

اثر پیش تیمار دانه‌ها با سالیسیلیک اسید روی سمیت منگنز در گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.)

شهلا هاشمی^{۱*}، زهرا اسرار^۲ و شهرام پورسیدی^۳

*- نویسنده مسئول، کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

پست الکترونیک: shahlahashemi15@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

۳- دانشیار، گروه کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۰

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۹

چکیده

شاهی (*Lepidium sativum* L.) گیاهی دارویی است. این گیاه برای درمان تومور و سرطان سینه به دلیل ویژگی آنتی‌اکسیدانی قابل توجه است. دسترسی منگنز در گیاهان به وسیله فرایندهای ردوکس که به pH خاک و دسترسی الکترون بستگی دارد، کنترل می‌شود. منگنز اضافی متابولیسم گیاه را آشفته و رشد گیاه را مهار می‌کند، همچنین تنش اکسیداتیو القاء می‌کند که منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می‌شود که می‌تواند به سلول گیاه آسیب برساند. سالیسیلیک اسید، سیگنال طبیعی است که نقش مهمی در تنظیم تعدادی از فرایندهای فیزیولوژیکی و مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد. وظیفه حمایتی سالیسیلیک اسید شامل تنظیم رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها، القاء بیان ژن و جذب و پخش عناصر است. در این مطالعه اثر سطح‌های مختلف ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید روی سطوح مختلف ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز در گیاه شاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن سالیسیلیک اسید (۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱) مهار جذب کلسیم و منیزیم القاء شده توسط منگنز اضافی را بهبود می‌بخشد. محتوای آسکوربیک اسید در برگ به وسیله سالیسیلیک اسید (۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱) افزایش و این محتوا در غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ منگنز کاهش یافت. محتوای پرولین به‌طور معنی‌داری در تیمار منگنز و سالیسیلیک اسید افزایش یافت. در غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز محتوای پروتئین کاهش یافت، اما تیمار سالیسیلیک اسید (۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱) محتوای پروتئین را در شرایط سمیت منگنز افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: شاهی (*Lepidium sativum* L.)، آسکوربیک اسید، سالیسیلیک اسید، منگنز.

مقدمه

شاهی یک گیاه علفی بی‌کرک با ساقه راست است که در خیلی از کشورهای جهان انتشار یافته‌است. در هند این گیاه برای درمان آسم، اسهال خونی و خواب‌آلودگی استفاده می‌شود. همچنین در چین دانه‌های شاهی برای درمان دل‌پیچه، آسم، ذات‌الریه، سردرد و تومور مصرف

خانواده شب‌بو یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهیست که شامل ۳۰۰ جنس و ۱۵۰۰ گونه است (Radwan et al., 2007).

گیاه ویگنا و آفتابگردان (Blamey *et al.*, 1999) است. این خال‌های قهوه‌ای رنگ نزدیک انتهای آوند چوبی، نزدیک حاشیه‌های برگ و در مکان‌های بین‌رگبری دیده می‌شود. این خال‌های قهوه‌ای رنگ هر چند محل تجمع منگنز است ولی ماهیت شیمیایی آن دقیقاً بررسی نشده‌است و احتمالاً مربوط به رادیکال‌های ترکیب‌های فنلی که در محل انباشتگی منگنز به مقدار زیاد تجمع می‌کنند، می‌باشد (Heenan & Campbell, 1999). بعضی گیاهان با افزایش آسکوربات از تولید رادیکال‌های فنلی جلوگیری می‌کنند (Shi & Zhu, 2008). آسکوربات یک آنتی‌اکسیدان مهمی است که با احیا شدن از اکسید شدن فنول‌ها جلوگیری می‌کند. سالیسیلیک اسید یک مولکول سیگنالی است که نقشی مهم در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی و مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد (He *et al.*, 2005; Molina *et al.*, 2002). نقش حمایتی سالیسیلیک اسید مربوط به تنظیم رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها، القاء بیان ژن، جذب و پخش عناصر است (Methwelly *et al.*, 2003). براساس نتایج بالا ما اثر پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید را روی سمیت منگنز در گیاه شاهی مورد بررسی قرار دادیم. گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامتی جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماریها برخوردارند. همچنین در سال‌های اخیر، رویکردی همه‌جانبه جهت استفاده از داروهایی با منشأ طبیعی و به‌ویژه گیاهی در جوامع مختلف بوجود آمده‌است، از سوی دیگر ورود عناصر سنگین مثل منگنز به چرخه زندگی انسان باعث عوارضی مانند پارکینسون (Parkinson) و اختلالات ذهنی در کودکان شده (Yang *et al.*, 2008)، در کشور ما به‌خصوص استان

می‌شود (Radwan *et al.*, 2007). شاهی اثر ضدآسکوربوت قوی دارد و به حالت خام در سالاد و یا با اغذیه به‌صورت سبزی خوردن مصرف می‌شود. همچنین شاهی خاصیت اشتهاآور، مدر و تصفیه‌کننده خون دارد (Al-Yahaya *et al.*, 1994). مصرف دانه آن برای تقویت معده، خلط‌آور و ضدالتهاب مصرف می‌شود (Gokavi *et al.*, 2004).

از نظر فراوانی، منگنز پنجمین عنصر در پوسته کره زمین است و در طبیعت به‌صورت آزاد وجود ندارد (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸۴). دسترسی منگنز برای گیاه به‌وسیله فرایندهای ردوکس که به pH و دسترسی الکترون بستگی دارد، کنترل می‌شود (Negra *et al.*, 2005). بدین ترتیب در خاک‌های اسیدی، آتشفشانی و خاک‌هایی که به حالت غرقابی درآمده‌اند، عامل افزایش احیای منگنز باعث تبدیل اشکال مختلف این عنصر به شکل فعال جذبی شده و منجر به مسمومیت می‌شود (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸۴). منگنز یکی از عناصر ضروری و کم‌مصرف در تغذیه گیاهان محسوب می‌شود و به دلیل امکان تبدیل حالت‌های اکسیداسیون آن به یکدیگر، در واکنش‌های اکسایش و احیا نقش مهمی دارد. Lidon و Teixeira (۲۰۰۰) گزارش کردند که سمیت منگنز باعث اختلال در متابولیسم و مهار رشد گردید. Shi و Zhu (۲۰۰۸) گزارش کردند که سمیت منگنز باعث برهم‌زدن تعادل تغذیه‌ای و کاهش آهن، منیزیم و کلسیم در خیار شد. نشانه‌های سمیت منگنز در بین گیاهان مختلف متفاوت است. از جمله مهمترین علائم مسمومیت منگنز در اندام هوایی، توقف رشد، کلروز بین رگبری، کلروز لبه‌ها، نوک برگ، نکروز و پیچ‌خوردگی برگ‌ها در تنباکو (Nable *et al.*, 1988) و ظهور لکه‌های قهوه‌ای در

آنها اعمال گردید و بعد از یک ماه عامل‌های مورد نظر در نمونه‌های گیاهی مورد سنجش قرار گرفتند.

روش اندازه‌گیری پرولین

۰/۰۲ گرم از بافت تازه را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳٪ سولفوسالیسیلیک اسید ساییده و مخلوط یکنواختی تهیه گردید. عصاره حاصل با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی را با ۲ میلی‌گرم معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص مخلوط کرده و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم، قرار گرفت. بعد از این مدت، برای قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردید، سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و لوله‌ها به خوبی تکان داده شد. با ثابت نگه‌داشتن لوله‌ها به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه، دو لایه کاملاً مجزا در آنها تشکیل شد. از لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده گردید. جذب مقدار مشخصی از این ماده رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد، تعیین گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پرولین بر حسب گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید (Bates et al., 1973).

سنجش غلظت پروتئین

به این منظور ۱ گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوی ۳ میلی‌لیتر بافر تریس-HCl با pH= ۷/۵ به‌طور کامل ساییده شد. محلول همگن بدست آمده به لوله سانتریفیوژ منتقل و پس از ۱۰ دقیقه سکون، به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g، سانتریفیوژ گردید. در پایان مرحله

آذربایجان شرقی، خاک‌های غنی از منگنز و معادن فعال این عنصر وجود دارد که محدوده وسیعی از خاک‌های مرتعی و زمین‌های زراعی مجاور این معادن تحت تأثیر غلظت‌های مسموم‌کننده این عنصر قرار می‌گیرد. در پژوهش حاضر تأثیر فلز منگنز بر روی واکنش‌های فیزیولوژیکی شاهی و جذب عناصر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

گیاه مورد آزمایش در این پژوهش گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.) می‌باشد که متعلق به خانواده شب‌بو است. ابتدا بذره‌های شاهی با هیپوکلریت سدیم ۰/۰۵٪ برای ۶ دقیقه ضدعفونی شده و سپس بخوبی با آب مقطر دو بار شسته شد و ۸ ساعت در محلول‌هایی با غلظت‌های (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌مولار) سالیسیلیک اسید به‌طور جداگانه خیسانده شدند. دانه‌های پیش تیمار شده به پتری‌هایی حاوی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ انتقال داده شد. بعد از ۳ روز رشد در دمای ۲۴°C در تاریکی گیاهان هم‌اندازه انتخاب شده و به گلدان‌های پلاستیکی حاوی پرلیت انتقال داده شدند. در طول هفته اول پس از کاشت در گلدان‌ها آبیاری با آب انجام شد. در طول هفته دوم به‌منظور تأمین املاح مورد نیاز گیاه، گلدان‌ها هفته‌ای ۳ مرتبه با محلول غذایی لانگ‌اشتون (NaH_2PO_4 ، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ، KNO_3 ، $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، $\text{Fe EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، NaCl ، $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، H_3BO_3 ، $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ، $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) تغذیه شدند. پس از رشد مناسب گیاهان، تیمارهای ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز روی

اندازه‌گیری یون‌ها در بافت ریشه انجام شد. برای این منظور ۰/۵ گرم از بافت گیاهی خشک را در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده تا نمونه گیاهی به خوبی در اسید هضم شود. بعد از این مدت محلول حاصل را گرم کرده تا بخارات اسیدی از محلول خارج شوند. سپس حجم محلول را با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شد. از محلول بدست آمده برای اندازه‌گیری عناصر مورد نظر، از دستگاه طیف‌نگار جذب اتمی Atomic Absorption Spectrometer مدل Spectra AA 220 ساخت کشور آمریکا استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب یک طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون ANOVA انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۵ و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گردید.

نتایج

مگنز در غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار باعث پیچش برگ‌های جوان و پیر و همچنین لکه‌های قهوه‌ای رنگی در گیاه شد که پیش‌تیمار اسیدسالیسیلیک بخصوص در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار تا حدی باعث بهبودی شد.

نتایج حاصل از مصرف توأم اسیدسالیسیلیک و مگنز بر میزان پرولین در برگ گیاه

تیمار ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار مگنز باعث افزایش محتوای پرولین شده است، اما تیمار ۲۵۰ مگنز روی

سانتریفیوژ، لوله‌ها به آرامی از دستگاه خارج و محلول رویی در چند لوله آزمایش توزیع گردید. سپس عصاره‌های حاصل برای سنجش غلظت پروتئین مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور سنجش غلظت پروتئین به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و سریعاً ورتکس شد. پس از دو دقیقه و قبل از یک ساعت جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1976).

سنجش مقدار اسیدآسکوربیک و اسید دی‌هیدروآسکوربیک

برای سنجش مقدار اسیدآسکوربیک و اسید دی‌هیدروآسکوربیک از روش de Pinto و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد. برای اندازه‌گیری مقدار آسکوربیک اسید و دی‌هیدروآسکوربیک اسید، ۰/۵ گرم بافت تازه وزن شد و در ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۰/۵٪ ساییده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتیفریوژ گردید. سپس به محلول رویی بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار، آلفا-آلفا دی‌پیریدیل ۰/۴٪، محلول $FeCl_3$ اضافه شده و بعد شدت جذب را در طول موج ۵۲۵ نانومتر خوانده شد. برای سنجش اسید دی‌هیدروآسکوربات نیز همین مراحل را انجام داده با این تفاوت که به آن محلول دی‌تیوترایتول هم اضافه نمودیم.

تعیین میزان یون‌های مگنز، منیزیم و کلسیم در ریشه به روش جذب اتمی

به منظور اندازه‌گیری یون‌های مگنز، منیزیم و کلسیم از روش جذب اتمی (Lozak et al., 2002) استفاده شد.

شاهد شده‌است، اما تیمار ۲۵۰ منگنز تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نداشته‌است. تیمار توأم ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ سالیسیلیک اسید و ۵۰۰ و ۸۰۰ منگنز باعث کاهش محتوا شده‌است.

نتایج حاصل از مصرف توأم اسید سالیسیلیک و منگنز بر میزان غلظت منگنز در ریشه

با توجه به شکل ۵ تیمارهای ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار باعث افزایش محتوای منگنز در ریشه شده ولی تیمارهای ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث کاهش محتوای منگنز شده‌است. بالاترین محتوا مربوط به تیمار ۸۰۰ میکرومولار منگنز است.

نتایج حاصل از مصرف توأم اسید سالیسیلیک و منگنز بر میزان غلظت کلسیم در ریشه

با توجه به شکل ۶ تیمارهای ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار باعث کاهش محتوای کلسیم در ریشه شده ولی تیمارهای ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای کلسیم شده‌است. بالاترین محتوا مربوط به تیمار ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و ۰ و ۲۵۰ میکرومولار منگنز است.

نتایج حاصل از مصرف توأم اسید سالیسیلیک و منگنز بر میزان غلظت منیزیم در ریشه

تیمارهای ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای منیزیم در ریشه شده‌است. تیمارهای توأم سالیسیلیک اسید و منگنز هم اثر افزایشی روی محتوا داشته‌است. بالاترین محتوا مربوط به تیمار ۰/۱ سالیسیلیک اسید و ۰ و ۲۵۰ میکرومولار منگنز است (شکل ۷).

محتوای پرولین تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان نداده‌است. تیمار ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای پرولین نسبت به تیمار شاهد شده‌است، همچنین تیمار توأم سالیسیلیک اسید و منگنز باعث افزایش محتوای پرولین شده‌است (شکل ۱).

نتایج حاصل از مصرف توأم اسید سالیسیلیک و منگنز بر میزان پروتئین کل در برگ گیاه

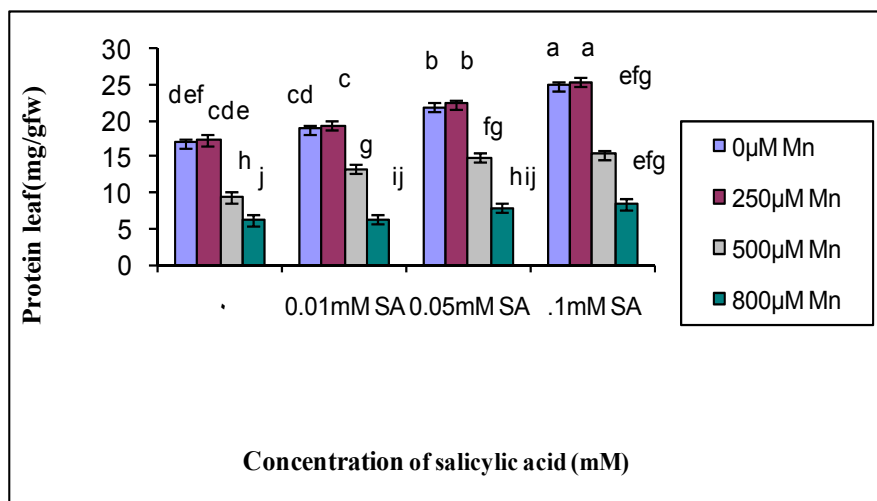
با توجه به شکل ۲ تیمار ۵۰۰ و ۸۰۰ منگنز باعث کاهش پروتئین می‌شود، اما تیمار ۲۵۰ منگنز تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشته‌است. تیمار ۰/۱ و ۰/۰۵ سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای پروتئین در گیاه شده‌است. همچنین تیمار توأم سالیسیلیک اسید و منگنز باعث افزایش محتوای پروتئین در برگ شده‌است.

نتایج حاصل از مصرف توأم اسید سالیسیلیک و منگنز بر محتوای آسکوربیک اسید

تیمار ۲۵۰ منگنز باعث افزایش محتوای آسکوربیک اسید نسبت به تیمار شاهد شد، اما تیمار ۵۰۰ و ۸۰۰ منگنز باعث کاهش محتوا شده‌است. تیمار ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ باعث افزایش محتوا شده اما تنها تیمار توأم ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ سالیسیلیک و ۲۵۰ منگنز باعث افزایش محتوای آسکوربیک شده و تیمارهای توأم ۵۰۰ و ۸۰۰ منگنز و سالیسیلیک اسید تفاوت معنی‌داری نداشته‌است.

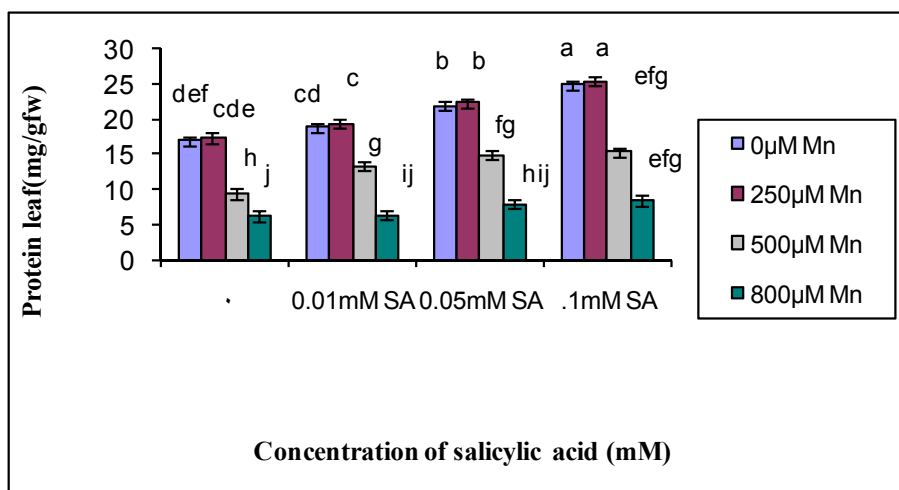
نتایج حاصل از مصرف توأم اسید سالیسیلیک و منگنز بر محتوای دهیدروآسکوربیک اسید

با توجه به شکل ۴ تیمار ۵۰۰ و ۸۰۰ منگنز باعث افزایش محتوای دهیدروآسکوربیک اسید نسبت به تیمار



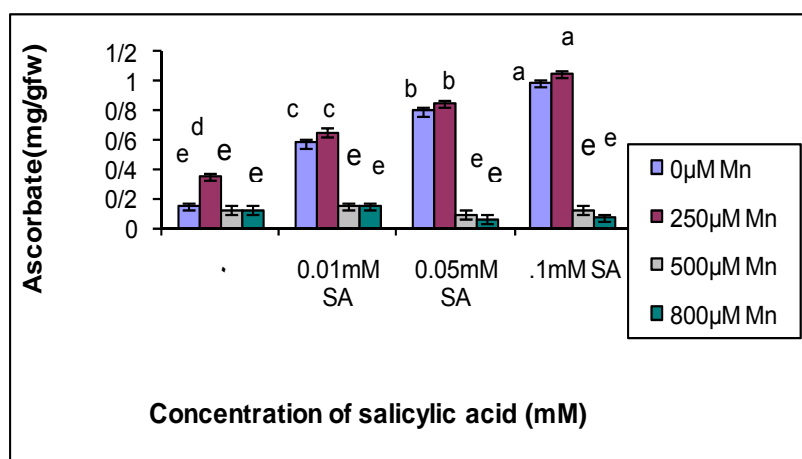
شکل ۱- مقایسه میانگین‌های پروتئین برگ به روش دانکن ($p \leq 0.05$) با تغییر در سطوح مختلف اسید سالیسیلیک و منگنز

*: حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است.



شکل ۲- مقایسه میانگین‌های پروتئین برگ به روش دانکن ($p \leq 0.05$) با تغییر در سطوح مختلف اسید سالیسیلیک و منگنز

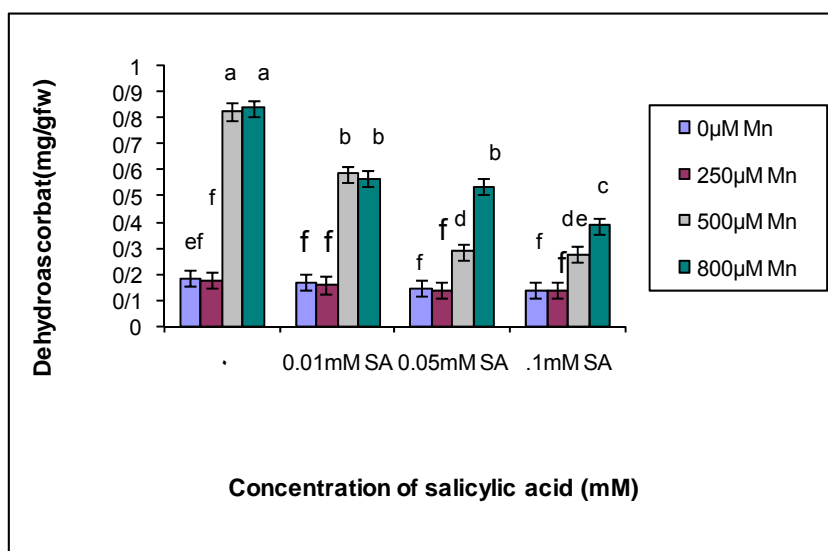
*: حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است.



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های آسکوربات به روش دانکن ($p \leq 0.05$) با تغییر در سطوح مختلف

اسید سالیسیلیک و منگنز

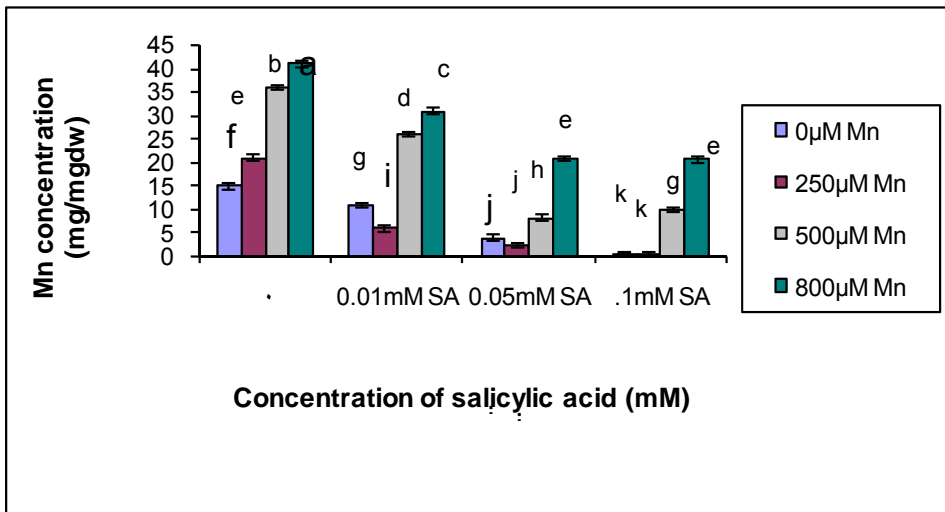
*: حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است.



شکل ۴- مقایسه میانگین‌های دهیدروآسکوربات به روش دانکن ($p \leq 0.05$) با تغییر در سطوح مختلف

اسید سالیسیلیک و منگنز

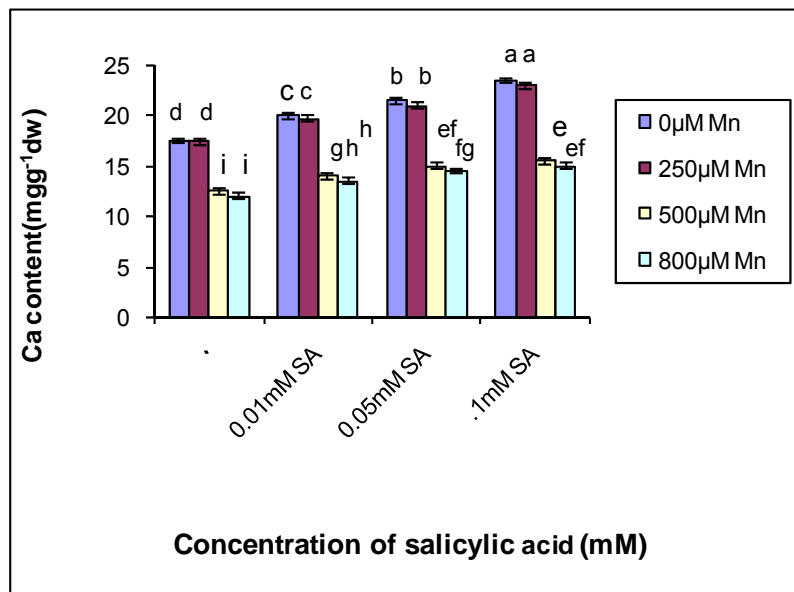
*: حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است.



شکل ۵- مقایسه میانگین‌های محتوای منگنز در ریشه به روش دانکن ($p \leq 0.05$) با تغییر در سطوح مختلف

اسید سالیسیلیک و منگنز

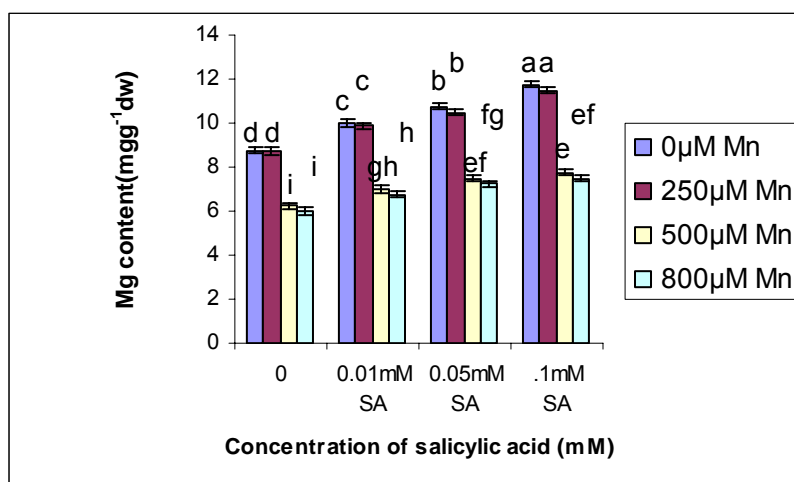
*: حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است.



شکل ۶- مقایسه میانگین‌های محتوای کلسیم در ریشه به روش دانکن ($p \leq 0.05$) با تغییر در سطوح مختلف اسید

سالیسیلیک و منگنز

*: حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است.



شکل ۷- مقایسه میانگین‌های محتوای منیزیم در ریشه به روش دانکن ($p \leq 0.05$) با تغییر در سطوح مختلف اسید سالیسیلیک و منگنز

*: حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

بحث

سالیسیلیک اسید با کاهش میزان تنش اکسیداتیو و افزایش مقدار پرولین در حفاظت از غشاها و اندامک‌های سلولی از جمله ماشین پروتئین‌سازی سلول و ساختار پروتئین‌ها و آنزیم‌ها موفق عمل کرده و از اکسیداسیون یا تجزیه آنها کاسته است. آسکوربات از آنتی‌اکسیدان‌های مهم سلولی است که با واکنش‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در حذف گونه‌های فعال اکسیژن شرکت می‌کند. تیمار ۲۵۰ میکرومولار منگنز باعث افزایش محتوای آسکوربات و کاهش محتوای دهیدروآسکوربات و تیمار ۵۰۰ و ۸۰۰ منگنز باعث کاهش محتوای آسکوربات و افزایش دهیدروآسکوربات شده است و همچنین تیمار توأم سالیسیلیک اسید و منگنز باعث افزایش محتوای آسکوربات در گیاه شده است. Shi و Zhu (۲۰۰۸) گزارش کردند که تیمار منگنز باعث کاهش محتوای آسکوربات و افزایش دهیدروآسکوربات و تیمار توأم سالیسیلیک اسید و منگنز باعث افزایش محتوای آسکوربات در خیار

سمیت منگنز باعث کاهش پروتئین در غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز شده است. Khudsar و همکاران (۲۰۰۱) کاهش میزان پروتئین کل با افزایش کادمیوم را گزارش کردند. در این بررسی، سالیسیلیک اسید موجب افزایش مقدار پروتئین در شرایط کنترل و تنش گردید. البته گزارش‌هایی نیز مبنی بر کاهش مقدار پروتئین‌ها تحت تأثیر سالیسیلیک اسید وجود دارد (El-Tayeb, 2005; Pancheva *et al.*, 1996). تأثیر سالیسیلیک اسید بر افزایش مقدار نیترات و افزایش فعالیت آنزیم نیترات‌رداکتاز و محافظت از این آنزیم برابر غیرفعال شدن نیز از دلایل افزایش مقدار پروتئین در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید ذکر شده است (Rane *et al.*, 1995). پرولین آزاد در گیاه یکی از شاخص‌های تنش‌های محیطی است. سمیت منگنز باعث افزایش پرولین در غلظت ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار شده است. در این بررسی به‌نظر می‌رسد که

- stress studies. *Journal of Plant and Soil Science*, 39: 205-207.
- Blamey, F.P.C., Joyce, D.C., Edwards, D.G. and Asher, C.J., 1999. Role of trichomes in sunflower tolerance to manganese toxicity. *Journal of Plant and Soil Science*, 91(2): 171-180.
 - Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
 - de Pinto, M.C., Francis, D. and Gara, L., 1999. The redox state of ascorbate-dehydroascorbate pairs a specific sensor of cell division in tobacco By-Z cells. *Journal of Protoplasma*, 209(1-2): 90-97.
 - El-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Journal of Plant Growth Regulation*, 45(3): 215-224.
 - Gokavi, S.S., Malleshi, N.G. and Guo, M., 2004. Chemical composition of garden cress (*Lepidium sativum*) seeds and its fractions and use of bran as a functional ingredient. *Plant Foods for Human Nutrient*, 59(3): 105-111.
 - He, Y., Liu, Y., Cao, W., Huai, M., Xu, B. and Huang, B., 2005. Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. *Journal of Crop Science*, 45(3): 988-995.
 - Heenan, D.P. and Campbell, L.C., 1999. Influence of potassium and manganese on growth and uptake of magnesium by soybeans. *Journal of Plant and Soil Science*, 61(3): 447-456.
 - Khudsar, T., Mahmooduzzafar, M. and Iqbal, M., 2001. Cadmium induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in *Cajanus cajan*. *Journal Biologia Plantarum*, 44: 59-64.
 - Lidon, F.C. and Teixeira, M.G., 2000. Oxy radical production and control in the chloroplast of Mn-treated rice. *Journal of Plant and Soil Science*, 152: 7-15.
 - Lozak, A., Soltyk, K., Ostapczuk, P. and Fijałka, Z., 2002. Determination of selected trace elements in herbs and their influence. *Science of The Total Environment*, 289: 33-40.
 - Methwelly, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K.J., 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in Barley seedlings. *Plant Physiology*, 132: 272-281.
 - Molina, A., Bueno, P., Marfan, M.C., Rodrguez-Rosales, M.P., Belver, A., Venema, K. and Donaire, J.P., 2002. Involvement of endogenous salicylic acid content, lipoxygenase and antioxidant enzyme activities in the response of

شده است. با توجه به این که شعاع یونی منگنز بین دو عنصر کلسیم و منیزیم قرار دارد، در تعدادی از واکنش‌ها جایگزین این دو عنصر می‌گردد (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸۴). در شرایط عرضه مازاد منگنز، این عنصر به‌طور مؤثر در اتصال به جایگاه‌های جذب در ریشه با منیزیم و کلسیم رقابت می‌کند (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸۴). افزایش جذب منیزیم و کلسیم در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به دلیل اثر القایی سالیسیلیک اسید روی آنزیم H^+ -ATPase است. آنزیم H^+ -ATPase در غشای پلاسمایی نقشی مهم در انتقال غیرمستقیم یون‌ها دارد. همچنین مدارکی مبنی بر اثر القایی سالیسیلیک اسید روی این آنزیم در خیار وجود دارد (Shi & Zhu, 2008). بنابراین در این طرح مشخص شد که پیش‌تیمار ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث کاهش اثرهای مخرب منگنز در غلظت‌های بالا با کاهش جذب این عنصر (منگنز در غلظت بالا باعث بیماری پارکینسون و کاهش و اختلالات ذهنی می‌شود) و افزایش میزان آسکوربات (آنتی‌اکسیدان در گیاه و انسان) و عنصر کلسیم (عنصر ضروری در گیاه و انسان) در گیاه شاهی شد.

منابع مورد استفاده

- حاجی بلند، ر. و خسروپناه، م.ک.، ۱۳۸۴. تحمل مسمومیت منگنز در گیاهان آفتابگردان، برنج و ذرت در شرایط آب‌کشتی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۹(۴): ۹۱-۱۰۸.
- Al-Yahaya, M.A., Mossa, J.S., Aggl, A.M. and Rafatullah, S., 1994. Pharmacological and safety evaluation studies on *Lepidium sativum* L., seeds. *Phytomedicine*, 1(2): 155-159.
- Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water

- M.M., 2007. Investigation of glucosinolates of *Lepidium sativum* growing in Egypt and their biological activity. *Journal of Medicine Science*, 2: 127-132.
- Rane, J., Lakkineni, K.C., Kumar, P.A. and Abrol, Y.P., 1995. Salicylic acid protects nitrate reductase activity of wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 22: 119-121.
 - Shi, Q. and Zhu, Z., 2008. Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. *Environmental and Experimental Botany*, 63: 317-326.
 - Yang, S.X., Deng, H. and Li, M.S., 2008. Manganese uptake and accumulation in a woody hyperaccumulator, *Schima superba*. *Plant Soil Environment*, 10(2): 441-446.
 - tomato cell suspension cultures to NaCl. *New Phytologist*, 156(3): 409-415.
 - Nable, R.O., Houtz, R.L. and Cheniae, G.M., 1988. Early inhibition of photosynthesis during development of manganese toxicity in tobacco. *Plant Physiology*, 86(4): 1136-1142.
 - Negra, C., Ross, D.S. and Lanzirrotti, A., 2005. Oxidizing behavior of soil manganese: interactions among abundance, oxidation state, and pH. *Soil Science Society America Journal*, 69: 87-95.
 - Pancheva, T.V., Popova, L.P. and Uzunova, A.M., 1996. Effect of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. *Journal of Plant Physiology*, 149: 57-63.
 - Radwan, H.M., El-ssiry, M.M., Al-Said, W.M., Ismail, A.S., Shafeek, K.A.A. and Seif-El-Nasr,

The effect of seed pretreatment with salicylic acid on manganese toxicity in *Lepidium sativum* L.

Sh. Hashemi^{*1}, Z. Asrar² and Sh. Pourseyedi³

1*- Corresponding author, Department of Biology, University of Shahid Bahonar Kerman, Kerman, Iran
E-mail: shahlahashemi15@yahoo.com

2- Department of Biology, University of Shahid Bahonar Kerman, Kerman, Iran

3- Department of Agriculture, University of Shahid Bahonar Kerman, Kerman, Iran

Received: August 2010

Revised: March 2011

Accepted: May 2011

Abstract

Lepidium sativum L. is known as a medicinal plant. This plant is regarded as a cure for breast cancer due to antioxidant properties. The availability of manganese (Mn) in plants is governed by redox processes which depend upon pH and the presence of electrons. Excess Mn disturbs the metabolism of plants and inhibits the plant growth and oxidative stress is also induced which leads to the formation of reactive oxygen species (ROS) including superoxide, hydroxyl and hydrogen peroxide that could damage plant cells. Salicylic acid (SA) is a natural signal molecule which plays an important role in regulating a number of physiological processes and plant resistance to biotic and abiotic stresses. The protective function of SA includes the regulation of ROS, antioxidants, induction of gene expression, absorption and distribution of elements. In this investigation, the effects of different levels of salicylic acid (0, 0.01, 0.05, 0.1mM) on different concentrations of Mn (0, 250, 500, 800 μ M) were studied on *Lepidium sativum*. Results showed that addition of SA (0.01, 0.05, 0.1mM) improved the inhibition of induced calcium and magnesium uptake. Ascorbate content in leaf was increased by SA (0.01, 0.05, 0.1mM) but decreased by concentrations of 500 and 800 μ M Mn. The proline content significantly increased in treatments of Mn and SA. The protein content decreased by 500 and 800 μ M but the treatment of SA (0.01, 0.05, 0.1mM) increased the protein content under conditions of manganese toxicity.

Key words: *Lepidium sativum* L., ascorbate, salicylic acid, manganese.