

اثرات پیش تیمار با سالیسیلیک اسید و نانو سیلیسیم بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد و فیزیولوژیکی گیاه مرزه تحت شرایط تنش عنصر سنگین سرب

حسن ملکی لجایر^۱، سمیه سلطان‌زاده‌پرمهر^۲، موسی ترابی‌گیگلو^{۱*}، یونس پوربیرامی‌هیر^۱ و اسماعیل چمنی^۲

۱- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول: m.torabigilou@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۹)

چکیده

این پژوهش شامل دو آزمایش با هدف بررسی تأثیر پیش تیمار بذر با اسید سالیسیلیک و نانو ذرات سیلیسیم بر جوانه‌زنی، رشد و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاهچه مرزه در شرایط تنش عنصر سرب به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۸ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل پیش تیمار بذر مرزه با غلظت‌های صفر، ۰/۵، یک و دو میلی مولار سالیسیلیک اسید و غلظت‌های صفر، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی مولار نانو ذرات سیلیسیم و کشت بذور در شرایط آلودگی با غلظت‌های صفر، دو، چهار، شش و هشت میلی گرم در لیتر عنصر سرب بودند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب، شاخص‌های سرعت و درصد جوانه‌زنی، وزن خشک ساقه‌چه، شاخص طولی و وزنی گیاهچه کاهش و محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (پراکسیداز و کاتالاز) افزایش یافتند. همچنین بیشترین درصد جوانه‌زنی (۷۴/۷۵)، شاخص وزنی (۱۴۰۳/۵) و سرعت جوانه‌زنی (۸۷/۷) از پیش تیمار سالیسیلیک اسید و بیشترین وزن خشک ساقه (۸/۲۵ میلی گرم در بوته) و شاخص طولی (۸۶۵/۷) از پیش تیمار نانو سیلیسیم هر دو در شرایط بدون آلودگی سرب به دست آمدند. بیشترین محتوای پرولین، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز از پیش تیمار نانو سیلیسیم در بیشترین غلظت آلودگی سرب (هشت میلی گرم در لیتر) حاصل شدند. با توجه به داده‌های به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که پیش تیمار بذور با سالیسیلیک اسید و نانو ذرات سیلیسیم می‌تواند سمیت فلزات سنگین را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، شاخص‌های جوانه‌زنی، فلزات سنگین، نانو ذرات.

مقدمه

به دلیل ایجاد سمیت در خاک‌های کشاورزی می‌تواند تولید گیاهان زراعی به خصوص گیاهان دارویی را تحت تأثیر قرار داده و منجر به کاهش رشد، عملکرد و کیفیت این گیاهان شود (Faghieh & Abdollahi et al., 2013). وقتی گیاهان در

آلودگی خاک و تجمع فلزات سنگین در محصولات کشاورزی یکی از مسائل زیست‌محیطی است که زندگی گیاهان، حیوانات و انسان را تهدید می‌کند (Hoodaji & Jalalian, 2004). تجمع این فلزات

غیرفعال شدن انواع گونه‌های اکسیژن فعال از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش محیطی، اشاره کرد (Ansari et al., 2012).

از جمله ترکیبات مهمی که برای پیش‌تیمار بذر به‌کار می‌رود، اسید سالیسیلیک می‌باشد که به گروهی از ترکیبات فنولی تعلق دارد و به‌عنوان یک مولکول مهم برای تعدیل پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی شناخته شده است. مشخص شده است که سالیسیلیک اسید در شکوفا شدن جوانه‌ها، نفوذپذیری غشاء، بسته شدن روزنه‌ها، انتقال مواد فتوسنتزی، سرعت رشد و جذب یون‌ها، اثر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مهار سنتز اتیلن تأثیرگذار است (Shakirova et al., 2003). اسید سالیسیلیک همچنین به‌عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در واکنش‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است (Senaratna, 2000)، علاوه بر این، بسته به غلظت به‌کار رفته، گونه گیاهی، دوره‌ی رشدی و شرایط محیطی، اسید سالیسیلیک اثرات متفاوتی روی فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی نظیر شروع برخی فرآیندها و ممانعت برخی دیگر دارد (Ahmad et al., 2000).

سیلیسیم نیز یکی از عناصر مفیدی است که نقش مهمی در کاهش اثرات مضر تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد و این اثرات مهم به‌طور عمده به انباشت بالای سیلیسیم در سطح بافت نسبت داده می‌شود (Ma, 2006). سیلیسیم نمی‌تواند یک عنصر ضروری برای رشد گیاه باشد. با این وجود، صرف‌نظر از ضرورت آن، گزارش شده است که اثرات زیان‌آور تنش‌های زیست‌محیطی مانند خسارت آفات و بیماری‌های گیاهی را کاهش می‌دهد (Epestein & Bloom, 2005).

مرزه (*Satureja hortensis* L.) گیاهی علفی و یک‌ساله از تیره نعنائیان (Lamiaceae) است که

معرض تنش فلزات سنگین قرار می‌گیرند، رادیکال‌های آزاد مانند رادیکال (O₂) و هیدروژن پراکسید (H₂O₂) و رادیکال هیدروکسید (-OH) می‌توانند اثرات زیان‌آوری روی متابولیسم طبیعی داشته باشند که منجر به پراکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک‌اسیدها شود. سمیت و تحمل به تنش فلزات سنگین از یک گیاه به گیاه دیگر متفاوت است (Huang et al., 2014).

آلودگی محیط‌زیست با یون‌های فلز سمی، به‌ویژه فلزات سنگین گسترش یافته و به‌عنوان نگرانی (اقتصادی، بهداشتی و سلامتی) به‌خاطر تأثیر در مسئله سلامتی انسان و زنجیره منابع غذایی و توزیع آن در منابع آبی، نیازمند توجه بیشتری است (Houston, 2007).

جوانه‌زنی بذر به‌خصوص در زمان مواجهه با تنش‌های محیطی، یکی از بحرانی‌ترین مراحل زندگی گیاه به‌شمار می‌رود (Cavusoglu & Kabar, 2010). به‌نظر می‌رسد در صورت عبور بذر از مرحله جوانه‌زنی در شرایط تنش، گیاهچه‌های حاصل شانس بیشتری برای ادامه رشد و توسعه داشته و توانایی بالاتری جهت تحمل و غلبه بر شرایط نامساعد محیطی خواهند یافت (Farhoodi & Sharifzadeh, 2010).

پیش‌تیمار بذر روشی معمول برای بهبود بخشیدن به جوانه‌زنی و سبز شدن بذرها در شرایط تنش محیطی مانند تنش فلزات سنگین است که موجب افزایش مقاومت گیاهچه‌ها به تنش‌های یاد شده می‌شود (Zanganeh et al., 2018). از جمله فواید پیش‌تیمار بذر می‌توان به موارد: افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی و سبز شدن، بهبود استقرار گیاهچه‌ها حتی در شرایط نامساعد محیطی، بازسازی و ترمیم سلول‌های آسیب‌دیده، افزایش تحمل به تنش‌های محیطی در مرحله‌ی جوانه‌زنی و سبز شدن، افزایش قدرت بذر و گیاهچه‌ها، حذف و

منشأ آن شرق مدیترانه و جنوب اروپاست. گیاه مرزه یکی از گیاهان مهم به‌شمار می‌آید که از دیرباز به‌دلیل دارا بودن خواص مفید دارویی، مورد استفاده بشر بوده است (Sefidkon *et al.*, 2006). مهمترین ترکیب اسانس در پیکره رویشی این گیاه کارواکول است که دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچ و ضد اکسیدان می‌باشد (Leak *et al.*, 2003).

مطالعات زیادی در رابطه با اثر پیش‌تیمار بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها انجام شده است. پیش‌تیمار بذر با اکسین و سالیسیلیک اسید باعث بهبود جوانه‌زنی بذر گیاه مرزه در شرایط تنش شوری و خشکی شده (Senjeri *et al.*, 2016) و تنش خشکی (Yazdanpanah *et al.*, 2010) شده است.

هدف از آزمایش‌های انجام گرفته بررسی کاربرد اسید سالیسیلیک و نانو ذرات سیلیسیم به‌صورت پیش‌تیمار بذرها در کاهش اثرات ناشی از تنش فلزات سنگین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و اعمال تیمارها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۸ انجام شد. فاکتور اول شامل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و نانوذرات سیلیسیم و فاکتور دوم غلظت‌های مختلف عنصر سرب بود.

جهت اعمال پیش‌تیمار آبی، ابتدا بذور مرزه (از شرکت پاکان بذر) در آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور (ZF240) با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد خیس‌انده شدند. سپس بذور پیش‌تیمار شده در محیط آزمایشگاه در دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. در آزمایش اول برای

اعمال پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک در غلظت‌های (صفر، ۰/۵، یک و دو میلی‌مولار) و در آزمایش دوم پیش‌تیمار بذور با نانو ذرات سیلیسیم در غلظت‌های (صفر، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌مولار) به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بذور پیش‌تیمار شده در محیط آزمایشگاه در دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. جهت انجام آزمون جوانه‌زنی، ابتدا چهار تکرار ۵۰ بذری به‌طور تصادفی از هر نمونه جدا گردیده و در داخل پتری دیش روی کاغذ صافی کشت شدند. جهت اعمال تنش سرب (غلظت‌های صفر، دو، چهار، شش و هشت میلی‌گرم در لیتر) به‌مقدار مساوی به پتری‌دیش‌ها اضافه شد. سپس نمونه‌ها به ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

اندازه‌گیری صفات

تعداد بذور جوانه‌زده به‌صورت روزانه تا روز دهم شمارش گردیده، ظهور ریشه‌چه به‌اندازه دو میلی‌متر به‌عنوان معیاری برای جوانه‌زنی بذرها در نظر گرفته شد. در پایان آزمایش، درصد جوانه‌زنی آن‌ها تعیین شد (Ellis & Roberts, 1980).

طول گیاهچه‌ها با استفاده از خط‌کش با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری شد. در پایان، جهت تعیین وزن خشک گیاهچه‌ها از هر تیمار و تکرار به‌صورت جداگانه در پاکت‌های کاغذی گذاشته شده و در آون (مدل Binder FD56) با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. پس از پایان مدت مذکور، نمونه‌های هر پاکت با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شدند. پس از پایان دوره ۱۰ روزه آزمایش و اندازه‌گیری طول گیاهچه‌های نرمال و اندازه‌گیری وزن خشک آن‌ها، شاخص طولی و وزنی قدرت با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Ellis & Roberts, 1980).

- رابطه (۱) وزن خشک گیاهچه × درصد جوانه‌زنی = شاخص وزنی قدرت
 رابطه (۲) طول گیاهچه × درصد جوانه‌زنی = شاخص طولی قدرت
 رابطه (۳) ۱۰۰ × تعداد کل بذرها / تعداد بذریه‌های جوانه‌زده = درصد جوانه‌زنی بذر

دور ۱۴۰۰۰ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. از این عصاره برای سنجش آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز استفاده شد (Beauchamp & Fridovich, 1971). بافر H_2O_2 به مقدار ۴۹۵ میکرو لیتر و بافر گایاکول به همان مقدار در دمای پایین (ظرف حاوی یخ) با هم مخلوط گردید و به آن ۱۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و منحنی جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Genway 6705) قرائت شد. در محلول بلانک به جای عصاره آنزیمی، ۱۰ میکرو لیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH= 7) استفاده شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از فرمول قانون بیر لامبرت و با ضریب خاموشی گایاکول پراکسیداز $26/6 \mu M^{-1} cm^{-1}$ محاسبه شد و فعالیت آنزیم پراکسیداز در نهایت بر حسب میکرومول در گرم وزن تر برگ در دقیقه محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر برای مدت زمان یک دقیقه انجام شد. بلانک (با حجم ۰/۵ میلی لیتر) حاوی ۴۹۵ میکرو لیتر از بافر (حاوی بافر پتاسیم فسفات، EDTA ۰/۱ میلی مولار و H_2O_2 ۱۰ میلی مولار) و پنج میکرو لیتر بافر فسفات بود، (از محلول بلانک برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید) نمونه (با حجم ۰/۵ میلی لیتر)، که حاوی ۴۹۵ میکرو لیتر از بافر و پنج میکرو لیتر از عصاره آنزیمی بود پس از به هم زدن (گذاشتن پارافیلیم بر روی کووت و یک بار کووت را سروته کردن)، سرعت واکنش آنزیمی به صورت

سرعت جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد:
 رابطه (۴)
$$\bar{R} = \frac{\sum n}{\sum D.n}$$

در این رابطه \bar{R} میانگین سرعت جوانه‌زنی، D تعداد روزهای سپری شده از شروع آزمایش و n تعداد بذور جوانه‌زده در روز مورد نظر می‌باشد.

اندازه‌گیری مقدار پرولین

غلظت پرولین به روش Beats (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۵ گرم بافت با نیتروژن مایع در داخل هاون آسیاب گردید و به آن ۱۰ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۱۰ درصد اضافه شد. این مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره دو عبور داده شد. سپس به دو میلی لیتر از محلول صاف شده دو میلی لیتر از معرف ناین‌هیدرین و دو میلی لیتر استیک اسید اضافه گردید؛ و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. واکنش با گذاشتن داخل یخ متوقف شد. سپس چهار میلی لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه ورتکس شد. جذب نوری محلول قرمز رنگ فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکترومتر (Genway 6705) قرائت گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

به منظور استخراج و اندازه‌گیری آنزیم‌ها، به مقدار ۰/۵ گرم از پودر بافت برگی آسیاب شده یک میلی لیتر از بافر استخراج افزوده و ورتکس شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ، عصاره رویی به میکروتیوب‌های جدید منتقل شدند و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با

تغییرات جذب بر زمان (OD/min) در طول موج ۲۴۰ نانومتر برای یک دقیقه ثبت گردید. فعالیت آنزیمی با ضریب خاموشی $40 \mu\text{M}^{-1}\text{c}^{-1}\text{m}$ محاسبه شد.

داده‌های آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS 9.1 تجزیه آماری شده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج هر دو آزمایش نشان داد که با افزایش میزان غلظت سرب در همه تیمارها، درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید و نانو سیلیسیم نیز اثرات منفی تنش شوری را تا حدی تعدیل کردند. در آزمایش اول، بیشترین درصد جوانه‌زنی (۷۴/۷۵ درصد) در تیمار بدون تنش سرب و غلظت دو میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و کمترین مقدار آن (۵۴/۵ درصد) در تیمار هشت میلی‌گرم سرب و صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌دست آمد. در آزمایش دوم، بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۸ درصد) در غلظت‌های ۰/۱۵ میلی‌مولار نانو سیلیسیم و دو میلی‌گرم سرب و همچنین در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار نانو سیلیسیم و بدون تنش سرب حاصل شد و کمترین مقدار (۳۵/۵ درصد) در تیمار هشت میلی‌گرم سرب و صفر میلی‌مولار نانو سیلیسیم به‌دست آمد (جدول‌های ۱ و ۲).

وجود فلزات سنگین در محیط جوانه‌زنی به‌دلیل نفوذ سریع به داخل بذر همراه با آب از طریق تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مهم از جمله تنفس و ممانعت از تقسیم سلول‌ها، سبب اختلال در رشد گیاهچه می‌شود (Marquez Garsia *et al.*, 2013)؛ که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد.

مطالعات زیادی در رابطه با تأثیر پیش‌تیمار در جلوگیری از نقش عناصر سنگین بر جوانه‌زنی انجام شده است. Shekari و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که پیش‌تیمار بذر کلزا با اسید سالیسیلیک سبب بهبود جوانه‌زنی این گیاه در شرایط تنش شده است. همچنین گزارش شده است که سیلیسیم باعث شده تا جذب و جابجایی عنصر سرب در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) کاهش و عملکرد گیاه در شرایط سمیت عنصر سرب افزایش یابد (Imtiaz *et al.*, 2016). در واقع احتمالاً پیش‌تیمار بذر باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذرها می‌شود (Varier *et al.*, 2010)، این آنزیم‌ها فرآیند پراکسیداسیون لیپید طی جوانه‌زنی را کاهش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند (Mahmoudi *et al.*, 2017).

سرعت جوانه‌زنی

نتایج در آزمایش اول نشان داد که بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار بدون تنش سرب و بیشترین غلظت سالیسیلیک اسید (دو میلی‌مولار) حاصل شد و کمترین سرعت جوانه‌زنی در غلظت هشت میلی‌گرم سرب و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌دست آمد. در آزمایش دوم، بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار بدون تنش سرب و غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار نانو سیلیسیم و کمترین در غلظت هشت میلی‌گرم سرب و صفر میلی‌مولار نانو سیلیسیم حاصل شد؛ که کاهش قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به آزمایش اول داشت. به‌طور کلی در تمام تیمارها با افزایش غلظت سرب سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت و پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید و نانو سیلیسیم اثر منفی فلز سرب را کمتر کردند (جدول‌های ۱ و ۲).

افزایش سرعت جوانه‌زنی در اثر اعمال پیش‌تیمار بذر نشان دهنده افزایش قدرت بذرهای پیش‌تیمار شده در شرایط تنش و عدم تنش است که سبب بهبود سرعت رشد گیاهان، افزایش کیفیت و عملکرد آن‌ها

مطابقت دارد. در ارتباط پیش‌تیمار نانو سیلیسیم پژوهشگران مشاهده کردند که سرعت جوانه‌زنی و فعالیت‌های جوانه‌زنی سویا (*Glycine max*) با استفاده از پیش‌تیمار نانو اکسید سیلیسیم افزایش قابل توجهی داشت (Lee et al., 2010).

می‌شود (Ghasemi-Golezani et al., 2009) در پژوهشی پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک اسید سبب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی بذر ماریتیغال (*Silybum marianum L.*) شد (Poshtdar et al., 2015) که با نتایج حاصل از این آزمایش

جدول ۱- تأثیر پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه مرزه تحت تنش فلز

سنگین سرب

سرعت جوانه‌زنی	شاخص وزنی	شاخص طولی	وزن خشک ساقه (میلی‌گرم در بوته)	جوانه‌زنی (درصد)	سرب (میلی‌گرم در لیتر)	سالیسیلیک اسید (میلی‌مول)
۷۸/۳ ^{cde}	۵۷۱ ^f	۴۹۴ ^{b-f}	۷/۲۵ ^{cde}	۶۹/۰ ^{ab}	۰	
۷۸/۲ ^{cde}	۴۷۲ ^{gh}	۴۴۰ ^{c-g}	۶/۰ ^{de}	۶۷/۵ ^{ab}	۲	
۷۲/۰ ^{ef}	۴۰۸ ^{hi}	۴۲۲ ^{d-g}	۵/۷۵ ^{ef}	۶۳/۰ ^{bcd}	۴	۰
۷۳/۴ ^{def}	۴۳۷ ^{gh}	۳۲۹ ^{fg}	۴/۵۰ ^{fg}	۶۲/۰ ^{b-e}	۶	
۶۹/۲ ^{fgh}	۲۹۷ ^j	۳۰۲ ^g	۲/۷۵ ^h	۵۴/۵ ^e	۸	
۷۹/۸ ^{bcd}	۸۲۷ ^c	۶۰۶ ^{abc}	۷/۲۵ ^{cde}	۶۹/۰ ^{ab}	۰	
۷۸/۱ ^{cde}	۶۳۷ ^{ef}	۵۷۷ ^{a-d}	۶/۵۰ ^{cde}	۶۶/۰ ^{bc}	۲	
۷۲/۱ ^{ef}	۴۵۸ ^{gh}	۵۳۵ ^{bcd}	۷/۵۰ ^{cd}	۶۳/۰ ^{bcd}	۴	۰/۵
۶۴/۷ ^{gh}	۲۹۰ ^j	۴۹۸ ^{b-f}	۴/۲۵ ^g	۶۲/۵ ^{bcd}	۶	
۶۳/۸ ^h	۳۰۱ ^j	۳۳۶ ^{efg}	۳/۲۵ ^{gh}	۵۶/۵ ^{de}	۸	
۸۴/۱ ^{abc}	۸۵۴ ^c	۶۰۲ ^{a-d}	۱۲/۲۵ ^b	۶۸/۰ ^{ab}	۰	
۸۴/۹ ^{abc}	۷۳۴ ^d	۵۵۷ ^{a-d}	۷/۲۵ ^{cde}	۶۷/۵ ^{ab}	۲	
۷۹/۸ ^{bcd}	۶۸۰ ^{de}	۵۵۵ ^{a-d}	۷/۰ ^{cde}	۶۷/۰ ^b	۴	۱
۷۴/۸ ^{def}	۶۲۵ ^{ef}	۵۱۰ ^{bcd}	۷/۲۵ ^{cde}	۶۱/۵ ^{b-e}	۶	
۷۱/۸ ^{ef}	۳۳۹ ^{lj}	۵۰۶ ^{b-e}	۷/۵۰ ^{cd}	۵۹/۰ ^{cde}	۸	
۸۷/۷ ^a	۱۴۰۳ ^a	۷۲۴ ^a	۱۷/۵۰ ^a	۷۴/۷ ^a	۰	
۸۶/۴ ^{ab}	۱۲۰۲ ^b	۶۷۵ ^{ab}	۱۸/۰۰ ^a	۶۱/۵ ^{b-e}	۲	
۸۵/۷ ^{ab}	۶۳۷ ^{ef}	۶۴۶ ^{ab}	۰۰۸ ^c	۶۱/۵ ^{b-e}	۴	۲
۷۱/۰ ^{efg}	۶۱۲ ^{ef}	۶۴۶ ^{ab}	۷/۷۵ ^c	۵۸/۰ ^{de}	۶	
۷۴/۰ ^{def}	۴۹۷ ^g	۵۶۷ ^{a-d}	۷/۲۵ ^{cde}	۵۵/۵ ^{de}	۸	

در هر یک از سطوح، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر صفت بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

وزن خشک ساقه

پیش‌تیمار سبب کاهش اثر منفی سرب شدند. به‌طوری‌که در آزمایش اول بیشترین وزن خشک ساقه (۱۸ میلی‌گرم در بوته) در غلظت‌های دو میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و دو میلی‌گرم سرب

افزایش غلظت سرب سبب کاهش وزن خشک ساقه در گیاهچه مرزه گردید و همچنین افزایش غلظت سالیسیلیک اسید و نانو سیلیسیم به‌عنوان

آزمایش اول، بیشترین شاخص طولی (۷۲۴/۲) در غلظت‌های دو میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و بدون تنش سرب و کمترین مقدار این شاخص (۳۰۲/۲) در نمونه‌های تیمار شده با صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و هشت میلی‌گرم سرب حاصل شد (جدول ۱). در آزمایش دوم، بیشترین مقدار (۸۶۵/۸۷) در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار نانو سیلیسیم و بدون تنش سرب به‌دست آمد و کمترین مقدار این شاخص (۳۰۱/۳۶) در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار این پیش‌تیمار و هشت میلی‌گرم سرب حاصل شد (جدول ۲).

نتایج تحقیقی نشان داد که مسمومیت با سرب درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و ساقه، ارتفاع گیاه و مساحت سطح برگ گیاه اطلسی (*Petunia sp.*) را کاهش داد. غلظت بالای سرب سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد برنج شده و استفاده از پیش‌تیمار تأثیر مخرب سرب را خنثی کرده است (Verma & Dubey, 2003)، احتمال داده می‌شود که اسید سالیسیلیک طویل شدن سلول و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از قبیل اکسین تنظیم نماید و نیز از اکسیداسیون اکسین جلوگیری می‌کند (Shakirova et al., 2003).

شاخص وزنی

افزایش میزان غلظت سالیسیلیک اسید و نانو سیلیسیم باعث افزایش شاخص وزنی در تمام تیمارها شد، به طوری که بیشترین شاخص وزنی (۱۴۰۳/۵) در بیشترین غلظت سالیسیلیک اسید (دو میلی‌مولار) و بدون تنش سرب به‌دست آمد و کمترین مقدار (۲۹۰/۵) در غلظت‌های ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و شش میلی‌گرم سرب حاصل شد و همچنین با افزایش غلظت سرب این شاخص کاهش یافت (جدول ۱). در آزمایش دوم، بیشترین مقدار این شاخص (۸۰۶) در غلظت‌های ۰/۱۵ میلی‌مولار نانو سیلیسیم و بدون تنش سرب و

به‌دست آمد و کمترین میزان وزن خشک (۲/۷۵) میلی‌گرم در بوته) در غلظت صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و هشت میلی‌گرم سرب حاصل شد (جدول ۱). در آزمایش دوم، بیشترین مقدار وزن خشک ساقه (۷/۲۵) میلی‌گرم در بوته) در گیاهچه‌های پیش‌تیمار شده با غلظت‌های ۰/۱۵ میلی‌مولار نانو سیلیسیم و بدون تنش سرب حاصل شد و کمترین مقدار (۰/۷۵) میلی‌گرم در بوته) در غلظت‌های صفر میلی‌مولار نانو سیلیسیم و هشت میلی‌گرم سرب به‌دست آمد (جدول ۲).

میزان رشد یک گیاه به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم تحمل گیاه نسبت به غلظت‌های مختلف یک فلز است. فلزات سنگین با مهار تقسیم میتوزی و جلوگیری از رشد طولی سلول، سبب مهار رشد ریشه به‌عنوان اندام اصلی جذب مواد و در نتیجه کاهش رشد ساقه می‌شوند (Zhao et al., 2010). البته، کاهش رشد می‌تواند به دلیل ناهنجاری‌های کروموزومی، تقسیم سلولی غیرطبیعی و ممانعت از سنتز پروتئین در ریشه باشد (Lux et al., 2011). Pirasteh-Anosheh و همکاران (۲۰۱۴) در آزمایشی گزارش دادند که بازیابی گیاه با محلول پاشی سالیسیلیک اسید باعث بهبود تجمع ماده خشک ساقه و ریشه گیاه جو (*Hordeum vulgare L.*) شد؛ و در آزمایشی که در سال ۲۰۱۳ انجام شد به این نتیجه رسیدند که تیمار نانو سیلیسیم بر بذور گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum L.*) باعث افزایش وزن تر و خشک گیاهچه و در کل باعث بهبود صفات رویشی گیاه شده است (Haghighi & Pesarakli, 2013).

شاخص طولی

افزایش غلظت هر دو پیش‌تیمار مورد آزمایش باعث افزایش شاخص طولی در تمامی تیمارها شد. در

کیفیت بذر است؛ که آلودگی عناصر سنگین آن را کاهش می‌دهد. بذرهایی که شاخص وزنی بیشتری دارند تنش را بهتر تحمل می‌کنند و گیاهچه‌های قوی‌تری تولید می‌کنند؛ که به نظر می‌رسد افزایش وزن گیاه در ارتباط با افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تأثیر سالیسیلیک اسید باشد (Fariduddin *et al.*, 2003).

کمترین مقدار شاخص وزنی (۱۲۵) در غلظت‌های هشت میلی‌گرم سرب به‌همراه ۰/۱ میلی‌مولار نانو سیلیسیم به‌دست آمد (جدول ۲).

در پژوهشی بیان کردند که افزایش غلظت کادمیوم موجب کاهش شاخص قدرت بذر گیاه زردچوبه گردید (Tavakoli Hasanaklo *et al.*, 2015). این شاخص یکی از ویژگی‌های تعیین‌کننده

جدول ۲- تأثیر پیش‌تیمار نانو ذرات سیلیسیم بر جوانه‌زنی گیاه مرزه تحت تنش فلز سنگین سرب

سرعت جوانه‌زنی	شاخص وزنی	شاخص طولی	وزن خشک ساقه (میلی‌گرم در بوته)	جوانه‌زنی (درصد)	غلظت سرب (میلی‌گرم در لیتر)	نانو سیلیسیم (میلی‌مول)
۶۲/۳ ^{ab}	۴۱۷ ^{bcd}	۸۳۲ ^{ab}	۴/۰۰ ^{bc}	۵۹/۵ ^{ab}	۰	
۶۵/۵ ^{ab}	۳۶۰ ^{b-f}	۶۰۰ ^{bcd}	۳/۲۵ ^{b-e}	۶۰/۰ ^{ab}	۲	
۶۴/۶ ^{ab}	۲۷۶ ^{c-g}	۵۵۵ ^{cd}	۳/۰۰ ^{b-e}	۵۷/۵ ^{ab}	۴	
۶۱/۵ ^{ab}	۲۴۰ ^{d-g}	۵۲۵ ^{de}	۱/۷۵ ^{def}	۵۸/۰ ^{ab}	۶	
۲۹/۰ ^c	۱۳۵ ^{fg}	۳۸۸ ^{ef}	۰/۷۵ ^f	۳۵/۵ ^e	۸	
۶۱/۵ ^{ab}	۴۷۱ ^{bc}	۷۶۳ ^{ab}	۴/۲۵ ^b	۶۶/۰ ^a	۰	
۶۳/۸ ^{ab}	۴۱۷ ^{bcd}	۷۴۷ ^{ab}	۳/۷۵ ^{bcd}	۶۵/۰ ^a	۲	
۶۲/۴ ^{ab}	۳۱۱ ^{bg}	۶۵۸ ^{bcd}	۳/۵۰ ^{bcd}	۶۵/۰ ^a	۴	۰/۰۵
۶۱/۱ ^{ab}	۳۴۳ ^{b-g}	۵۱۹ ^{de}	۳/۲۵ ^{b-e}	۶۰/۵ ^{bcd}	۶	
۵۵/۱ ^b	۱۴۱ ^{fg}	۳۸۶ ^{ef}	۱/۲۵ ^{ef}	۵۲/۰ ^a	۸	
۷۱/۹ ^a	۵۱۲ ^b	۶۵۶ ^{bcd}	۳/۷۵ ^{bcd}	۶۵/۰ ^a	۰	
۷۰/۱ ^a	۴۹۲ ^{bc}	۶۲۹ ^{bcd}	۴/۵۰ ^b	۶۴/۵ ^a	۲	
۶۳/۳ ^{ab}	۳۹۶ ^{bcd}	۶۰۳ ^{bcd}	۴/۵۰ ^b	۶۵/۵ ^{ab}	۴	۰/۱
۶۴/۳ ^{ab}	۲۹۹ ^{b-g}	۷۵۰ ^{ab}	۲/۷۵ ^{b-e}	۶۳/۰ ^a	۶	
۵۵/۳ ^b	۱۲۵ ^g	۳۰۱ ^f	۲/۵۰ ^{b-f}	۴۵/۰ ^d	۸	
۷۰/۵ ^a	۸۰۶ ^a	۸۶۵ ^a	۷/۲۵ ^a	۶۸/۰ ^a	۰	
۶۷/۵ ^{ab}	۳۷۱ ^{b-e}	۷۶۳ ^{ab}	۳/۰۰ ^{b-e}	۶۸/۰ ^a	۲	
۶۷/۰ ^{ab}	۳۲۵ ^{b-g}	۷۱۷ ^{abc}	۲/۷۵ ^{b-e}	۶۷/۰ ^a	۴	۰/۱۵
۶۷/۳ ^{ab}	۱۵۲ ^{efg}	۵۵۹ ^{cd}	۲/۰۰ ^{c-f}	۶۰/۰ ^{ab}	۶	
۵۶/۵ ^b	۱۶۷ ^{efg}	۵۰۷ ^{de}	۱/۷۵ ^{def}	۴۹/۰ ^d	۸	

در هر یک از سطوح، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر صفت بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

پرولین (۱۷/۹ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در تیمار با غلظت دو میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و هشت میلی‌گرم سرب و کمترین مقدار (۱/۵ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در نمونه شاهد به‌دست آمد (جدول

پرولین
نتایج به‌دست آمده نشان داد که با افزایش غلظت تنش و همچنین پیش‌تیمارها مقدار پرولین نیز افزایش‌یافت. در آزمایش اول، بیشترین میزان

به‌دست آمد و کمترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت‌های ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و دو میلی‌گرم سرب و ۰/۰۵ میلی‌مولار نانو سیلیسیم و چهار میلی‌گرم سرب به‌دست آمد (جدول‌های ۳ و ۴).

در پژوهشی بیان کردند که سیلیسیم تنش فلزات سنگین را با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان کاهش داد به‌گونه‌ای که تحت تأثیر تنش و سمیت کادمیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شد (Shi *et al.*, 2010). نشان داده شده که کاربرد سالیسیلیک خارجی باعث القای تحمل بالاتر گیاهان سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) به دماهای بالا می‌شوند، چون از جمله تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است که در رشد و نمو گیاه، فتوسنتز، تعلق و انتقال مواد نقش زیادی را ایفا می‌کند (zaki & Radwan, 2011). این نتایج نشان می‌دهد که سالیسیلیک اسید ممکن است دارای مسیره‌های پیام‌رسانی مشترک با واسطه تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد. به هر حال حفاظت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو توسط سالیسیلیک اسید با افزایش در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرتبط است و فعالیت این آنزیم‌ها سطح نهایی رادیکال‌های آزاد در گیاه را کاهش می‌دهد (Wu *et al.*, 2008). یکی از سیستم‌های دفاعی گیاه افزایش آنتی‌اکسیدان‌هایی چون آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز است که قادرند حد واسطه‌های اکسیژن را حذف، خنثی یا تمیز کنند (Bahmani *et al.*, 2013) و احتمالاً افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نشان‌دهنده سازوکار مقابله گیاه با تنش است. در پژوهشی نشان داده شده است فعالیت کاتالاز طی تیمار گیاه کلم (*Brassica oleracea* L.) با کادمیوم افزایش می‌یابد (Burjian *et al.*, 2017).

۳). در آزمایش دوم، بیشترین مقدار (۲۱/۲۹ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در تیمار با غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار نانو سیلیسیم به‌همراه هشت میلی‌گرم سرب حاصل شد و کمترین میزان پرولین (۹/۸ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در نمونه شاهد به‌دست آمد که هر دو مقدار حداکثر و حداقل با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۴). تجمع پرولین تحت شرایط تنش ممکن است به‌خاطر کاهش اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز شدن آن از گلوتامات و یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز باشد (Sharma & Dietz, 2006). پرولین نقش محافظت‌کنندگی آنزیم‌های سیتوزولی (حفاظت از آنزیم کربوکسیلاز) و ساختار سلولی را بر عهده دارد، لذا پرولین در شرایط تنش، در سلول تجمع می‌یابد. نقش پرولین در هنگام تنش، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها، جلوگیری از تجزیه ماکرو مولکول‌ها، دخالت در حفظ استحکام دیواره‌ی سلولی و پاک‌سازی هیدروکسیل‌های تولید شده تحت تنش در گیاه است. به‌نظر می‌رسد سیلیسیم با افزایش پرولین این وظایف را شدت می‌بخشد (Tale ahmad & Haddad, 2008).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

با افزایش غلظت پیش‌تیمار و همچنین افزایش غلظت تنش در هر تیمار از این آزمایش‌ها بر میزان آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز افزوده شد به‌گونه‌ای که بیشترین مقدار آنزیم پراکسیداز (۰/۰۹۴ میکرومول در گرم وزن تر در دقیقه) در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار نانو سیلیسیم به‌همراه هشت میلی‌گرم سرب و بیشترین میزان آنزیم کاتالاز (۰/۰۱۹ میکرومول در گرم وزن تر در دقیقه) نیز در این غلظت از پیش‌تیمار و تنش حاصل شد و کمترین میزان آنزیم پراکسیداز در غلظت یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و بدون تنش سرب

جدول ۳- تأثیر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر روی صفات بیوشیمیایی گیاه مرزه تحت تنش فلز سنگین سرب

کاتالاز (میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه)	پراکسیداز (میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه)	پرولین (میکروگرم بر وزن تر برگ)	سرب (میلی گرم در لیتر)	سالیسیلیک اسید (میلی مول)
۰/۰۰۲ ^{ef}	۰/۰۱ ^{fg}	۱/۵ ⁱ	۰	
۰/۰۰۲ ^{ef}	۰/۰۱۴ ^{d-g}	۴/۱ ^h	۲	
۰/۰۰۳ ^{def}	۰/۰۱۵ ^{c-g}	۱۰/۴ ^{de}	۴	۰
۰/۰۰۵ ^{cde}	۰/۰۲۰ ^{b-g}	۱۰/۲ ^{def}	۶	
۰/۰۰۷ ^c	۰/۰۲۴ ^{b-e}	۱۳/۴ ^{bc}	۸	
۰/۰۰۲ ^{ef}	۰/۰۰۸ ^g	۵/۳ ^h	۰	
۰/۰۰۲ ^f	۰/۰۱۷ ^{c-g}	۶/۳ ^{gh}	۲	
۰/۰۰۵ ^{cde}	۰/۰۲۲ ^{b-f}	۹/۴ ^{def}	۴	۰/۵
۰/۰۰۶ ^c	۰/۰۲۴ ^{b-e}	۱۰/۸ ^{de}	۶	
۰/۰۱۳ ^b	۰/۰۲۵ ^{bcd}	۱۴/۹ ^b	۸	
۰/۰۰۲ ^{ef}	۰/۰۰۸ ^g	۵/۲ ^h	۰	
۰/۰۰۳ ^{def}	۰/۰۱۲ ^{efg}	۸/۷ ^{efg}	۲	
۰/۰۰۴ ^{c-f}	۰/۰۲۲ ^{b-f}	۱۰/۹ ^{de}	۴	۱
۰/۰۱۷ ^a	۰/۰۲۷ ^{bc}	۱۱/۵ ^{cd}	۶	
۰/۰۱۶ ^a	۰/۰۴۷ ^a	۱۷/۶ ^a	۸	
۰/۰۰۲ ^{ef}	۰/۰۱۲ ^{efg}	۵/۲ ^h	۰	
۰/۰۰۵ ^{cd}	۰/۰۱۴ ^{c-g}	۷/۸ ^{fg}	۲	
۰/۰۰۶ ^c	۰/۰۲۵ ^{bcd}	۱۳/۶ ^{bc}	۴	۲
۰/۰۱۶ ^a	۰/۰۳ ^b	۱۷/۵ ^a	۶	
۰/۰۱۶ ^a	۰/۰۴ ^a	۱۷/۹ ^a	۸	

در هر یک از سطوح، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر صفت بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

نتیجه‌گیری کلی

سالیسیلیک اسید بود؛ که نقش آن‌ها را در کاهش خسارت تنش سرب نشان می‌دهد. سیلیسیم با اثر بر سیستم آنتی‌اکسیدان در گیاه و از طریق تشکیل کمپلکس با فلزات سنگین و همچنین انتقال آن‌ها به واکوئل سلول‌های گیاهی و سالیسیلیک اسید نیز از طریق سازمان‌دهی مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان، تغییر تعادل هورمونی، افزایش برخی هورمون‌های گیاهی شامل اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها اثرات تنش و سمیت فلزات سنگین در گیاه را کاهش می‌دهند. بنابراین پیشنهاد می‌شود

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان این‌گونه بیان کرد که استفاده از پیش تیمارهایی مانند سالیسیلیک اسید و نانو ذرات سیلیسیم می‌تواند سمیت فلزات سنگین کاهش دهند. در این پژوهش طی تنش فلز سرب و استفاده از پیش تیمارهای مورد نظر میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و نیز میزان پرولین افزایش یافت که این افزایش در نمونه‌های پیش تیمار شده با نانو سیلیسیم بیشتر از نمونه‌های تیمار شده با

پیش‌تیمار بذر با سایر غلظت‌های اسید سالیسیلیک عناصر فلزات سنگین در گیاه مرزه مورد مطالعه قرار و نانو سیلیسیم به‌منظور افزایش تحمل به تنش گیرد.

جدول ۴- تأثیر پیش‌تیمار نانو ذرات سیلیسیم بر روی صفات بیوشیمیایی گیاه مرزه تحت تنش فلز سنگین

سرب				
نانو سیلیسیم (میلی‌مول)	غلظت سرب (میلی‌گرم در لیتر)	پرولین (میکروگرم بر وزن تر برگ)	پراکسیداز (میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه)	کاتالاز (میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه)
.	۰	۹/۸ ^f	۰/۰۱۱ ^c	۰/۰۰۴ ^{cd}
.	۲	۱۰/۳ ^f	۰/۰۱۱ ^c	۰/۰۰۳ ^d
.	۴	۱۲/۰ ^{def}	۰/۰۱۵ ^c	۰/۰۰۵ ^{cd}
.	۶	۱۵/۲ ^{b-e}	۰/۰۱۸ ^c	۰/۰۰۵ ^{cd}
.	۸	۱۵/۴ ^{bcd}	۰/۰۳۵ ^{bc}	۰/۰۰۸ ^{bcd}
.	۰	۱۰/۱ ^f	۰/۰۱۶ ^c	۰/۰۰۳ ^d
۰/۰۵	۲	۱۳/۲ ^{def}	۰/۰۳۱ ^{bc}	۰/۰۰۳ ^d
۰/۰۵	۴	۱۵/۱ ^{cde}	۰/۰۳۲ ^{bc}	۰/۰۰۳ ^d
۰/۰۵	۶	۱۷/۴ ^{bc}	۰/۰۳۵ ^{bc}	۰/۰۰۱ ^{bc}
۰/۰۵	۸	۱۷/۸ ^{abc}	۰/۰۵۸ ^{abc}	۰/۰۱۳ ^{ab}
۰/۰۵	۰	۱۱/۴ ^{ef}	۰/۰۲۷ ^{bc}	۰/۰۰۴ ^{cd}
۰/۰۵	۲	۱۵/۲ ^{b-e}	۰/۰۲۶ ^{bc}	۰/۰۰۳ ^d
۰/۱	۴	۱۵/۹ ^{bcd}	۰/۰۳۱ ^{bc}	۰/۰۰۵ ^{cd}
۰/۱	۶	۱۸/۱ ^{abc}	۰/۰۴۷ ^{abc}	۰/۰۱۴ ^{ab}
۰/۱	۸	۱۹/۲ ^{ab}	۰/۰۷۶ ^{ab}	۰/۰۱۸ ^a
۰/۱	۰	۱۱/۲ ^f	۰/۰۱۴ ^c	۰/۰۰۲۶ ^d
۰/۱	۲	۱۵/۸ ^{bcd}	۰/۰۱۴ ^c	۰/۰۰۷ ^{cd}
۰/۱۵	۴	۱۵/۲ ^{b-d}	۰/۰۳۴ ^{bc}	۰/۰۱۷ ^a
۰/۱۵	۶	۱۵/۵ ^{bcd}	۰/۰۳۸ ^{bc}	۰/۰۱۷ ^a
۰/۱۵	۸	۲۱/۲ ^a	۰/۰۹۴ ^a	۰/۰۱۹ ^a

در هر یک از سطوح، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر صفت بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

References

- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M. & Raisuddin, S. (2000). Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1523(1), 37-48.
- Ansari, O., Chogazardi, H., Sharifzadeh, F. & Nazarli, H. (2012). Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale montanum*) as affected by drought stress. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 45(2), 43-48.
- Bahmani, R., Bihamta, M. R., Nilforooshan, B., Rezai, K. & Hassibi, A. R. (2013). The effect of biofertilizers on some physiological traits in different genotypes of bean plant under cadmium stress. *Iranian Crop Science Congress*, 3, 1-5. (In Farsi)

- Baker, A. J. M. & Proctor, J. (1990). The influence of cadmium, copper, lead, and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. *Plant Systematics and Evolution*, 173(1), 91-108.
- Bates, L. S. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276-287.
- Burjian, M., Khoshokhan Mozafar, M. & Khosravi, R. (2017). Antioxidant changes in Brassica oleracea cv. Under cadmium stress in hydroponic culture. *Journal of Alzahra University (Applied Biology)*, 4(13), 69-84. (In Farsi)
- Cavusoglu, K. & Kabar, K. (2010). Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4(1), 70-79.
- Ellis, R. H. & Roberts, E. H. (1981). The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9, 373-409.
- Epstein, E. & Bloom, A. J. (2005). *Principles and Perspectives. Mineral Nutrition of Plants*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Faghih Abdollahi, L., Pirdashti, H. & Yaghoobian, Y. (2013). Effect of biological treatments on Dill (*Aniethum Graveolens* L.) seed germination and seedling growth under copper contamination seed research. *Journal of Seed Science and Technology*, 2(4), 13-23. (In Farsi)
- Farhoudi, R. (2010). Effect of salt stress on antioxidant activity and seedling growth of canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *International Journal of Applied Agricultural Research*, 5(3), 411-418.
- Fariduddin, Q., Hayat, S. & Ahmad, A. (2003). Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica*, 41(2), 281-284.
- Ghasemi-Golezani, K., Sheikhzadeh Mosaddegh, P. & Valizadeh, M. (2009). Effects of seed hydropriming on germination, seedling emergence and grain yield of chickpea. *Journal of Sustainable Agricultural Science*, 1, 50-58. (In Farsi)
- Haghighi, M. & Pessaraki, M. (2013). Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. *Scientia Horticulturae*, 161, 111-117.
- Hoodaji, M. & Jalalian, A. (2004). Distribution of nickel, manganese and cadmium in soil and crops in the Mobarakeh steel plant region. *Journal of Water and Soil Science*, 8(3), 55-67. (In Farsi)
- Houston, M. C. (2007). The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction. *Altern Ther Health Med*, 13(2), S128-S133.
- Huang, Z., Pan, X. D., Wu, P. G., Han, J. L. & Chen, Q. (2014). Heavy metals in vegetables and the health risk to population in Zhejiang, China. *Food Control*, 36(1), 248-252.
- Imtiaz, M., Rizwan, M. S., Mushtaq, M. A., Ashraf, M., Shahzad, S. M., Yousaf, B. & Tu, S. (2016). Silicon occurrence, uptake, transport and mechanisms of heavy metals, minerals and salinity enhanced tolerance in plants with future prospects: a review. *Journal of Environmental Management*, 183, 521-529.

- Leeke, G., Gaspar, F. & Santos, R. (2003). Analysis/Composition-The Effect of Water on the Solubilities of Essential Oils in Dense CO₂. *Journal of Essential Oil Research*, 15(3), 172-177.
- Lee, C. W., Mahendra, S., Zodrow, K., Li, D., Tsai, Y. C., Braam, J. & Alvarez, P. J. (2010). Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 29(3), 669-675.
- Lux, A., Martinka, M., Vaculik, M. & White, P. J. (2011). Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany*, 62(1), 21-37.
- Ma, J. F. & Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*, 11, 392-397.
- Mahmoudi, F., Sheikhzadeh, P., Zare, N. & Esmailpour, B. (2017). The effect of hydropriming on germination, growth and antioxidant enzymes activity of Borage (*Borago officinalis* L.) seedling under cadmium stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 48(1), 253-266. (In Farsi)
- Marquez-Garcia, B., Marquez, C., Sanjose, I., Nieva, F. J. J., Rodriguez-Rubio, P. & Munoz-Rodriguez, A. F. (2013). The effects of heavy metals on germination and seedling characteristics in two halophyte species in Mediterranean marshes. *Marine Pollution Bulletin*, 70(1), 119-124.
- Pirasteh-Anosheh, H. P., Ranjbar, G., Emam, Y. & Ashraf, M. (2014). Salicylic-acid-induced recovery ability in salt-stressed *Hordeum vulgare* plants. *Turkish Journal of Botany*, 38(1), 112-121.
- Poshtdar, A., Abdali Mashhadi, A. & Monjezi, F. (2015). Response germination and vigor index seed of milk thistle to priming with salicylic acid under salt stress. *The second conference on New findings in the Environment and Agricultural Ecosystems*. Institute New Energys and Environment of Tehran University.
- Sefidkon, F., Abbasi, K. & Khaniki, G. B. (2006). Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*, 99(1), 19-23.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. & Dixon, K. (2000). Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*, 30(2), 157-161.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. & Fatkhutdinova, D. R. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*, 164(3), 317-322.
- Sharma, S. S. & Dietz, K. J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*, 57(4), 711-726.
- Shekari, F. A. R. I. D., Baljani, R., Saba, J. & Afsahi, K. (2010). Effect of seed priming with salicylic acid on growth characteristics of borage plants (*Borago officinalis*) seedlings. *Journal of New Agricultural Science*, 6(18), 969-977.
- Shi, G. R., Cai, Q. S., Liu, Q. Q. & Wu, L. (2009). Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes. *Acta physiologiae plantarum*, 31(5), 969-977.

- Sanjeri, T., Ahmadi, Kh. & Omid, H. (2016). Evaluation of the effects on auxin and salicylic acid on germination of *Satureja* under drought and salt stress. *Journal of Seed Researchs*, 6(3), 81-92.
- Tale, A. S. & Haddad, R. (2008). Effect of silicon on drought tolerance in Wheat. *Agricultural Research Spring*, 8(1), 159-170.
- Tavakoli Hasanaklo, H., Ebadi, A. & Prmon, G. H. (2015). Effect of glycine betaine on lowering treatment with cadmium stress during seed germination and seedling growth of black cumin (*Nigella sativa*). *Plant Process and Function*, 4(11), 13-1. (In Farsi)
- Varier, A., Vari, A. K. & Dadlani, M. (2010). The subcellular basis of seed priming. *Current Science*, 164(4), 450-456.
- Verma, S. & Dubey, R. S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, 164(4), 645-655.
- Wu, H. S., Raza, W., Fan, J. Q., Sun, Y. G., Bao, W., Liu, D. Y. & Miao, W. G. (2008). Antibiotic effect of exogenously applied salicylic acid on in vitro soilborne pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. niveum. *Chemosphere*, 74(1), 45-50.
- Yazdanpanah, S., Abasi, F. & Baghzadeh, A. (2010). Effect of salicylic acid and ascorbic acid on proline, sugar and protein content in (*Satureja hortensis* L.) under aridity stress. *Proceeding of The First National Conference of Environmental Stress in Agricultural Science. The University of Birjand*. 28-29. (In Farsi)
- Zaki, R. N. & Radwan, T. E. E. (2011). Improving wheat grain yield and its quality under salinity conditions at a newly reclaimed soil by using different organic sources as soil or foliar applications. *Journal of Applied Sciences Research*, 10, 42-55.
- Zanganeh, R., Jamei, R., Hosseini Sarghein, S. & Kargar Khorrami, S. (2018). Effect of seed priming with sodium hydrosulfide (NaHS) on some physiological and anatomical parameters in maize plants under lead stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 10(2), 19-34. (In Farsi)
- Zhao, S., Liu, Q., Qi, Y. & Duo, L. (2010). Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in *Turfgrass Series botanica*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52, 7-11.

Effects of Pre-Treatment with Salicylic Acid and Silicon Nanoparticles on Germination, Growth and Physiological Indices of Savory (*Satureja hortensis*) Seeds under Lead Heavy Metal Stress

Hassan Maleki Lajayer^{1*}, Somayeh Soltanzadeh-pormehr², Mousa Torabi-giglou¹, Younes Poorbeyrami Hir¹ and Esmaeil Chamani³

1- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- M.Sc. Graduated Student of Horticulture, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

3- Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

*Corresponding author: malekih135@gmail.com

(Received: November. 21, 2020, Accepted: January. 18, 2021)

Abstract

The aim of this study was to assess the effects of seed priming with salicylic acid and silicon nano-particles on germination, growth and physiological properties of savory seedling under lead contamination based on a factorial design in Faculty of Agriculture and Natural Resources, the University of Mohaghegh Ardabili Iran during the year 2019. Seeds were pre-treated with different concentrations of salicylic acid (0, 0.5, 1 and 2 mM) and silicon nano- particles (0, 0.05, 0.1 and 0.15 mM). Then, seeds were cultured on paper towel contaminated with 0, 2, 4 and 8 mg.l⁻¹ of lead. Results showed that the highest seed germination percentages (74.75 %), Weight index (1403.5) and germination rate (87.7) were obtained in seed pretreated with salicylic acid. While the highest shoot dry weight (7.25 mg), length index (865.7) as well as prolin content and peroxidase and catalase activities were recorded in seeds pretreated with nano-silicon particles. Results also indicated that increasing lead concentration decreased seed germination rate and percentage, shoot dry weight, weight and length indices, whereas increased prolin content and enzymes activity. It can be concluded that seed pre-treatment might optimized vegetative parameters by increasing prolin content and antioxidant enzymes activity. According to results it can be concluded that seed pre-treatment with salicylic acid and silicon nano-particles could reduce heavy metal toxicity.

Keywords: Heavy metals, Growth indices, Nano-particles, Prolin.
