها ترکیباتی ضروری موجودات زنده هستند و پوترسین بعنوان یک پلی آمیۀ فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه را تحت تاثیر قرار می دهد(بوچریو و همکاران، ۱۹۹۹). مقیم و همکاران، (۱۳۸۹) دریافتند که تیمارپوترسین قبل از شوک گرمایی، موجب افزایش تحمل گرمایی و بازیابی رشد دانه رست‌های سویا گردیده است. کاربرد پلی آمین‌ها می‌تواند موجب بازگشت رشد یا کاهش مهار رشد طی تنش گردد که نشان دهنده تأثیر پلی آمین‌ها در کاهش آسیب سلولی ناشی از تنش می‌باشد. پلی آمین ها با افزایش تقسیم سلولی، افزایش فعالیت هورمونهای گیاهی از قبیل اکسین وجیبرلین منجر به افزایش وزن گیاه تحت تنش شده و در اکثر تحقیقات تیمار با پلی آمینها موجب به حداقل رساندن آسیب سلولی ایجاد شده در اثر تنش می شود(نوح پیشه و منوچهری کلانتری، ۱۳۹۰). پلی آمین ها نقش مهمی در فتوسنتز داشته و باعث بازگشت آسیبهای دستگاه فتوسنتزی در اثر تنش خواهد شد(اسفکیناکی و همکاران، ۲۰۰۶). پلی آمینها با ترانس گلوتامیناز مخصوص رابیسکو پیوند برقرار کرده و این پروتئین ها را در برابر عمل پروتئاز ها محافظت می نمایند. بدین ترتیب باعث افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاهان شده، در نتیجه افزایش وزن گیاهان تحت تیمار سرب وپوترسین را می توان به این مکانیسم نیز ارتباط داد(سرافینی–فراکاسین و همکاران، ۱۹۹۵).

تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز گیاه

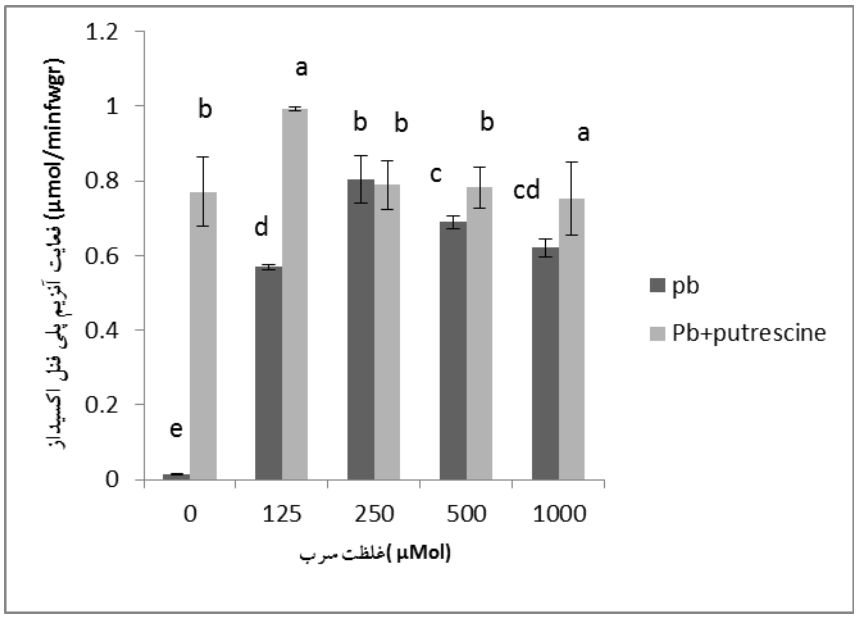
آنالیز واریانس داده های مربوط به فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار سرب همچنین سرب و پوترسین در سطح ۵ درصد معنی دار بود($P<0.05$)..با توجه به شکل۲ درغلظت ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرومولار سرب فعالیت کاتالاز کاهش یافته است. در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار افزایش دیده می شود و در غلظت ۵۰۰ میکرومولار تفاوتی با شاهد نداشته است.



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و پوترسین بر فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه (*Lepidium sativum*). . نتایج میانگین٤ تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها است

بر اساس جدول آنالیز واریانس اختلاف داده های مربوط به تیمار سرب همچنین سرب و پوترسین در رابطه با فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سطح ۱ درصد معنی دار بود($P<0.01$). همانطور که در شکل۳ آمده است نتایج بدست آمده از سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نشان داد که با افزایش غلظت سرب فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز افزایش یافته است. استفاده از پوترسین همراه سرب باعث افزایش فعالیت آنزیم نسبت به تیمار سرب در همان غلظت شده است. تیمار توام سرب با

پوترسین در غلظت ۱۲۵ میکرومولار سبب افزایش بیشتر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به تیمار سرب در همان غلظت شده است، در حالی که مابقی غلظتها کمتر از غلظت مربوطه بوده است (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و پوترسین بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گیاه (*Lepidium sativum*). نتایج میانگین٤ تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها است

در این آزمایش تنش سرب فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را نسبت به کاتالاز بیشتر افزایش داده است. بنابراین تحمیل تنش با فعال سازی آنزیم پلی فنل اکسیداز در این گیاه بعنوان آنزیم آنتی اکسیدان مشخص می شود. آسیب‌های مربوط به تنس زمانی اتفاق می افتد که فرایندهای مربوط به ظرفیت آنتی اکسیدانی و مکانیسم‌های سم زدایی پایین‌تر از تولید رادیکالهای آزاد در سلولها باشد. گیاهان هنگام مواجه شدن با تنش، مکانیسم‌های دفاعی مختلف از جمله آنزیم‌های جاروب کننده و آنتی اکسیدانهای غیر آنزیمی را فعال می‌نمایند که می توان از این طریق افزایش میزان کاتالاز و پلی فنل اکسیداز را توجیه کرد. این مکانیسم‌ها باعث توقف یا کند شدن اکسیداسیون ترکیبات بیوشیمیایی شده همچنین زنجیره واکنشهای اکسیداسیونی را بلوکه می‌کنند(سقوری و همکاران، ۲۰۰۳).

گزارش شده است که فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه برنج در اثر افزایش تنش ناشی از سرب کاهش یافته است(ورما و دوبی، ۲۰۰۳). که با نتایج بدست آمده در این تحقیق در غلظتهای پایین مطابقت داشت. ولی در شرایط تنش بالای سرب گیاه برای مقابله با تنش میزان فعالیت کاتالاز خود را افزایش داده است. نتایج نشان می دهد گیاه شاهی *Lepidium sativum* تحت تنش سرب می تواند با افزایش آنزیم کاتالاز مانند یک سد حفاظتی عمل کرده و مقاومت خود را افزایش دهد و پاسخ مهمی به تنش سرب دهد. نتایج پروین و همکاران (۱۳۹٤) نشان داد که تیمار نهال های گردو با پلی آمین منجر به افزایش آنزیم کاتالاز شد. تیمار با پوترسین خارجی باعث کاهش قابل توجه میزان اکسیژنهای فعال و در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو در برگهای جو تحت تنش کم آبی شده است(کوبیس، ۲۰۰۵).

در این آزمایش تاثیر پوترسین بر روی افزایش مقاومت گیاه را می توان به فعال شدن آنزیمهای آنتی اکسیدانی نسبت داد. مکانیسم دفاع سلولی پلی آمینها در برابر تنش اکسیداتیو به بازدارندگی پراکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکالهای اکسیژن و فعال سازی بیان ژن آنزیمهای آنتی اکسیدانی از جمله کاتالاز نسبت داده می شود(فورنازیر و همکاران ۲۰۰۲). کاتابولیسم پلی آمینها باعث تولید پراکسید هیدروژن شده و در نتیجه بصورت یک مولکول علامتی عمل کرده و باعث راه اندازی زنجیره ترارسانی علامتی شده و در نهایت پاسخ دفاعی آنتی اکسیدانی از جمله آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز را فعال می سازد. اما از طرفی می تواند بعنوان یک عامل اکسیدان نیز عمل کند. از طرفی اثرات آنتی اکسیدانی پلی آمینها ناشی از

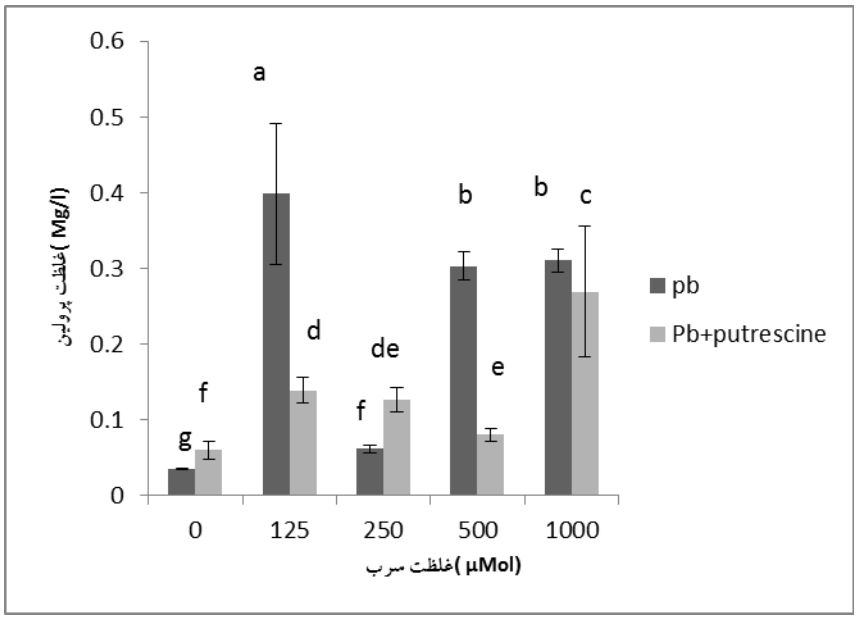
ویژگی باند شدن آنها با آنیونها و کاتیونها است که باعث افزایش خاصیت جاروب کننده گی رادیکالهای آزاد توسط آنزیمهای آنتی اکسیدانی می شود(بورز و همکاران، ۱۹۸۹). بدین ترتیب قادر به بازدارندگی پراکسیداسیون لیپیدها و واکنشهای اکسیداتیو وابسته به فلزات می گردد(تادولینی، ۱۹۸۸).

این گیاه در تیمار سرب با افزایش آنزیم پلی فنل اکسیداز در برابر خطرات ناشی از رادیکال ها ی آزاد مقاومت می کند. این آنزیم در پاسخ به استرس در گیاه وارد عمل شده و برای تعدیل شرایط فعالیت می کند. بکارگیری پلی آمین های خارجی باعث پایداری غشا سلول، محافظت آنها در برابر تنش های خارجی می گردد بدین ترتیب استفاده از پوترسین در کنار سرب باعث تحمل شرایط تنشی می گردد پلی آمین خارجی باعث کاهش رادیکال سوپراکسید و مقدار پراکسید هیدروژن از طریق فعال کردن آنزیمهای آنتی اکسیدانی شده، در نتیجه تنش اکسیداتیو را در سلولهای گیاهی کاهش می دهد.

پژوهش حاجی بلند و ابراهیمی(۱۳۹۰) بر روی تاثیر پلی آمین های اگزوژن بر رشد، فتوسنتز و متابولیسم فنل ها در گیاه توتون تحت تنش شوری مشخص کرد که شوری و پلی آمین ها هر دو موجب کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در برگ ها و افزایش آن در ریشه شدند. چنین حالتی در غلظت پایین سرب تحقیق اخیر دیده شده است. در چنین مواردی دفاع آنتی اکسیدانی برای محافظت از سلولها در برابر تاثیرهای خطرناک گونه های اکسیژن فعال وارد عمل می شود. مطالعات انجام گرفته توسط صالح (۲۰۰۱) بیان کرد که آسیب سلولی و آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال آزاد ممکن است منجر به کاهش و یا قطع فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گردد و یا از طرفی میزان آنها را افزایش دهد. بدین ترتیب می توان کاهش و افزایش فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در این آزمایش را توجیه کرد.

تغییرات میزان پرولین

بررسی تجزیه واریانس(جدول ۱) داده ها نشان داد که اثرات سرب بر میزان پرولین در سطح ۱درصد($P<0.01$) و سرب و پوترسین در سطح ۵ درصد معنی دار بود($P<0.05$). نتایج حاصل از سنجش میزان پرولین در گیاه ***Lepidium sativum*** تحت تیمار غلظت های مختلف سرب در مقایسه با شاهد در شکل٤ نشان داده شده است. میزان پرولین در غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار سرب تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند، ولی در غلظت ۲۵۰ میکرومولار سرب میزان پرولین با سه غلظت دیگر تفاوت معنی دار دارد. این در حالی است که در کلیه غلظتهای سرب مورد استفاده، میزان پرولین نسبت به شاهد افزایش داشته است. پوترسین در بعضی از غلظتهای سرب میزان پرولین را کاهش داده است.



شکل٤- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و پوترسین بر میزان پرولین گیاه (*Lepidium sativum*). نتایج میانگین٤ تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها است

زمانی که گیاهان در معرض تنش های غیر زیستی قرار می گیرند، میزان پرولین آن ها افزایش می یابد تا ساختار های سلولی و آنزیمی را در برابر فاکتور های تنش زا حفاظت کند. گزارش شده است که پرولین در غلظت های بالا در بسیاری از گونه های گیاهی تحت تنش های غیر زنده همانند فلزات سنگین، شوری، خشکی، سرما، کمبود مواد غذایی، عفونت ها و اسیدیته بالا تجمع می یابد(یاداو، ۲۰۱۰). پرولین به عنوان یکی از محافظت کننده غشاء بوده و به نظر می رسد افزایش میزان پرولین در کاهش اثرات تنش نقش دارد(کیوسو و همکاران، ۱۹۹٦). کوستا و مورل (۱۹۹٤) دریافتند که پرولین یکی از ترکیبات مهم سیستم دفاعی گیاهان در شرایط تنش است و میزان آن در هنگام تنش و در پاسخ به فلزات سنگین افزایش یافته و تجمع پرولین آزاد در این شرایط در میان گیاهان شایع است. بر این اساس افزایش میزان پرولین تحت تنش فلز سنگین سرب در گیاه *Lepidium sativum* قابل توجیه بوده و با مطالب فوق مطابقت دارد. می توان نتیجه گرفت این گیاه با افزایش میزان پرولین ساختار های سلولی و آنزیمی را در برابر فاکتور های تنش زا حفاظت می کند. شاکیروا و همکاران در سال ۲۰۰۳ به این نتیجه رسیدند که میزان پرولین افزایش یافته احتمالا در نتیجه افزایش آبسیزیک اسید درون زا در شرایط تنش می باشد که باعث القای تولید پرولین می شود با توجه به مطالب فوق می توان گفت پرولین تحمل گیاهان به تنش را از طریق سازوکار هایی مانند تنظیم اسمزی ، حفاظت آنزیم ها دربرابر دناتوره شدن و تثبیت سنتز پروتیین، افزایش می دهد، همچنین ممکن است در شرایط تنش بعنوان یک آنتی اکسیدان عمل کند. بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، پس از افزایش پرولین در اثر تنش سرب، پوترسین با کاهش اثرات تنش میزان پرولین را در اکثر تیمارها کاهش داده است.

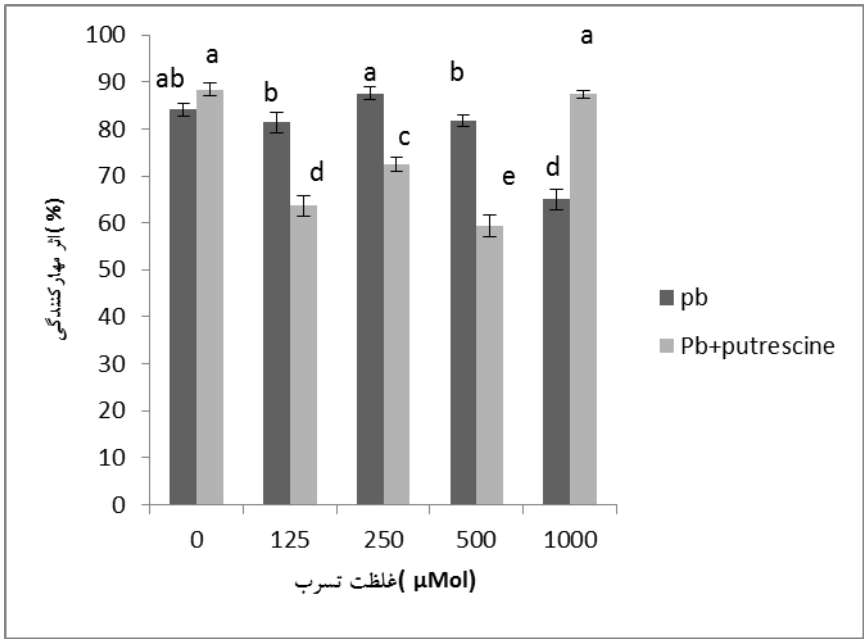
تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی و فنل کل گیاه

بررسی تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثرات سرب بر درصد مهار کنندگی در سطح ۵درصد معنی دار بوده است ($P<0.05$). شکل۵ نشان می دهد که اثر مهار کنندگی در تیمارهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار سرب نسبت به شاهد تفاوتی نداشته ولی در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار سرب نسبت به شاهد کاهش یافته بود. از طرفی بررسی تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثرات سرب و پوترسین بر درصد مهار کنندگی در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است ($P<0.01$). همان طور که در شکل ۵ مشاهده می شود در غلظتهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار سرب، استفاده توأم پوترسین با سرب باعث کاهش درصد مهارکنندگی نسبت به تیمار سرب هم غلظت شده است. شکل ۵ نشان دهنده افزایش درصد مهارکنندگی در تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار سرب نسبت به تیمار سرب در همان غلظت می باشد.

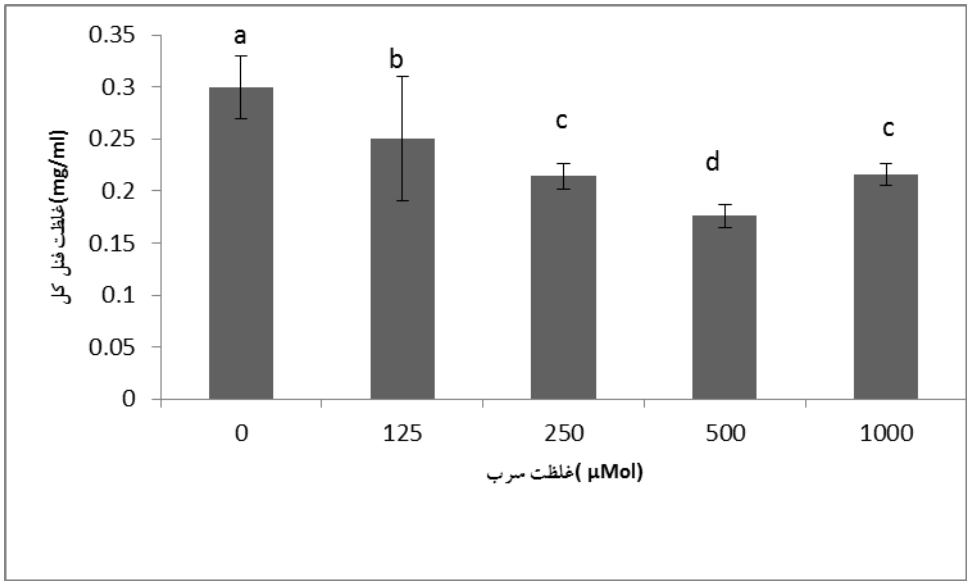
از طرفی بررسی تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثرات سرب بر فنل کل در سطح ۱درصد معنی دار بوده است ($P<0.01$). اما تیمار سرب و پوترسین اثر معنی دار ی بر میزان فنل کل نداشته است(جدول۱). شکل ٦ نشان می دهد که تیمار گیاه با غلظت های مختلف سرب سبب کاهش میزان فنل کل در مقایسه با شاهد شده است. در غلظت ۵۰۰ میکرومولار نسبت به غلظت های دیگر سرب، کاهش بیشتری مشاهده شد.

نتایج شکل۵ نشان داد که گیاه *Lepidium sativum* در غلظت بالا به سرب آنچنان مقاومتی ندارد و قادر به افزایش سطح آنتی اکسیدانها نیست. طی تنش اکسیداتیو، وقایعی درگیاهان صورت می گیرد که عبارت هستند از افزایش تولید ROS، افزایش پراکسیداسیون چربی ها ، که در نتیجه آن افزایش میزان آنتی اکسیدان ها و پرولین است که در نهایت منجر به افزایش تحمل گیاه به تنش می شوند(مبین و همکاران، ۲۰۰۷). گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی بوده می توانند باعث حفاظت سلول ها از آسیب های اکسیداتیو شوند(کوماران و کاروناکاران، ۲۰۰٦).

با آزمایشاتی بر روی برگ آفتابگردان به این نتیجه رسیدند که میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تحت تنش پلی آمین ها و فلزات سنگین کاهش می یابد(گروپا و همکاران، ۲۰۰۱). وایو وهمکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند پوترسین خارجی باعث کاهش سیالیت غشا تحریک شده توسط آسیبهای اکسیداتیو می گردد که نتیجه آن افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی است این اثر در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار دیده می شود.



شکل٥- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح سرب و پوترسین بر ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه (*Lepidium sativum*). نتایج میانگین٤ تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها است



شکل٦- مقایسه میزان فنل کل گیاه (*Lepidium sativum*) تحت تیمار سرب. نتایج میانگین٣ تکرار± انحراف معیار است. حروف نامشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها است

غلظت بالای کبالت موجب افزایش معنی دار محتوی فنل کل شد(گاد ، ۲۰۱۲). با افزایش میزان سرب میزان فنل کل در گیاه *Lepidium sativum* کاهش پیدا کرد که با نتایج فوق مطابقتی ندارد. در این گیاه ترکیبات فنلی نتوانسته حفاظت سلول ها از آسیب اکسیدانیو را باعث شود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که ترکیبات فنلی جز ترکیبات آنتی اکسیدانی این گیاه محسوب نمی گردد زیرا در شرایط تنش میزان فنل گیاه کاهش یافته است. ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه با میزان ترکیبات آنتی اکسیدان ارتباط مستقیم دارد لذا می توان گفت که تنش سرب اثر چندانی بر تولید ترکیبات فنلی در این گیاه نداشته ولی احتمالا باعث سنتز سایر متابولیتهای ثانویه جهت دفاع آنتی اکسیدانی شده است. بر اساس مطالعات انجام گرفته توسط

بلادی و همکاران (۲۰۱۱) افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی منجر به تحمل بیشتر به تنش اکسیداتیو شده که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. کاندان و همکاران (۲۰۰۷) و مورت و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی از عصاره نمی‌باشد. شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان را در همه موارد نشان نمی‌دهد.

نتیجه گیری

در گیاه شاهی تیمار سرب بر طول و وزن خشک تاثیر نداشته ولی وزن تر را کاهش داده، در حالی که با افزودن پوترسین همراه سرب وزن تر افزایش یافت. هنگام بروز تنش اکسیداتیو آنتی اکسیدانهای آنزیمی کاتالاز و پلی فنل اکسیدازفعال شده، ترکیب فنل بعنوان یک آنتی اکسیدان نقش چندانی در مقابله با تنش سرب ندارد. پرولین نیز یکی از ترکیباتی است که هنگام تنش سنتز می شود. به طور کل پوترسین میتواند باعث افزایش اثر آنزیم های آنتی اکسیدانی شود و در سنتز پرولین نیز موثر بوده و تا حدی توانسته آسیب وارد به گیاه را کم کند.

منابع

پروین، پ. و م. خضری. ۱۳۹٤. بررسی اثر محلول پاشی پوترسین بر افزایش تحمل در نهال های گردوی ایرانی(*Juglans regia* L.) به تنش خشکی، علوم باغبانی ایران، جلد٤٦، شماره۱: ۱۰۹– ۹۹.

حاجی بلند، ر.و ن. ابراهیمی. ۱۳۹۰. تاثیر پلی آمین های اگزوژن بر رشد، فتوسنتز و متابولیسم فنل ها در گیاه توتون تحت تنش شوری. مجله زیست شناسی گیاهی، جلد ۳، شماره۸: ۲٦– ۱۳.

خداوردی لو، ح.، م. همایی، ع. لیاقت و س. میر نیا. ۱۳۸٦. ارزیابی کمی امکان پالایش سبز خاک های آلوده به سرب به وسیله شاهی(*Barbarea verna*). علوم کشاورزی. جلد ۱۳، شماره۲: ۳۷۰–۳۵۷.

فرحناکی، ع.، ح. عسگری و م. بختیاری. ۱۳۹۰. بررسی برخی خواص رئولوژیکی هیدروکلوئید دانه گیاه شاهی(*Lepidium sativum*). مجله مهندسی بیوسیستمی ایران. جلد ۱، شماره٤۲: ۱۲۰–۱۱۳.

مقیم، س.،ر. عمو آقایی و ب. شارقی. ۱۳۸۹. نقش حفاظتی پلی آمین‌ها در برابر شوک گرمایی در رشد دانه رست‌های سویا زیست شناسی گیاهی ایران، جلد ۲، شماره٤: ٤۰–۳۱.

نوح پیشه، ز. و خ. منوچهری کلانتری. ۱۳۹۰. اثرات کاربرد متقابل اسپرمیدین و تنش شوری در گیاه فلفل، مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲٤، شماره٦: ۸۵۷–۸٤۸.

وحدتی، م . م .اقدسی و ح .ر. صادقی پور. ۱۳۸۹ .برهمکنش ترهالوز و اسید آسکوربیک در رشد گیاهچه های آرابیدوپسیس. مجله پژوهش های تولید گیاهی. جلد۱۷، شماره٤: ٤۸–۲۷.

Atiya, A. M, E. Poortvliet, R. Stromberg, and A. Yngve. 2011. Polyamines in foods: development of a food database. Food Nutr. Res. 14 (55): 1-15.

Ayas, F.A and A.C. Kadioglu. 1997. Effect of heavy metal (Zn, Cd, Cu, Ni and Mg) on the soluble protein bands of germination *lens esculent* L. Seeds. Turk. J. Bot. 2(21): 85-94.

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

Beladi, M., D. Habibi, A. Kashani, F. Pakneja and T. Nooralvandi. 2011. Phytoremediation of lead and copper by sainfoin (*Onobrychis vicifolia*): Role of antioxidant enzymes and biochemical biomarkers. American-Eurasian J. Agri. & Envir. Sci. 10 (3): 440-449.

Bors, W., C. Langebartels, C.Michel and H.Sandermann, 1989. Polyamines as radical scavengers and protectants against ozone damage. Phytochemistry 28: 1589–95.

Bouchereau A, A .Aziz, F. Larher and J. Martin-Tanguy. 1999 Polyamines and environmental challenges: recent development, Plant Sci 140: 103-125.

Cakmak, I. and W. Horst. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). Plant Physiol. 83:463-468.

Candan, F., J. M. Unlu, B.Tepe, D. Daferera, M. Polissiou, A. H. Sokmen, A. Akpulat. 2007..Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *achillea millefolium* subsp. Millefolium Afa. (Asteraceae) Ethnophama 87: 215-220.

Costa, G. and L. Morel. 1994. Water relation gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce. Plant Physiol. and Bioch. 32: 561-57.

Del Duca, S. and G. Serafini-FracassiniCai. 2014. Senescence and programmed cell death in plants: polyamine action mediated by transglutaminase. Front. Plant Sci. 5(120): 1-17.

Eick, M. J., J. D. Peak, P. V. Brad and J. D. Pesek. 1999. Kinetics of lead absorption/desorption on goethite: residence time effect. Soil Sci. 164: 28-39.

Folgado, R., B. Panis, K. Sergeant, J. Renaut, R. Swennen and J. Hausaman. 2013. Differential Protein Expression in Response to Abiotic Stress in Two Potato Species: *Solanum commersonii* Dun and *Solanum tuberosum L*. Inter. J. Mol. Sci. 14(3): 4912- 4933- --Fornazier, R. F., R. R. Ferreira, G. J. G. Pereira, S. M. G. Molina, and R. J. Smith. 2002. Cadmium stress in sugar cane callus cultures: effect on antioxidant enzymes. Plant Cell Tissu. and Org. Cultu. 71: 125-131.

Gad, N. 2012. Physiological and chemical response of groundnut (*Arachis hypogaea*) to cobalt nutrition. World Appl. Sci. J. 20: 327–335.

Georgiva V. and C. Tasev. 1997. Growth, yield, Lead, Zinc and cadmium content of radish, pea and pepper plants as influenced by level of single and multiple contamination of soil. Bulg. J. Plant Physiol. 23(12): 12-23.

Groppa, M. D., M. L. Tomaro and M.P. Benavides. 2001. Polyamines as protectors against cadmium or copper induced oxidative damage in sunflower leaf discs. Plant Sci. 161: 481-488.

Hajara, E.W. I., A. Z. Bin Sulaiman and A. M. Mimi Sakinah. 2014 .Assessment of heavy metals tolerance in leaves, stems and flowers of *Stevia rebaudiana* Plant. Procedia Envir. Sci. 20: 386-393.

Huang J. W. and S. D. Cunningham. 1996. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. New Phytol. 134: 75–84.

Jiménez-Bremont, J. F., M. Marina, M. D. L. L. Gerrero-González, F. Rossi, D. Sánchez Rangel and M. Rodríguez-Kessler. 2014. Physiological and molecular implications of plant polyamine metabolism during biotic interactions. Front. in Plant Sci. 5(95): 1-14.

John, R., P. Ahmad, K. Gadgil and S. Sharma. 2009. Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. Inter. J. Plant Prod. 3(3): 65-76.

Kar, M. and D. Mishra. 1976. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence Plant Physiol. 57: 315-319.

Kiyosue, T. Y., Yoshiba, K. Yamaguchi-Shinozaki and K. Shinozaki. 1996. Nuclear gene encoding mitochondrial peroline dehydrogenase, an enzyme involved in peroline metabolism, is upregulated by peroline but down regulated by dehydration in Arabidopsis. Plant cell. 8: 1323-1335.

Kopyra, M. and E.A. Gwzdz. 2003. Nitric oxidestimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. Plant Physiol. and Bioch. 41: 1011-1017.

Kubis J. 2005. The effect of exogenous spermidine on superoxide dismutase activity, H2O2 and superoxide radical level in barley leaves under water deficit conditions. Acta Physiol. Plant, 27: 289-95.

Kumaran, A. and R. J. Karunakaran. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. Food Chem. 97: 109-114.

Larbi, A., F. Moral, and A. Abadia. 2003. Effects of Cd and Pb in sugar beet plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition. Funct. plant Biol. 20(12): 1453-1464.

Mobin, M. and N.A. Khan. 2007. Photosynthetic activity pigment composition and antioxidative response of two mustard cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. J. Plant Physiol. 164: 601-610.

Muret, K., K. Sevgi, K. Sengul, U. Esra, B.,Cemalettin and V. Fedra. 2007 Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from Anatolia Food Chem 100(2): 526-534.

Nadkarni, K. M. 1954. *Lepidium sativum* Linn. In the Indian materia with ayurvedic, unani and home remedies, 3rd ed. Bombay, India: Popular Prakashan. 736-737.

Nalilni, P. and P. S. Chandra. 2002. Effect of heavy metals Co^{+2}, Ni^{+2} on growth and metabolism of cabbage. Plant Sci., 163: 753-758.

Nooman, A., F. Khala, K. Aashok, A. Shaky, A. O. Atif and H. F. Zahael-agbar. 2008. Antioxidant activity of some common Plant. Turk. J. Biol. 32: 51- 55.

Prassad, M.N.N. 1997. Trace metals, in: MNV prassad (ed) plant ecophysiology, wiley, New York, PP: 207-249.

Qiao, X., Z. Zheng, L. Zhang, J. Wang, G. Shi and X. Xu. 2015. Lead tolerance mechanism in sterilized seedlings of *Potamogeton crispus* L.: Subcellular distribution, polyamines and proline Chemosphere 120: 179-187.

Saleh, A. A. H. 2001. Effect of Cd and Pb on growth, certain antioxidant enzymes activity, protein profile and accumulation of Cd, Pb and Fe in *Raphanus sativus* and *Eruca sativa* seedlings Egyptian. J. Biol. 3: 131-139.

Serafini-Fracassini D., S. Del Duca, S. Beninati. 1995. Plant transglutaminase. Phytochemistry, 40: 355-65.

Schutzendubel, A. and A. Polle. 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. J. Exp. Bot. 372(53): 1351-1365.

Sfakianaki M., L. Sfichi and K. Kotzabasis. 2006. The involvement of LHCII-associated polyamines in the response of the photosynthetic apparatus to low temperature. J. Photochem. and Photobiol B: Biol. 84: 181-188.

Sgherri و C, E. Cosi and F. Navari-izzo. 2003. Phenol and antioxidative of *Raphanus sativus* grown in copper excess. Physiol. Plant. 21: 118-126.

Shakirova, A. R., D. R. Fatkhutdinova, M. V. Benzrukova and F. M. Shakirova. 2003. Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. Plant Physiol.69: 314- 319.

Sharma, P. and R. S. Dubey. 2005. Lead toxicity in plant. Braz. J. Plant Physiol. 17(1): 35-52.

Shimada, K., K. Fujikawa, K.Yahara and T. Nakamura. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Agri. and Food Chem. 40: 945-948.

Singh, R. P., K. N. Murthy and G. K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of Pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. J. Agri. and Food Chem. 50: 81-86.

Tadolini, B. 1988. Polyamine inhibition of lipid peroxidation: the influence of polyamines in iron oxidation in the presence of compound mimicking phospholipid polar head. Biochem J. 249: 33-36.

Takahashi, T. and J. Kakehi. 2010. Polyamines: ubiquitous polyamins with unique roles in growth and stress responses. Annl. Bot. 105(1): 1-6.

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

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 J Bot. 76(2): 167-179.

Yiu, J. C, L.D. Juang, D. Y. T. Fang, C. W. Liu and S. J. Wu. 2009. Exogenous putrescine reduces flooding-induced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. Sci. Hort. 120: 306–314.

Effect of lead and putresine interactions on cress (*Lipidium sativum*) seedling physiological and biochemical factors

F. Hassanpour Nejad[1], M. Ranjber[2]

Received: 2016-6-14 Accepted: 2016-10-6

Abstract

In the present study, the effects of lead and putrescine on *Lepidium sativum* plant were examined. A factorial experiment was conducted in a completely randomized design with foure replications. Lead nitrate at concentrations of 0, 125, 250 and 1000 micro molar and putresine at concentration of 0 and 1 mM was used. The utilization of lead and putresine increased plant fresh weights compared to lead treatment of same concentration and at a concentration of 500 micromolar fresh weight was10 gr. There was no significant difference between dry weights of treated plants and control. Lead treatment increased polyphenol oxidase (0/8 micromoles per minute per gram fresh weight in 1000 micromolar) and catalase (0/053 micromoles per minute per gram fresh weight in 1000 micromolar) activities. The use of putrescine and lead increased the polyphenol oxidase enzyme activity (0/99 micromoles per minute per gram fresh weight in 125 micromolar) compared to lead treatment of same concentration. The combined use of putresine and lead reduced the amount of proline except at 250 micromolar of lead compared to plants treated in the same concentration of lead. Treatments of lead at concentrations of 125, 250 and 500 micromolar and putrescine, were reduced the percent of inhibition compared to the treatment of lead in the same concentration. Inhibitory percentage was increased on 1000 micromolar of lead. The total phenols were not significant difference under the lead and putrescine treatments. In *Lepidium sativum* under lead stress activated polyphenol oxidase, Proline increasese. Useing putrescine has controlled production of proline by reduction the stress effects

Keywords: antioxidant capacity, antioxidant enzymes, Lead, *Lepidium sativum,* proline, putrescine, total phenols

1- Graduated Student, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2- Professor Assistant, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran