

اثر سیلیسیم بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.) در شرایط تنش سرب

اکرم رهبری^۱، بهروز اسماعیل‌پور^۱، حمیده فاطمی^۱ و علی اشرف سلطانی طولارود^۲

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، ^۲ گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۱/۱۸)

چکیده

سیلیسیم یکی از عناصر مفید برای گیاهان محسوب می‌شود، مطالعات جدید نشان داده که این عنصر نقش بسیار مهمی در مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین دارد. به منظور بررسی اثر سیلیسیم بر افزایش تحمل به آلودگی سرب بر گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.) رقم ورامین، آزمایشی در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار در شرایط گلخانه‌ای تحقیقاتی اجرا گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل سرب در چهار سطح (صفر، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) از منبع $Pb(NO_3)_2$ و محلول‌پاشی سیلیسیم در دو سطح صفر و ۱ میلی‌مولار بود. در این آزمایش صفاتی نظیر ارتفاع بوته، وزن خشک بخش هوایی، تعداد برگ، وزن خشک ریشه، ثبات غشاء و مقدار نسبی آب برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، پرولین، کربوهیدرات کل، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، غلظت سرب و کلسیم در بخش هوایی گیاه شوید اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تنش سرب اثر کاهنده معنی‌داری بر روی شاخص‌های رشدی اندازه‌گیری شده گیاه شوید داشت. بیشترین میزان وزن خشک ریشه، قطر ساقه، مقدار نسبی آب برگ مربوط به تیمار ۱ میلی‌مولار سیلیسیم در شرایط بدون تنش سرب و بیشترین میزان پرولین، کربوهیدرات کل، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز مربوط به تیمار ۱ میلی‌مولار سیلیسیم در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بود. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که برای افزایش شاخص‌های رشد محصول شوید در شرایط تنش سرب، می‌توان محلول-پاشی گیاه شوید با سیلیسیم را توصیه نمود.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات، کلروفیل

مقدمه

گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که فلزات سنگین از نظر زیستی تجزیه‌پذیر نیستند و تجمع بیش از حد این فلزات در خاک‌های کشاورزی می‌تواند برای سلامت عمومی مخاطره‌آمیز باشد. فلزات سنگینی از قبیل سرب و کادمیوم که نقش بیولوژیکی ناشناخته و سمیت بالایی برای گیاهان دارند (Rubio, 2012). سرب از جمله عناصر غیر ضروری برای رشد

با افزایش مصرف آفت‌کش‌ها و کودهای شیمیایی در تولید محصولات کشاورزی، تجمع فلزات سنگین در خاک در طول زمان افزایش پیدا کرده است. در نتیجه کیفیت خاک تنزل کرده و تهدید ایجاد شده در مورد امنیت غذایی از طریق آلودگی فلزات سنگین هم اکنون توجه زیادی را به خود جلب کرده است.

یک راهکار کاهش اثرات سمیت فلزات سنگین، محلول-پاشی گیاه با سیلیسیم می‌باشد. سیلیسیم عنصر فراوان در خاک بعد از اکسیژن محسوب می‌شود (Richmond et al., 2003). میزان سیلیسیم در گیاهان ۰/۱ تا ۱۰ درصد وزن خشک گیاه است که با برخی از عناصر ضروری پرمصرف برابری می‌کند (Hodson et al., 2005). سیلیسیم مانع از انتقال فلزات از ریشه به بخش هوایی، تقسیم یون‌های فلزی در درون گیاه و تحریک سیستم آنتی‌اکسیدان در گیاهان می‌شود (Shi et al., 2010). عنصر سیلیسیم بعد از جذب توسط ریشه به بخش هوایی گیاه انتقال می‌یابد و روی دیواره سلول‌ها به صورت پلی‌مر هیدراته، سیلیکای بی‌شکل، لایه دوتایی سیلیکا- کوتیکول و لایه دوتایی سیلیکا- سلولز در سطح برگ و ساقه ته نشین می‌شود و از شدت تعرق می‌کاهد. طبق بررسی (Liu et al., 2013) سیلیسیم موجب کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین مانند روی، آرسنیک و کادمیوم در گیاهان شده است.

شوید (*Anethum graveolens*) گیاهی از خانواده چتریان (Umbelliferae) است. شوید به عنوان سبزی و هم طعم دهنده و معطر کننده در صنایع غذایی و فرآورده‌های آرایشی، بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (پیوست، ۱۳۸۶). با توجه به مصرف زیاد شوید به عنوان یک سبزی و گیاه دارویی و کاشت آن در مزارع سبزی در نواحی اطراف شهرها و افزایش آلودگی ناشی از سوخت‌های وسایط نقلیه و همچنین استفاده از آب‌های نامتعارف در پرورش این گیاه و نقش احتمالی سیلیسیم در کاهش تنش ناشی از عناصر سنگین، پژوهش حاضر با اهداف تأثیر تنش فلز سنگین سرب بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شوید و تأثیر تغذیه گیاه شوید با سیلیسیم بر کاهش اثر سمیت فلز سنگین سرب در این گیاه انجام گردید.

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر سیلیسیم بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شوید در شرایط تنش سرب، آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

گیاهان است. سرب هیچ عملکرد فیزیولوژیکی شناخته شده‌ای در بدن انسان ندارد، اما اثرات زیانبار آن بر روی فرآیندهای بیوشیمیایی اساسی بدن شناخته شده است (Cheng et al., 2006). سرب از نظر فراوانی در پوسته زمین کمتر از مس و روی است و سی و یکمین عنصر فراوان در پوسته زمین می‌باشد. دامنه طبیعی غلظت سرب در گیاهان از ۰/۲ تا ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم و حد بحرانی آن ۳۰ تا ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گزارش شده است (Lin et al., 2009). از جمله فرآیندهایی که تحت تأثیر تنش ناشی از فلزات سنگین قرار می‌گیرد فتوسنتز است. مطالعات متعددی بازدارندگی فتوسنتز در گیاهان مختلف رشد یافته تحت تنش سرب را گزارش کرده اند. کاهش فتوسنتز توسط سرب ممکن است از طریق بازگشایی روزنه، آسیب به سازماندهی فراساختاری کلروپلاست، تغییر در متابولیت های فتوسنتزی، ممانعت از ساختن یا تجزیه رنگیزه های فتوسنتزی و از طریق کاهش غلظت عناصر ضروری ایجاد شود (Reddy et al., 2005). همچنین وجود این عنصر در محیط رشد گیاه اثرات نامطلوب متفاوتی را ایجاد کرده است که شامل کاهش پتانسیل آبی، اختلال در تغذیه معدنی گیاه، تغییر در تراوایی غشا سلولی، کاهش در مقادیر هورمونی گیاه و فعالیت های انتقال الکترون، بازدارندگی در رشد ریشه، ایجاد کلروز یا زردی، توقف رشد ساقه، بازدارندگی یا افزایش فعالیت آنزیمی و کاهش در سنتز (DNA) می‌باشد (Sharma and Dubey, 2005). گزارشات نشان داده است که از جمله پاسخ های عمومی گیاهان در برابر فلزات سنگین تغییرات سطحی پرولین و القاء فعالیت آنزیم های سیستم ضد اکسیداسیون از جمله پراکسیداز و پراکسیداز می باشد (Van Assche & Clijsters, 1990). بررسی تنش غلظت‌های متفاوت از سرب در گیاه کلزا، افزایش غلظت سرب، میانگین طول ریشه و ساقه، سطح پهنک برگ، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی را در این گیاه را کاهش داد (Kosobrukhev, 2004 ; Ma et al., 2006). همچنین (Lin et al., 2009) در تحقیق خود گزارش کردند که تنش سرب در ذرت موجب کاهش طول ریشه و ساقه و کاهش تولید زیست‌توده در این گیاه گردید.

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

| شن (%) | سیلت (%) | رس (%) | بافت خاک | ماده آلی (%) | سرب (میلی گرم بر کیلوگرم) | آهک (%) | pH | هدایت الکتریکی ($\text{Ec (dS m}^{-1}\text{)}$) |
|--------|----------|--------|----------|--------------|---------------------------|---------|------|---------------------------------------------------|
| ۶۶ | ۲۴ | ۳۰ | لومی شنی | ۱۳/۹۲ | ۰/۱۶۵ | ۵/۷ | ۷/۹۱ | ۳/۷۸ |

روزانه ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتیگراد و دمای شبانه حداقل ۱۸ درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۶۰ درصد قرار داده شدند و در فواصل زمانی دو روز یک بار با آب مقطر آبیاری شدند. برای تهیه محلول ۱ میلی مولار سیلیسیم حدود ۰/۳۲۷ گرم از ماده متاسیلیکات سدیم ۵ آبه $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ در ۱/۵ لیتر آب حل شده و سپس در فصل رشد (یک ماه پس از کاشت) در بخش هوایی گیاه شوید اسپری گردید، به طوری که برگ‌های گیاه کاملاً خیس شدند. برای اعمال شرایط یکسان گیاهان شاهد نیز با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. در طول آزمایش عملیات داشت شامل آبیاری و مبارزه با بیماری انجام شد.

اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه: حدود ۳ ماه پس از کاشت خصوصیات ریختی شامل تعداد برگ، تعداد ساقه، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک بخش هوایی، وزن خشک ریشه، قطر ساقه و حجم ریشه اندازه‌گیری شد. محتوای کلروفیل و کارتنوئید برگ با استفاده از روش آرنون (Arnon, 1967)، شاخص ثبات غشا به روش ردمن و همکاران (Redman et al., 1986)، محتوای نسبی آب از روش ریچی و همکاران (Ritchie et al., 1990)، میزان پرولین برگ‌ها با استفاده از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973)، استخراج و اندازه‌گیری قندها از روش ایریگوئن و همکاران (Irigoyen et al., 1992)، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز با استفاده از روش کار و میسرا (Kar and Mishra, 1976) اندازه‌گیری شد و میزان عنصر سرب اندام رویشی به روش عصاره‌گیری با اسید انجام و با دستگاه جذب اتمی (Atomic absorption spectrometer) قرائت شد.

تجزیه آماری: داده‌های حاصل از این آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS 9.1 مورد تجزیه آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد

در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل آلودگی با نترات سرب در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و سیلیسیم (متاسیلیکات سدیم) در دو غلظت صفر (شاهد) و ۱ میلی‌مولار بودند. خاک مناسب جهت کشت شوید از مزرعه‌ای واقع در اطراف شهرستان اردبیل تهیه شد برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده در این آزمایش شامل بافت خاک به روش هیدرومتری (Gee & Orr, 2002)، کربن آلی از روش واکلی بلک (Nelson & Sommers, 1982)، pH خاک در گل اشباع و با استفاده از دستگاه pH متر (McKeon, et al., 2007)، هدایت الکتریکی در عصاره اشباع و میزان آهک (Nelson & Sommers, 1982) تعیین شد، که در جدول ۱ نشان داده شده است.

برای آلوده نمودن خاک در گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی حاوی مخلوط خاک، ماسه و کود حیوانی به نسبت (۴۰:۴۰:۲۰) درصد) توسط محلول نترات سرب ($\text{Pb(NO}_3\text{)}_2$) به طور یکنواخت به وسیله دست انجام شد و به طور کامل با توده خاک مخلوط گردید. به منظور ایجاد تعادل میان خاک و آلاینده، نمونه‌ها به مدت چهار ماه تر و خشک گردید تا به شرایط آلودگی دراز مدت و طبیعی نزدیک‌تر شود. به علت وجود نترات سرب در تیمارهای بدون سرب مقدار لازم کود آمونیم محاسبه و لحاظ شد. پس از گذشت این مدت، خاک‌های آلوده شده در گلدان‌های پلاستیکی ۱۰ کیلوگرمی با ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر و قطر دهانه‌ی ۲۷ سانتی‌متر ریخته شدند. بذور شوید در عمق ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متری کشت گردید، تعداد ۳۰ عدد بذر شوید در هر گلدان کاشته شد. پس از جوانه‌زنی، گیاهچه‌ها به تعداد ۲۰ عدد در هر گلدان کاهش یافتند. گلدان‌های کشت شده تحت شرایط کنترل شده در گلخانه با حداکثر دمای

انجام شد.

نتایج

شاخص‌های ریخت‌شناسی: تجزیه واریانس اثر تنش سرب و سیلیسیم بر گیاه شوید نشان داد که فاکتور سرب، بر شاخص تعداد برگ، ارتفاع بوته و وزن خشک ساقه در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر تأثیرگذار بود، ولی فاکتور سیلیسیم و اثر متقابل این دو فاکتور بر شاخص‌های فوق معنی‌دار نبود و فاکتور سرب و سیلیسیم و اثر متقابل این دو فاکتور بر شاخص وزن خشک ریشه بر این شاخص در سطح احتمال ۱ درصد تأثیرگذار بود (جدول ۲).

تعداد برگ: مقایسه میانگین اثر تنش سرب نشان داد که بیشترین تعداد برگ (۵/۱۲) در تیمار شاهد بود که با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین آن (۴/۱۲) نیز در سطح چهارم سرب، یعنی غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که با همه تیمارها به جز تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۳). این نتایج نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با سیلیسیم نتوانسته تعداد برگ را به طور معنی‌داری افزایش دهد (جدول ۴).

ارتفاع ساقه: مقایسه میانگین اثر تنش سرب نشان داد که بیشترین ارتفاع ساقه (۵۹/۷۳ سانتی‌متر) در تیمار شاهد بود که با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین آن (۵۵/۶۲ سانتی‌متر) نیز در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که با همه تیمارها اختلاف معناداری داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر سیلیسیم بر ارتفاع ساقه نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با سیلیسیم ارتفاع ساقه را افزایش نداده است (جدول ۴).

وزن خشک ساقه: با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر تنش سرب بر وزن خشک ساقه می‌توان دریافت که با افزایش غلظت سرب وزن خشک ساقه به طور معناداری کاهش یافت به طوری‌که بیشترین و کمترین وزن خشک ساقه (به ترتیب ۰/۶۴ و ۰/۳۶ گرم) به ترتیب در تیمار شاهد و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب حاصل شد که با سایر تیمارها

اختلاف معناداری نشان داد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر تغذیه با سیلیسیم نیز نشان داد که در گیاهان محلول‌پاشی شده با سیلیسیم وزن خشک ساقه به طور معناداری افزایش پیدا نکرده است (جدول ۴).

وزن خشک ریشه: نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار آزمایشی در صفت وزن خشک ریشه نشان داد که بیشترین وزن خشک ریشه (۰/۶ گرم) ایجاد شده در تیمار شاهد و محلول‌پاشی شده با سلیکون حاصل گردید که با تمامی تیمارها اختلاف معناداری داشت. کمترین میزان وزن خشک ریشه نیز (۰/۳۱ گرم) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و بدون سیلیسیم حاصل شد، که با سایر تیمارها دارای اختلاف معناداری بود (جدول ۵).

در تحقیق حاضر، بررسی نتایج حاصل از سطوح مختلف تنش سرب بر گیاه شوید، باعث کاهش در مقدار شاخص‌های رشد گیاه گردید که در بالاترین سطح تنش یعنی غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سرب، این کاهش رشد در گیاه شوید معنی‌دار بود. نتایج حاصل از سایر پژوهش‌ها در رابطه با کاهش زیست توده در گیاه شوید در پژوهش حاضر هم‌سویی دارد. (آغاز و همکاران، ۱۳۹۱) اثر فلز سنگین سرب بر کاهش رشد گیاهچه در گیاه شوید (*Anethum graveolens L.*) را گزارش نمودند. همچنین این یافته با یافته‌های (کیابی و همکاران، ۱۳۹۲) در تطابق است، آنها نشان دادند که تنش سرب به طور معناداری میزان شاخص‌های رشدی گیاه جعفری (*Petroselinum crispum L.*) را کاهش داده است. سرب به دلیل انباشت زیاد در بخش‌های سطحی خاک به راحتی در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد و با جذب از طریق ریشه‌ها موجب تغییر در برخی فرایندهای متابولیکی گیاه و اختلال در رشد و نمو آنها می‌شود (Parsadoost et al., 2007).

در پژوهش حاضر، کاربرد سیلیسیم موجب بهبود بسیاری از شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی در گیاه شوید گردید. سیلیسیم می‌تواند به دو روش بر وضعیت تغذیه ای گیاه تأثیر بگذارد، نخست این که سبب تقویت ویژگی‌های محافظتی گیاه در برابر آفات، بیماری‌ها و شرایط نامطلوب شده و دیگر آن که

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر سیلیسیم و سرب بر شاخص‌های ریختی و بیوشیمیایی شوید

| میانگین مربعات | | | | | | | | | |
|----------------|------------|--------------------|--------------------|----------------------|--------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | تعداد برگ | ارتفاع گیاه | وزن خشک ساقه | وزن خشک ریشه | محتوای نسبی آب برگ | ثبات غشا | کلروفیل a | کلروفیل b |
| تنش سرب | ۱ | ۱/۵۳** | ۰۳/۶۸** | ۰/۱۴** | ۰/۰۸** | ۲۲۴۰/۵۶** | ۲۲۱۳/۴۴** | ۳۹/۶۸** | ۲/۶۱** |
| سیلیسیم | ۳ | ۰/۲۸ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۰/۰۰۰۴ ^{ns} | ۰/۰۱** | ۳۰/۴۷** | ۱/۵۴ ^{ns} | ۲/۶۲** | ۰/۶۷** |
| سرب×سیلیسیم | ۳ | ۰/۰۳ ^{ns} | ۰/۱۳ ^{ns} | ۰/۰۰۱ ^{ns} | ۰/۰۰۰۴** | ۶/۶۹ ^{ns} | ۱/۸** | ۰/۵۲** | ۰/۲۶** |
| اشتباه آزمایش | ۲۴ | ۰/۱۹ | ۰/۰۹ | ۰/۰۰۰۴ | ۰/۰۰۰۲ | ۲/۴۵ | ۰/۳۷ | ۰/۰۱ | ۰/۰۳ |
| ضریب تغییرات | | ۹/۶۸ | ۱/۶۷ | ۴/۴۲ | ۳/۱۹ | ۲/۵۲ | ۰/۸۷ | ۱/۶۷ | ۷/۷۷ |

ns، *، ** و ns به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار است.

ادامه جدول ۲-

| میانگین مربعات | | | | | | | | | |
|----------------|------------|------------|----------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|--|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | کلروفیل کل | کاروتنوئید | کربوهیدرات کل | فعالیت آنزیم پراکسیداز | فعالیت آنزیم کاتالاز | غلظت سرب بخش هوایی | غلظت کلسیم بخش هوایی | |
| تنش سرب | ۱ | ۶۲/۴۹** | ۶/۷۴** | ۰/۱* | ۰/۰۴* | ۰/۰۰۰۳* | ۵۹/۸۸** | ۰/۲۶** | |
| سیلیسیم | ۳ | ۵/۹۷** | ۰/۰۰۰۹ ^{ns} | ۰/۰۰۷* | ۰/۰۰۳* | ۰/۰۰۰۰۱* | ۳/۱۵ ^{ns} | ۰/۰۰۶ ^{ns} | |
| سرب×سیلیسیم | ۳ | ۰/۱۹* | ۰/۰۲ ^{ns} | ۰/۰۰۰۳ ^{ns} | ۰/۰۰۰۳ ^{ns} | ۰/۰۰۰۰۱ ^{ns} | ۵۴/۸۵ ^{ns} | ۰/۰۰۰۲ ^{ns} | |
| اشتباه آزمایش | ۲۴ | ۰/۰۴ | ۰/۰۱ | ۰/۰۳۰۰ | ۰/۰۰۰۰۶ | ۰/۰۰۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۰۹ | ۸/۳ | |
| ضریب تغییرات | | ۲/۴۵ | ۵/۲۲ | ۳/۲۴ | ۲ | ۷/۶۶ | ۱/۹۷ | ۸/۱۱ | |

ns، *، ** و ns به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار است.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات تنش سرب بر شاخص‌های مورفولوژیک شوید

| تیمار (ppm) | تعداد برگ | ارتفاع گیاه (cm) | وزن خشک ساقه (gr) | محتوای نسبی آب (درصد) | کاروتنوئید (mg/g) | کربوهیدرات (μg/g) | پروکلین (mMg ⁻¹ DW) | پراکسیداز (μ mol d ⁻¹ mg ⁻¹ protein) | غلظت سرب بخش هوایی (mgkg ⁻¹) | غلظت کلسیم بخش هوایی (mgkg ⁻¹) |
|-------------|--------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|
| شاهد | ۵/۱۲ ^a | ۱۹/۷۳ ^a | ۰/۶۴ ^a | ۸۰/۴۲ ^a | ۰/۱۴ ^a | ۰/۰۹ ^c | ۰/۳ ^d | ۲۸ | ۰/۰۷ ^c | ۱۵۸/۶۸ ^a |
| ۴۰۰ | ۴/۷۵ ^{ba} | ۱۹/۵۷ ^a | ۰/۶۲ ^a | ۷۰/۹۸ ^b | ۰/۱۳ ^a | ۰/۰۹ ^c | ۰/۳۳ ^c | ۳۹ ^c | ۰/۴۲ ^b | ۱۴۹/۵۴ ^b |
| ۶۰۰ | ۴/۳۷ ^{bc} | ۱۷/۳۷ ^b | ۰/۵۴ ^b | ۵۳/۴۱ ^c | ۰/۱۱ ^b | ۰/۱۹ ^b | ۰/۴۵ ^b | ۴۶ ^b | ۰/۵ ^a | ۱۴۰/۵۴ ^c |
| ۸۰۰ | ۴/۱۲ ^c | ۱۵/۶۲ ^c | ۰/۳۶ ^c | ۴۳/۹۳ ^d | ۰/۰۹ ^c | ۰/۳۷ ^a | ۰/۸۴ ^a | ۴۸ ^a | ۰/۵۲ ^a | ۱۳۳/۲۷ ^d |

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری را براساس آزمون LSD نشان نمی‌دهد.

(Michalska and Asp, 2001).

در تحقیق حاضر سیلیسیم باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع، وزن تر و خشک، تعداد برگ در گیاه شوید گردید. طبق تحقیقات صورت گرفته سیلیسیم بر رشد، ارتفاع، عملکرد و

از راه بهبود وضعیت آب و خواص فیزیکی و شیمیایی خاک و گیاه و حفظ عناصر در شکل قابل استفاده به وسیله گیاه، سبب ارتقای حاصلخیزی خاک گردد. تأمین سیلیسیم کافی، مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را افزایش می‌دهد

جدول ۴ - مقایسه میانگین اثرات سیلیسیم بر شاخص‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی شوید

| تیمار | تعداد برگ | ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) | وزن خشک ساقه (gr) | محتوای نسبی آب (درصد) | کاروتنوئید (mg/g) | کربوهیدرات (μg/g) | پروکلین (mMgr ⁻¹ DW) | پراکسیداز | کاتالاز (μ mol d ⁻¹ mg ⁻¹ protein) |
|---------------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|-----------------|----------------------------------------------------------|
| شاهد | ۴/۵ ^a | ۱۸/۰۵ ^a | ۰/۵۲ ^a | ۶۱/۰۷ ^b | ۲/۰۲ ^a | ۰/۱۷ ^b | ۰/۴۶ ^b | ۳۹ ^b | ۰/۹ ^b |
| غلظت ۱ میلی مولار سیلیسیم | ۴/۶۸ ^a | ۱۸/۱ ^a | ۰/۵۱ ^a | ۶۳/۰۳ ^a | ۲/۰۳ ^a | ۰/۲ ^a | ۰/۴۹ ^a | ۴۲ ^a | ۱ ^a |

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری را براساس آزمون LSD نشان نمی‌دهد.

جدول ۵ - مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب و سیلیسیم بر شاخص‌های ریختی و بیوشیمیایی

| غلظت سرب (ppm) | سیلیسیم | وزن خشک ریشه (گرم) | ثبات غشاء (۰/۰) | کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | کلروفیل کل |
|----------------|-----------------|--------------------|---------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------|
| صفر | بدون محلول پاشی | ۰/۵ ^c | ۸۱/۶ ^a | ۸/۳۷ ^b | ۲/۸۳ ^b | ۱۱/۲۱ ^b |
| | با محلول پاشی | ۰/۶ ^a | ۸۱/۸۴ ^a | ۸/۶۷ ^a | ۳/۳۶ ^a | ۱۲/۰۳ ^a |
| ۴۰۰ | بدون محلول پاشی | ۰/۴۸ ^c | ۷۷/۷۸ ^c | ۶/۹۵ ^c | ۲/۸۷ ^b | ۹/۸۳ ^c |
| | با محلول پاشی | ۰/۵۲ ^b | ۷۹/۶ ^b | ۸/۴۹ ^b | ۲/۷۷ ^b | ۱۱/۲۷ ^b |
| ۶۰۰ | بدون محلول پاشی | ۰/۴ ^d | ۷۲/۷۷ ^d | ۴/۸۵ ^e | ۲/۰۱ ^c | ۶/۸۷ ^e |
| | با محلول پاشی | ۰/۳۹ ^d | ۷۲/۴۸ ^d | ۵/۳۷ ^d | ۲/۱ ^c | ۷/۴۸ ^d |
| ۱۰۰۰ | بدون محلول پاشی | ۰/۳۱ ^f | ۴۵/۹۲۹ ^e | ۲/۷۳ ^j | ۱/۲۶ ^d | ۴ ^j |
| | با محلول پاشی | ۰/۳۴ ^e | ۴۵/۲۷ ^e | ۳/۰۲ ^f | ۲/۰۹ ^c | ۵/۱۲ ^f |

حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری را براساس آزمون LSD نشان نمی‌دهد.

توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین بیشترین مقدار نسبی آب برگ (۶۳/۰۳) در گیاهان محلول پاشی شده با سیلیسیم بوده و کمترین مقدار نسبی آب برگ (۶۱/۰۷) در گیاهان شاهد مشاهده شد (جدول ۴). بررسی اثر تنش سرب بر شاخص ثبات غشا نشان داد که بیشترین میزان این شاخص در تیمار شاهد حاصل شد و با افزایش سطح تنش سرب میزان ثبات غشا کاهش پیدا کرده است. سرب موجب اختلال در ساختار غشای سلولی و ناپایدار شدن غشای سلولی می‌شود و در نهایت به انتشار محتویات درون سلول به خارج آن منجر می‌شود (Azooz et al., 2011).

ثبات غشاء: نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار آزمایشی در صفت ثبات غشاء نشان داد که بیشترین ثبات غشاء (۸۱/۸۴ درصد) ایجاد شده در تیمار تیمار ۱۰۰۰ میلی

همچنین فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان مختلف، اثرات مثبت بیشماری را دارا می‌باشد و وضعیت آبی گیاه را بهبود می‌بخشد (Gong et al., 2008). همچنین گزارش شده است که با افزودن سیلیسیم به محلول غذایی در محیط کشت صفات وزن خشک ریشه و شاخساره، طول ریشه و ارتفاع خیار (*Cucumis sativus* L) نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت.

مقدار نسبی آب برگ: تاثیر تنش سرب بر شاخص مقدار نسبی آب برگ حاکی از آن بود که گیاهان مربوط به تیمار شاهد بیشترین مقدار نسبی آب برگ (۸۰/۴۲ درصد) را داشته که با تمامی تیمارها اختلاف معناداری داشت، و گیاهان کشت شده در خاک تحت تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب نیز، کمترین مقدار نسبی آب برگ (۴۳/۳۹ درصد) را داشتند که با تمام تیمارها اختلاف معناداری نشان دادند (جدول ۳). با

تنش سرب و تغذیه با سیلیسیم بر شاخص میزان کلروفیل a و b و کلروفیل کل نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a و b و کل به ترتیب (۸/۶۷، ۳/۳۶ و ۱۲/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان پرورش یافته در شرایط بدون تنش سرب (شاهد) که با سیلیسیم محلول پاشی شده بودند حاصل گردید که با سایر تیمارها اختلاف معناداری داشت. کمترین میزان کلروفیل a و b آن نیز به ترتیب (۲/۷۳، ۱/۲۶ و ۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطح چهارم تنش (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و بدون محلول پاشی سیلیسیم مشاهده شد که با تمامی تیمارها اختلاف معناداری نشان داد (جدول ۵). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلروفیل کل برگ‌ها همراه با افزایش غلظت نیترات سرب در محیط کاهش معنی‌داری داشته است. گزارش شده است که افزایش تخریب کلروفیل در گیاهان تیمار شده با سرب ناشی از افزایش فعالیت کلروفیل‌لاز می‌باشد (Piotrowska et al., 2010). همچنین به دلیل جایگزین شدن سرب در کلروفیل گیاهان به جای منیزیم منجر به کاهش کلروفیل و کاهش فتوسنتز می‌شود (Marciol et al., 2004). نتایج نشان داد که محلول پاشی سیلیسیم باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل در گیاه شوید گردید. در همین راستا افزایش در میزان کلروفیل در این بررسی با پژوهش‌های صورت گرفته در گیاه گندم مطابقت دارد (Gong et al., 2005). همچنین اثر مثبت سیلیسیم در پارامترهای مربوط به فتوسنتز تحت تنش فلزات سنگین در خیار توسط فنگ و همکاران (Feng et al., 2010) گزارش گردید. سیلیسیم بر محتوای کلروفیل برگ در گیاه گوجه‌فرنگی و افزایش تبادلات گازی و فتوسنتز در گیاهان گوجه‌فرنگی رشد یافته در شرایط تنش گردید (Haghighi and Pessarakli, 2013; Al-aghaby et al., 2004). طی تحقیقات صورت گرفته نشان دادند که در صورت افزایش غلظت فلزات سنگین، غلظت CO₂ در فضای بین سلولی در برگ گوجه‌فرنگی به طور معنی‌داری افزایش یافت و محققین عوامل موثر در کاهش فتوسنتز در اثر مصرف فلز را در نتیجه افزایش غلظت CO₂ در فضای بین سلولی، کاهش تثبیت CO₂ کاهش شاخص کلروفیل و جلوگیری از مراحل مختلف چرخه

گرم بر کیلوگرم سرب و بدون محلول‌پاشی شده با سلیکون حاصل گردید که با تیمار محلول‌پاشی شده هم‌میزان تیمار اختلاف معناداری نداشت، ولی با تمامی تیمارها اختلاف معناداری نشان داد. کمترین میزان ثبات غشاء نیز (۴۵/۲۹ درصد) در تیمار شاهد سربو محلول‌پاشی سیلیسیم حاصل شد، که با تیمار بدون محلول‌پاشی شده از هم‌میزان تیمار اختلاف معناداری نداشت در حالی که با سایر تیمارها دارای اختلاف معناداری بود (جدول ۵). براساس نتایج به دست آمده، در مقایسه بین تیمارهای سرب و تیمار شاهد، کمترین مقدار محتوای نسبی آب در تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سرب بود (Parta et al., 2004; Akinci et al., 2010). نتایج مشابهی را گزارش دادند و بیان کردند که در حالت کلی با افزایش غلظت سرب، محتوای نسبی آب برگ گیاهان کاهش می‌یابد. بسیاری از فلزات سنگین فعالیت پروتئین‌های کانالی آب را در گیاهان تغییر می‌دهند، روزه‌های برگ را می‌بندند و در نتیجه جریان آب در گیاه را متوقف می‌سازند (Sharma and Dubey, 2010). همچنین محلول‌پاشی سیلیسیم، کاهش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی را به خود اختصاص داد و بیشترین آن در عدم محلول پاشی به دست آمد. طبق گزارش‌های پژوهشگران با کاربرد سیلیسیم در محیط رشد گیاه باعث کاهش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی سلول‌های برگ شده و ساختار کلروپلاست‌ها را که آسیب زیادی در اثر سمیت تنش دیده، بهبود می‌بخشد. یعنی سیلیسیم روی ساختار و کارکرد غشاء پلاسمایی موثر است، نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری پایداری غشاء سلولی تحت شرایط تنش نشان در خیار (*Cucumis sativus* L) نشان می‌دهد که سیلیسیم ممکن است بوسیله کاهش در نفوذپذیری غشاء سلولی و همچنین ممانعت از پراکسید شدن غشاء پلاسمایی و پایداری آن در شرایط تنش باعث کاهش اثر سمیت شده و رشد گیاه را بهبود می‌دهد. همچنین مکانیزم احتمالی برای رشد بهتر محصول در حضور سیلیسیم در شرایط تنش ممکن است به علت افزایش کارایی مصرف آب و بهبود محتوای رطوبت نسبی گیاه در حضور سیلیسیم باشد (Zhu et al., 2004).

کلروفیل a، b و کلروفیل کل: مقایسه میانگین اثر متقابل

کاهش انتقال آب به برگ‌ها و اختلال در سرعت تعرق برگ باعث تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی از جمله مسیر متابولیسم قند می‌شود. با تجمع قندهای محلول، گیاه ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش، در حد مطلوب نگه می‌دارد (Verma and Dubey, 2001).

میزان پرولین: بیشترین میزان پرولین (۰/۸۴ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب به دست آمد که با تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معناداری داشت و کمترین آن (۰/۳ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در تیمار شاهد حاصل شد که اختلاف آن با سایر تیمارها معنادار بود (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر تغذیه با سیلیسیم بر میزان پرولین نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با سیلیسیم توانست میزان پرولین (۰/۴۹ میکروگرم بر گرم وزن تازه) را با اختلاف معناداری نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ۴). در این پژوهش میزان پرولین تحت تنش سرب افزایش یافت. این افزایش در میزان پرولین بیشتر در سطح ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سرب مشاهده گردید. که این افزایش در میزان پرولین با تحقیقات (کیابی و همکاران، ۱۳۹۲) همسو است آنها گزارش کردند، میزان پرولین با افزایش غلظت سرب در گیاهی جعفری (*Petroselinum crispum L.*) افزایش یافته است. در شرایط تنش فلزات سنگین مقدار آمینوسیدهای گیاه به ویژه پرولین تغییر می‌کند (Zhang et al., 2009). اسیدآمینو پرولین باعث محافظت از گیاه در مقابل صدمات می‌گردد (Wang et al., 2009). تحت تنش فلزات سنگین افزایش غلظت پروتئین کل نشان دهنده افزایش اسید آمینه پرولین است. راه کار بیشتر گیاهان در واکنش به تنش فلزات سنگین افزایش تولید پرولین می‌باشد. تحریک تولید پرولین از گلوتامیک اسید و افزایش مقدار آن در گیاه در خاک‌های آلوده به سرب توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است (Andrade et al., 2009). همچنین سیلیسیم باعث افزایش میزان پرولین در گیاه شوید شد، به گونه‌ای که بیشترین میزان پرولین در تیمار تنش ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سرب همراه با محلول‌پاشی سیلیسیم حاصل شد. که

کالوین اعلام نمودند. از این رو به احتمال زیاد افزایش فعالیت چرخه کالوین در اثر افزایش آنزیم رابیسکو، کمبود سوسترای لازم برای چرخه را به دنبال داشته که در پی آن ساخت رنگدانه‌های فتوسنتزی و در راس آنها محتوای کلروفیل در واحد سطح برگ بای تامین انرژی لازم، افزایش یافته است (Dong et al., 2005).

کاروتنوئیدها: با توجه به جدول تجزیه واریانس تاثیر تنش

سرب بر میزان کاروتنوئیدها در در سطح یک درصد معنی‌دار شد در صورتیکه محلول پاشی سیلیسیم و اثر متقابل سرب و سیلیسیم اثر معنی‌داری نداشتند (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش سرب بر شاخص میزان کاروتنوئیدها نشان داد که بیشترین میزان این شاخص (۲/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان پرورش یافته در شرایط بدون تنش سرب (شاهد) حاصل گردید که با تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معناداری نداشت. کمترین آن (۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطح (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مشاهده شد که با تمامی تیمارها اختلاف معناداری نشان داد ولی با تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معناداری نشان نداد (جدول ۳).

کربوهیدرات کل: نتایج مقایسه میانگین اثر تنش سرب بر

شاخص میزان کربوهیدرات کل نشان داد که بیشترین میزان این شاخص (۰/۳۷ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب به دست آمد که با تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معناداری داشت و کمترین آن (۰/۰۹ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در تیمار شاهد حاصل شد که با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب تفاوت معناداری نداشت ولی اختلاف آن با سایر تیمارها معنادار بود (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر تغذیه با سیلیسیم بر میزان کربوهیدرات کل نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با سیلیسیم توانست میزان کربوهیدرات کل (۰/۲ میکروگرم بر گرم وزن تازه) را با اختلاف معناداری نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ۴). بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات کل در گیاه شوید، بیانگر افزایش معنی‌دار این شاخص تحت تأثیر سرب مازاد در گیاه شوید است. در شرایط تنش‌زای محیطی گیاهان متابولیسم قندها را افزایش می‌دهند. با

سرب بر این شاخص نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۱۲ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بوده که با غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب اختلاف معناداری نداشت اما با تیمارهای شاهد و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب اختلاف معناداری نشان داد و کمترین آن (۰/۶ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر تغذیه با سیلیسیم بر میزان کاتالاز نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با سیلیسیم توانست میزان کاتالاز (۱ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) را با اختلاف معناداری نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ۴). اثر تنش سرب بر شاخص فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در تحقیق حاضر نشان داد که بیشترین میزان شاخص‌های اندازه‌گیری شده در تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سرب حاصل شد. طی تحقیقات صورت گرفته افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک جذب عناصر غذایی برای رشد گیاه را کاهش می‌دهد که ممکن است به دلیل ممانعت از فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیداز و کاتالاز باشد که از طریق تنش فلز سنگین ایجاد می‌شود (Di Gregorio et al., 2006). در این زمینه نتایج محققان نشان داد که در پاسخ به تنش فلزات سنگین، سیستم‌های دفاعی گیاهان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز تولید می‌کنند (Groppa et al., 2007). در کلم پیچ (*Brassica oleracea* و اسفناج (*Spinacia oleracea*) افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌هایی چون کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیداز دیسموتاز در اثر تنش فلزات سنگین نشان داده شده است (Pandey et al., 2009; Posmyk et al., 2008). طی آزمایشات صورت گرفته در این تحقیق محلول پاشی سیلیسیم فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را به طور معنی‌داری تحت تنش سرب افزایش داد. نتایج مشابهی در برخی ارقام اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) گزارش گردید (Gong et al., 2005). افزایش در فعالیت این آنزیم‌ها از جمله پاسخ‌های عمومی به انواع تنش‌های اکسیدکننده می‌باشد و گزارش شده است که پراکسیداز نقش کلیدی در تحمل به تنش دارند. همچنین میتال

با بررسی‌های انجام شده توسط (کیابی و همکاران، ۱۳۹۲) همسویی دارد. نقش پرولین در هنگام تنش، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها، جلوگیری از تجزیه ماکرومولکول‌ها، دخالت در استحکام دیواره سلولی و پاکسازی هیدروکسیل‌های تولیدی تحت تنش در گیاه است. به نظر می‌رسد سیلیسیم با افزایش میزان پرولین این وظایف را شدت می‌بخشد (Haddad and Moshiri, 2011) که با نتایج ما مطابقت دارد. تجمع پرولین تحت شرایط تنش ممکن است به دلیل کاهش اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز باشد (Sharma and Kuhad, 2006). پرولین نقش محافظت‌کنندگی آنزیم‌های سیتوزولی و ساختار سلولی را بر عهده دارد لذا پرولین در شرایط تنش، در سلول انباشت می‌شود (اکبری مقدم، ۱۳۹۱). تانوا و همکاران (Tanoua et al., 2009) افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های برگ‌های همزمان با تحریک ایزوفرم‌های مربوطه تحت شرایط تنش را گزارش دادند. کاربرد سیلیسیم باعث افزایش جذب کربن خالص، سرعت هدایت روزنه‌ای و مقدار تعرق در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد شد (Mittal et al., 2014; Polanco et al., 2012).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۴۸ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در سطح چهارم تنش (غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب) بوده که با سایر تیمارهای سرب اختلاف معناداری نشان داد و کمترین آن (۲۸ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر تغذیه با سیلیسیم بر میزان پراکسیداز نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با سیلیسیم توانست میزان پراکسیداز (۴۲ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) را با اختلاف معناداری نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ۴).

فعالیت آنزیم کاتالاز: با توجه به جدول تجزیه واریانس فعالیت آنزیم کاتالاز در تنش سرب، سیلیسیم در سطح پنج درصد معنی‌دار است و اثرات متقابل تنش سرب و سیلیسیم معنی‌دار نیست (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر تنش

oleracea (Sinha et al., 2006). سرب باعث عدم تعادل در تغذیه بافت های گیاهی می شود. در اغلب موارد سرب ورود کاتیون هایی نظیر پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن و روی را به درون سیستم ریشه ای متوقف می سازد (Kabatapendias and Pendias 1992). نشان داده شده است که در ذرت جذب کلسیم در حضور سرب کاهش می یابد که با نتایج ما در مورد کلسیم هم خوانی دارد (Walker et al., 1997). به طور مشابه، Azmat و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که یک رابطه معکوس بین تجمع یون های Pb^{2+} و Ca^{2+} وجود دارد و به دلیل شباهت یونی میان آنها، Pb در فرآیندهای فیزیولوژیکی خاص جایگزین Ca می شود. Brunet و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که ریشه *Lathyrus sativus L.* در معرض تنش سرب حاوی کلسیم بسیار کمتری نسبت به گیاهان شاهد است. و کاهش مقدار Ca را با جایگزینی یون های کلسیم توسط یون های Pb توضیح می دهد که دارای ارتباط بالایی با پکتین در دیواره های سلولی است. کاهش در محتویات Ca در گیاهان تحت تأثیر Pb نیز در سایر گونه ها مانند گونه های ذرت، گوجه فرنگی و خردل مشاهده شده است (Sharma and Dubey, 2005). و این می تواند ناشی از مهار کلسیم توسط یون های Pb باشد (Wojas et al., 2007) و یا جایگزینی یون های کلسیم با یون های Pb باشد (Habermann et al., 1983).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که تنش ناشی از سرب باعث کاهش رشد و تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه شوید می شود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که گیاهانی که با سیلیکون محلول پاشی شده بودند از سمیت سرب حفاظت شده بودند و همچنین رشد بهتری داشتند که این امر احتمالاً نقش سیلیکون را در افزایش مقاومت گیاهانی که تنش سرب را تحمل کرده اند، آشکار می کند. همچنین این ماده با بالا بردن محتوای تنظیم کننده اسمزی (پرولین) و حفظ تعادل آبی سلول از کاهش شدید محتوای نسبی آب برگ

و همکاران در آزمایشی نشان دادند که بهبود عملکرد فعالیت کلزا تحت تنش، مربوط به افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در اثر محلول پاشی با سیلیسیم بوده است (Mittal et al., 2012). این آنزیم قادر است بدون نیاز به عامل احیاء کننده تبدیل کند و H_2O_2 موجود در سلول را به H_2O و O_2 تبدیل کند (Turkan et al., 2005). کاتالاز علاوه بر اینکه H_2O_2 را از محیط حذف میکند کمبود اکسیژن حاصل از واکنش ملر را نیز جبران می نماید (Arora et al., 2000).

غلظت سرب در بخش هوایی شوید: با توجه به جدول

تجزیه واریانس غلظت سرب در تنش سرب در سطح یک درصد معنی دار شد در صورتیکه محلول پاشی سیلیسیم و اثر متقابل سرب و سیلیسیم معنی دار نیست (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر تنش سرب بر این شاخص نشان داد که بیشترین میزان سرب (0.052 mgkg^{-1}) در سطح ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب بوده که با غلظت ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب اختلاف معناداری نداشت اما با تیمارهای شاهد و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب اختلاف معناداری نشان داد و کمترین آن (0.007 mgkg^{-1}) در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۳).

غلظت کلسیم در بخش هوایی شوید: با توجه به جدول

تجزیه واریانس غلظت کلسیم در تنش سرب در سطح یک درصد معنی دار شد در صورتیکه محلول پاشی سیلیسیم و اثر متقابل سرب و سیلیسیم معنی دار نیست (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر تنش سرب بر شاخص غلظت کلسیم نشان داد که بیشترین میزان کلسیم ($158/68$) در تیمار شاهد به دست آمد که با سایر تیمارها اختلاف معناداری داشت. و کمترین میزان ($126/27$) در سطح ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب بوده که با سایر غلظت های سرب اختلاف معناداری داشت (جدول ۳). که نسبت به تیمار شاهد حدود ۲۱ درصد کاهش نشان داد

گزارش شده است که جذب سرب باعث کاهش غلظت کاتیون های کاتیون (Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) در برگهای گیاهان *Brassica Z. mays* (Seregin et al., 2004).

جلوگیری کرد که این امر سبب پایداری ساختار سلول در برابر تنش سرب شد.

منابع

- آغاز، م.، بنده حق، ع.، تورچی، م و قاسمی گلعدانی، ک. (۱۳۹۱) شاخص‌های رشد گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens*) تحت تنش سرب، دوازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، کرج، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.
- اکبری مقدم، ع. (۱۳۹۱) تسهیم ماده خشک و عکس‌العملهای مورفوفیزیولوژیکی ارقام گندم تحت تأثیر تنش خشکی در مراحل مختلف رشد. پایان نامه دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل.
- پیوست، غ. (۱۳۸۶) سبزیکاری، چاپ ششم، رشت: انتشارات دانش پذیر.
- کیایی، ش.، راهنورد، آ و سیدموسوی، ا. (۱۳۹۲)، بررسی تأثیر سرب بر پارامترهای رشد، مقدار پروتئین و پرولین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و انباشت فلز در گیاه جعفری (*Petroselinum crispum L.*)، اولین همایش منطقه ای گیاهان دارویی شمال کشور، گرگان، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان.
- Akinci, I. E., Akinci, S. and Yilmaz, K. (2010) Response of tomato (*Solanum lycopersicum L.*) to lead toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll and water content. *African Journal of Agriculture Research* 5: 416-423.
- Al-aghabary K., Zhu, Z. and Shi Q. (2004) Influence of silicon supply on chlorophyll content, nchlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Journal of Plant Plant Nutrition* 27: 2101–2115.
- Andrade, S. A. L., Gratao, P. L., Schiavinato, M. A., Silveira, A. P. D., Azevedo, R. A. and Mazzafera, P. (2009). Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations. *Chemosphere* 75: 1363-1370.
- Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23:112-121.
- Arora, A., Byrem, T. M., Nair, M. G. and Strasburg, G. M. (2000) Modulation of liposomal memberane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 373: 102-109.
- Azooz, M. M., Youssef, M. M. and Al-Omair, M. A. (2011) Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects on growth and some physiological responses of Hassawi Okra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. *American Journal of Plant Physiology* 6: 269-282
- Bates, I., Waldern, R. and Tear, I. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 93: 205- 207.
- Brunet, J., Repellin A., Varrault, G., Terryn, N. and Zuily-Fodil Y. (2008) Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus L.*): a novel plant for phytoremediation systems? *Comtes Rendus Biologies* 331: 859-864.
- Cheng S. and Huang, C. (2006) Influence of cadmium on growth of root vegetable and accumulation of cadmium in the edible root. *International Journal of Applied and. Science Engineering*.3, 243-252.
- Di Gregorio, S., M., Barbaferi, S., Lampis, A.M., Sanangelantoni, E., Tassi, E. and Vallini, G. (2006) Combined application of Triton X-100 and Sinorhizobium sp. Pb002 inoculum for the improvement of lead phytoextraction by *Brassica juncea* in EDTA amended soil. *Chemosphere* 63: 293-299.
- Dong J , Wu, F. and Zhang, G. (2005) Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. *Journal of Zhejiang University Science* 6: 974-980.
- Feng, J., Shi, Q., Wang, X., Wei, M., Yang, F. and Xu, H. (2011) Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus L.* *Scientia Horticulturae* 123: 521–530.
- Gee G. W. and Orr, D. (2002) Particle- size analysis. *Soil Science Society of America. Madison* 16: 255- 293.
- Gong, H., X. Zhu, K. Chen, W. Suomin, and C. H. Zhang. (2005). Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science* 169: 313-321.
- Gong, H. J., Chen, K. M., Zhao, Z. G., Chen, G. C. and Zhou, W. J. (2008) "Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages". *Biological plantarum*, 523: 592-596.
- Groppa, M. D., Tomaro, M. L. and Benarides, M. P. (2007) Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in Cadmium and Copper treated wheat leaves. *Bioresource Technology* 98: 3149-3153.
- Habermann E., Crowell K. and Janicki, P. (1983). Lead and other metals can substitute for Ca²⁺ in calmodulin. *Archive of Toxicology* 54: 61–70.
- Haddad R.V. and Moshiri Z. (2011) Silicon impact on increasing drought tolerance in barley leaf stage two. *Modern genetics* 5: 47-58.

- Haghighi, M. and Pesarakli, M. (2013) Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherrytomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. *Scientiae Horticulturae* 161: 111–117.
- Hodson, M. J., White, P. J., Mead, A. and Broadley, M. R. (2005) Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. *Annual of Botany* 96:1027-46.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.
- Kabata - Pendis, A. and Pendias, H. (1992) Trace elements in soils and Plant. 2nd edn. CRC. Press, Boca Raton, London.
- Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.
- Kosobrukhov A. and knyazeva, I. (2004). Plantago major plants responses to increase content of lead in soil: growth and photosynthesis. *Plant Growth Regulation* 42: 145- 151.
- Lin, C.J., Liu, L., Liu, T., Zhu, L., Sheng, D. and Wang, D. (2009) Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. *Environmental and Experimental Botany* 65: 410-416.
- Liu, J., Zhang, H., Zhang, Y. and Chai, T. (2013) Silicon attenuates cadmium toxicity in *Solanum nigrum* L. by reducing cadmium uptake and oxidative stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 68: 1–7.
- Ma, J. F. and Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Plant Science* 11: 392-397.
- Marciol, L., Assolari S. and Sacco P. (2004) Phytoextraction of heavy metals by Canola (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environmental Pollution* 132: 21-24.
- Mc knon, M., Hermle, S., Günthardt-Goerg, M. S. and Schulin, R. (2007) Effects of heavy metal soil pollution and acid rain on growth and water use efficiency of a young model forest ecosystem. *Plant and Soil* 297: 171-183.
- Michalska, M. and Asp, H. (2001) Influence of Lead and Cadmium on growth, heavy metal uptake and nutrient concentration on three lettuce cultivars grown in hydroponic culture. *Communication in Soil Science and Plant Analyses* 32: 571–583.
- Mittal, S., Kumari, N. and Sharma, V. (2012) Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry* 54: 17-26.
- Nelson, D. W. and Sommers, L. E. (1982) Total carbon, organic carbon and organic matter: *In*: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney) *Methods of soil analysis. Part 2 Chemical and Microbiological Properties* 9: 539-579.
- Pandey, N., Pathak, G. C., Pandey, D. K. and Pandey, R. (2009) Heavy metals, Co, Ni, Cu, Zn and Cd produce oxidative damage and evoke differential antioxidant responses in spinach. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 21: 103-111.
- Parsadoost, F., Bahreininejad, B., Safarisanjani, A. and Kaboli, M. (2007) Phytoremediation of lead with native rangeland plants in Irankooch polluted soils. *Pajuhesh Sazandegi* 75: 54-63.
- Patra, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B. and Sharma, A. (2004) Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 52: 199-223.
- Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Zylkiewicz, B. and Zambrzycka, E. B. (2010) Changes in growth, biochemical components, and antioxidant activity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae) exposed to cadmium and lead. *Arch Environmental Contamination and Toxicology* 58:594-604.
- Polanco, L. R., Rodrigues, F. A., Nascimento, K. J. T., Cruz, M. F.A., Curvelo, C. R. S., DaMatta, F. B. M. and Vale F. X. R. (2014) Photosynthetic gas exchange and antioxidative system in common bean plants infected by *Colletotrichum lindemuthianum* and supplied with silicon. *Tropical Plant Pathology*, 39: 35-42.
- Posmyk, M. M., Kontek, R. and Janas, K. M. (2008) Antioxidant Enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 596-602.
- Azmat, R. Haider, S., Nasreen, H., Aziz, F. and Riaz, M. (2009) Viable alternative mechanism in adapting the plants to heavy metal environment *Pakistan Journal of Botany* 41: 2729-2738
- Reddy, A. M., Kumar, S.G., Jyonthsnakumari, G., Thimmanaik, S. and Sudhakar, C. (2005) Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) and bengalgram (*Cicer arietinum* L.). *Chemosphere* 60: 97–104.
- Redman, R., Haraldson, J. and Gusta, L. (1986) Leakage of UV- absorbing substances as a measure of salt injury in leaf tissue of woody species. *Physiologia Plantarum* 67: 87- 91.
- Ritchie, S. and Nguyen, H. (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotype differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105- 111.
- Richmond k. E, and Sussmsn, M. (2003) Got silicon? the non-essential beneficial plant nutrient. *Current opinion in plant biology* 6:268-272. Romero-Aranda M. R., Jurado, O., and Cuartero, J. 2006. Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. *Journal of Plant Physiology* 163: 847-855.

- Rubio, C., Lucas, J. R. D., Gutiérrez, A. J., Glez-Weller, D., Pérez Marrero, B., Caballero, J. M., Revert, C. and Hardisson, A. (2012) Evaluation of metal concentrations in mentha herbal teas (*Mentha piperita* L. *Mentha pulegium* L and *Mentha* species) by inductively coupled plasma spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 71: 11-17.
- Seregin, I.V, Shpigun, L.K.and Ivanov, V. B. (2004) Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology* 51:525–533.
- Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005) Lead toxicity in plants. *Plant Physiology* 17: 35-52.
- Sharma, K. D. and Kuhad, M.S. (2006) Influence of Potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of Brassica Species. *Brassica Journal* 8: 71-74.
- Shi, G. R., Cai, Q. S. and Liu, C. F. (2010) Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes. *Plant Growth Regulation* 61:45–52.
- Sinha, P., Dube, B., Srivastava, P., Chatterjee, C. (2006) Alteration in uptake and translocation of essential nutrients in cabbage by excess lead. *Chemosphere* 65:651–656.
- Tanoua, G., Molassiotis, A. and Diamantidis, G. (2009) Hydrogen peroxide-and nitric oxide-induced systemic antioxidant prime-like activity under NaCl-stress and stress-free conditions in citrus plants. *Journal of Plant Physiology* 166: 1904-1913.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdermir, F. and Koca, H. (2005) Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science* 168: 223-231.
- Van Assche, F. and Clijsters. H. (1990) A biological test system for the evaluation of the phytotoxicity of metalcontaminated soils. *Environmental Pollution* 66: 157-172.
- Verma, S. and Dubey, R. S. (2001) Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia plantarum* 44: 117 – 123.
- Walker, W. M., Miller, J.E. and Hassett, J. J. (1977) Effect of lead and cadmium upon the calcium, magnesium, potassium, and phosphorus concentration in young corn plants. *Soil Science* 124 145–151.
- Wang, F., Zeng, B., Sun, Z. and Zhu, C. (2009) Relationship between proline and Hg²⁺-induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56: 723-731.
- Wojas S., Rusczyńska, A., Bulska, E., Wojciechowski, M. and Antosiewicz D. M. (2007) Ca²⁺-dependent plant response to Pb²⁺ is regulated by LCT1. *Environmental Pollution* 147: 275–286.
- Zhang, H. H., Tang, M. and Zheng, C. (2010) Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations. *European Journal of Soil Biology* 46: 306-311.
- Zhu, Z, Wei, G., Li, J., Qian, Q. and Yu, J. (2004) Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science* 167: 52.

Effect of silicon nutrition on growth, physiological and biochemical characteristics of dill (*Anethum graveolens* L) under Pb stress conditions.

Akram Rahbari¹, Behrooz Esmailpour^{1*}, Hamideh Fatemi³ and Ali Ashraf Soltani Toolarood²

¹Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Mohaghegh Ardabili University

² Department of Soil Science, College of Agriculture, Mohaghegh Ardabili University

(Received: 02/08/2017, Accepted: 07/02/2018)

Abstract

Silicon is one of the beneficial elements for plants; recent studies have shown that this element plays a very important role in plant resistance to environmental stresses, including heavy metal stress. To evaluate the effect of silicon foliar spraying on increasing tolerance to lead contamination in dill (*Anethum graveolens* L) a factorial experiment based on completely randomized design with four replications was conducted in greenhouse condition in 2015-2016. Experimental factors included soil contamination by lead (0, 400, 600 and 1000 mg/kg soil) from (Pb (NO₃)₂ source and silicon (From Na₂SiO₃·5H₂O source) levels 1 mM and control (spraying with water). During this experiment, traits such as plant height, plant dry weight, leaf number, lateral branch number, root dry weight, electrolyte leakage, leaf relative water content, photosynthetic pigments, proline, total carbohydrates and catalase and peroxidase enzymes activity, concentration of lead and calcium concentration in the plant's shoot were measured. The results showed that lead stress had a significant reduction effect on the measured growth parameters of the plant. The highest root dry weight, stem diameter, leaf relative water content was obtained in the control plants which were treated by 1 mM silicon. The highest value for proline and carbohydrates production, catalase and peroxidase enzymes activity were obtained by combination of spraying with 1 mM of silicon at under 1000 ppm lead contamination. In general, the results of this study showed that the foliar application of silicon can be advised for improving growth of dill plants under lead contamination stress conditions.

Key words: Antioxidant enzymes, Carbohydrate, Photosynthetic pigments, Proline, Chlorophyll

*Corresponding author, Email: bsmailpour2008@gmail.com