مقاله پژوهشی

کاهش اثر شوری و سرب ریشه گیاهچه‌های سیر (*Allium sativum*) با بهبود دفاع اکسیدانتی توسط سلنیوم و سولفید هیدروژن

نساء قره‌باغلی[۱] و علی سپهری[۲*]

[۱] گروه کشاورزی، دانشگاه پیام‌نور، تهران

[۲] گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

(تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۷/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۰/۱۱/۰۴)

چکیده

سلنیوم و سولفید هیدروژن با بهبود سیستم دفاع اکسیدانتی می‌توانند اثرات نامطلوب تنش اکسیداتیو در گیاهان را تخفیف دهند. به‌منظور بهبود دفاع اکسیدانتی در ریشه گیاه سیر تحت تنش سرب و شوری با استفاده از سلنیوم و سولفید هیدروژن، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح صفر، ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم و سه غلظت صفر، 10^{-5} و 10^{-3} مولار نیترات سرب و تخفیف‌دهندهای تنش شامل سلنیوم با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر سلنات سدیم، سولفید هیدروژن با غلظت ۲۰۰ میکرومولار هیدروژن سولفید سدیم بود. نتایج نشان داد با افزایش غلظت شوری و سرب کاهش معنی‌داری در طول و وزن خشک ریشه مشاهده شد. در تیمار 10^{-5} مولار سرب تحت شوری ۷۵ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز به‌ترتیب ۴/۴۴، ۱۱/۷۶ و ۱۰/۴۷ درصد نسبت به تنش مذکور در حالت بدون سرب و ۷۵ میلی‌مولار شوری با کاربرد سلنیوم بهبود یافت. به‌طورکلی سلنات سدیم و هیدروژن سولفید سدیم سبب کاهش جذب سرب در بافت ریشه و افزایش طول و وزن خشک ریشه تحت تنش شوری در غلظت سرب 10^{-5} مولار شدند ولی در غلظت 10^{-3} مولار سرب این اثر ملاحظه نشد. نتایج کلی نشان داد تأثیر سلنیوم نسبت به سولفید هیدروژن طی تنش شوری در کاهش اثرات منفی سرب مشهودتر است. به‌نظر می‌رسد تخفیف‌دهنده سلنیوم از طریق کاهش جذب سرب و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاه سبب بهبود پارامترهای رشدی ریشه سیر تحت تنش شوری در غلظت‌های پایین سرب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، سلنات سدیم، سولفید هیدروژن، شوری، محتوای سرب

مقدمه

شوری یکی از تنش‌های مهم کاهش‌دهنده رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی و باغی است. تنش شوری تعادل یونی را در گیاهان تحت تأثیر قرار داده، سبب پراکسیداسیون چربی‌ها، از بین‌رفتن تمامیت غشا و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود (Liu *et al.*, 2021). علاوه بر شوری، گیاهان در معرض انواع مختلفی از آلاینده‌ها مانند سوخت‌های فسیلی، پساب صنایع، کودهای شیمیایی، حشره کش‌ها و... قرار دارند. چنین آلاینده‌هایی عمدتاً از طریق خاک، آب و یا آتمسفر وارد سیستم گیاه می‌شوند (Uzu *et al.*, 2010). سرب یکی از

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: sepehri2748@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

سمی‌ترین و فراوان‌ترین آلاینده‌ها است که در اثر بسیاری از فعالیت‌های صنعتی مانند سوخت‌های فسیلی، باطری‌سازی و رنگ‌سازی به تمام محدوده‌های محیطی شامل خاک، آب، جو و موجودات زنده وارد می‌شود. این عنصر زیست تخریب نبوده و برای مدت طولانی در خاک باقی می‌ماند لذا اثرات زیان‌باری بر سیستم‌های بیولوژیک وارد می‌سازد. (Flora *et al.*, 2012; Ashraf *et al.*, 2015). غلظت طبیعی سرب در خاک در محدوده ۱۰ تا ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بوده و غلظت بحرانی آن ۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک است (متشرع‌زاده و ثواقبی، ۱۳۹۴). سرب به‌دلیل انباشت زیاد در بخش سطحی خاک، به‌سرعت در دسترس گیاه قرار گرفته و با جذب از طریق ریشه موجب تغییر در برخی فرآیندهای متابولیک و اختلال در رشدونمو گیاه می‌گردد (Ali *et al.*, 2014). حضور سرب در بافت گیاه به‌دلیل اختلال در فرآیندهای سلول، تولید گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد (Ali *et al.*, 2014). از سوی دیگر گزارش شده تنش شوری به تنهایی یا به‌همراه سایر تنش‌ها سبب القای تنش اکسیداتیو در سلول و آسیب‌رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Netondo *et al.*, 2004). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مهمترین ترکیبات در سیستم‌های جاروب‌گر گونه‌های فعال اکسیژن بوده و نخستین راه مقابله با تنش‌های اکسیداتیو هستند (Pan *et al.*, 2006). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از غشاهای سلولی در مقابل اثرات مخرب ROS که در برابر تنش‌های غیرزنده تولید می‌شوند، محافظت نموده و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش می‌شوند (Meloni *et al.*, 2003).

تنش شوری در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین با توجه به نوع گیاه، غلظت شوری و نوع فلز سنگین اثرات مختلفی بر ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه دارد (Wang and Wu, 2010). لذا کاربرد ترکیباتی که در کاهش اثرات منفی تنش‌ها بر روی گیاهان مؤثر هستند امری ضروری به‌نظر می‌رسد. گزارش شده سلنیوم به‌عنوان یکی از عناصر مفید برای رشد گیاهان، می‌تواند گیاهان را در برابر اثرات نامطلوب تنش‌ها حفظ نماید (Feng *et al.*, 2013). مطالعات متعدد نقش سلنیوم در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش شوری، در گیاه برنج (Badawy *et al.*, 2021) و کلم پیچ (Kucukyumuk and Suarez, 2021) و کاهش اثرات نامطلوب تنش سرب در گیاه برنج (Hu *et al.*, 2014) را تأیید می‌کند. همچنین اثر سلنیوم به‌عنوان ارتقاءدهنده ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی گیاه تحت تنش‌های محیطی نشان داده شده است (Sepehri and Gharehbaghli, 2018). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد سولفید هیدروژن به‌طور مؤثر اثرات سوء تنش‌های غیرزنده مانند شوری و فلزات سنگین را کاهش می‌دهد (Lai *et al.*, 2014; Bharwana *et al.*, 2014). به‌نظر می‌رسد سولفید هیدروژن در ارتباط متقابل با هورمون‌های گیاهی و دیگر پیام‌رسان‌ها (سیگنال‌دهنده‌ها) در کاهش اثرات نامطلوب تنش‌ها مؤثر بوده و از طریق مهار کانال‌های کلسیمی غشای پلاسمایی، از ورود کادمیوم و دیگر فلزات سنگین به سلول جلوگیری کرده و با کاهش تجمع فلز سنگین مانع سمیت بالا در سلول می‌شوند (Huang *et al.*, 2020). در حال حاضر، اطلاعات مربوط به اثرات سلنیوم و سولفید هیدروژن بر صفات رشدی و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانتی در گیاهان تحت تنش شوری و همچنین تنش سرب در گیاهان بسیار محدود بوده و نیاز به بررسی بیشتری دارد.

گیاه سیر (*Allium sativum*) از نظر تولید جهانی در بین گیاهان پیازی، بعد از پیاز خوراکی در رتبه دوم قرار دارد (Kamenetsky and Rabinowitch, 2017). این گیاه نسبتاً حساس در برابر تنش شوری (Francois, 1994) و سرب (Liu *et al.*, 2009) است. با توجه به اینکه گیاهان خانواده آلیاسه جزء گیاهان سلنوفروز (سلنیوم دوست) هستند (Mirza *et al.*, 2010)، لذا تمایل بالایی برای جذب و انباشت سلنیوم از محیط ریشه دارند. از سوی دیگر سیر منبع مهمی از گوگرد است. این ویژگی‌ها در انتخاب سلنیوم و سولفید هیدروژن به‌عنوان تخفیف‌دهنده‌های تنش در گیاه سیر اهمیت ویژه‌ای دارد. تاکنون مطالعات بسیاری در ارتباط با اثر تنش‌ها و تخفیف دهنده‌های تنش بر خصوصیات رشدی و فعالیت آنزیم‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

آنتی‌اکسیدانت در اندام هوایی گیاهان انجام شده است اما اطلاعات در مورد ریشه به‌خصوص در گیاهان پیازی و جنبه‌های مختلف آن محدود است. هدف از انجام این پژوهش بررسی وضعیت تجمع سرب در ریشه و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و همچنین نحوه اثر سلنیوم و سولفید هیدروژن، بر تجمع سرب و فعالیت آنزیم‌های مذکور تحت تنش سرب و شوری در ریشه سیر توده بومی همدان است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از توده بومی سیر همدان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه و آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. سیرچه‌های با کیفیت مناسب و سایز یکسان (۶-۴ گرم) برای جوانه‌زنی اولیه و تولید گیاهچه انتخاب شدند. برای پرورش گیاهچه‌ها در شرایط هیدروپونیک از گلدان‌های حاوی محلول غذایی هوگلند استفاده شد. هر گلدان حاوی ۵ لیتر محلول غذایی و شامل ۱۶ گیاهچه بود که به‌طور مرتب عمل هوادهی با پمپ انجام می‌شد. گیاهچه‌های چهارده روزه به‌مدت هفت روز در سه سطح شوری (صفر، ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار) از منبع کلرید سدیم، سرب با سه غلظت (صفر، 10^{-5} و 10^{-3} مولار) از منبع نیترات سرب، و تخفیف دهندهای تنش شامل سلنیوم با غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنات سدیم، سولفید هیدروژن با غلظت ۲۰۰ میکرومولار از ترکیب هیدروژن سولفید سدیم و بدون کاربرد تخفیف‌دهنده (شاهد) به‌طور همزمان قرار گرفتند. ترکیبات موجود در محلول غذایی شامل نیترات پتاسیم (KNO_3)، نیترات کلسیم ($Ca(NO_3)_2$)، سدیم دی‌هیدروژن فسفات (NaH_2PO_4)، سولفات منیزیم ($MgSO_4$)، کلرید منگنز ($MnCl_2$)، اسید بوریک (H_3BO_3)، سولفات روی ($ZnSO_4.\ 7H2O_2$)، سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O_2$)، مولیبدات آمونیوم ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$))، کلات آهن (Fe EDTA) بود. همه تیمارها مدت زمان روشنایی در طول دوره آزمایش ۱۴ ساعت در روز تنظیم شد. دمای گلخانه بین ۱۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد در طول شبانه روز متغیر و میانگین رطوبت نسبی گلخانه ۶۰ درصد بود.

پس از انجام آزمایش، وزن خشک ریشه اندازه‌گیری شد. طول ریشه از محل طوقه تا انتهای آخرین تار ریشه در نظر گرفته شد و با استفاده از کولیس دیجتال مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. به‌منظور تعیین مقدار سرب ریشه‌ها، اندام مورد نظر در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده شده و سپس آسیاب شدند. با استفاده از ۰/۲ گرم از ماده خشک پودرشده با استفاده از روش هضم مرطوب انجام و توسط دستگاه جذب اتمی مدل (Varian 220) محتوای سرب ریشه اندازه‌گیری و خوانده شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه-گیری شد. برای سنجش میزان فعالیت از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Cary 100 ساخت استرالیا استفاده گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز به‌مدت ۵ دقیقه در فواصل ۲۰ ثانیه‌ای با استفاده از ضریب خاموشی ۳۹/۴ میلی‌مول بر سانتی‌متر در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری گردید. در اثر واکنش بین آسکوربات پراکسیداز و آسکوربیک اسید و پراکسید هیدروژن، دهیدروآسکوربات تولید شده که در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم در طول ۳ دقیقه با فواصل زمانی ۲۰ ثانیه‌ای با استفاده از ضریب خاموشی ۲/۸ میلی‌مول بر سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نیز به روش اسپکتروفتومتری و براساس قابلیت بازدارندگی از احیای فتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Beauchamp and Fridovich, 1971).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS انجام شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

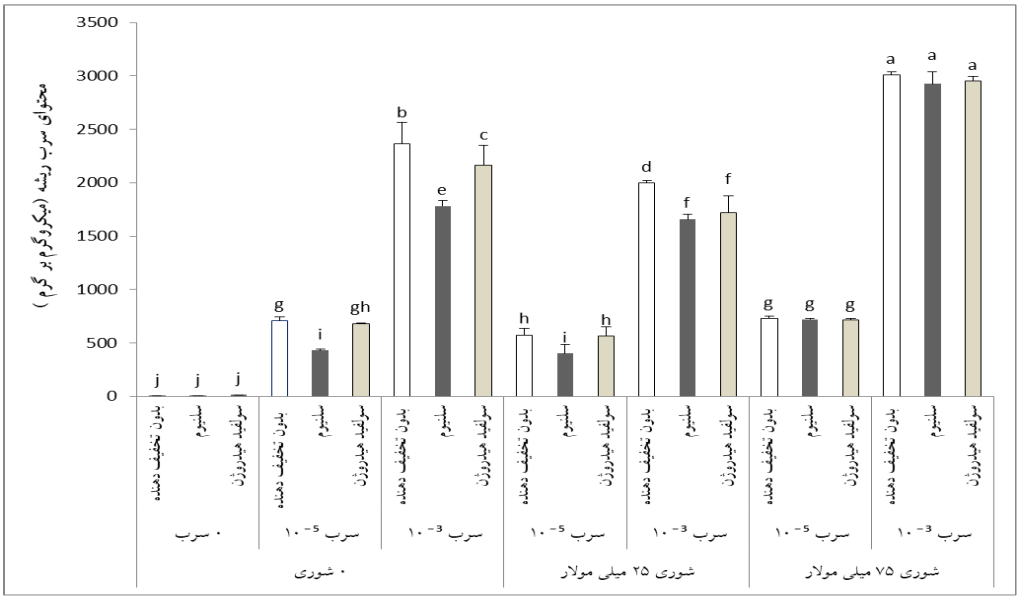
نتایج و بحث

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر شوری، سرب و تخفیف‌دهنده‌های تنش بر محتوای سرب، وزن خشک و طول ریشه در گیاهچه‌ی سیر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		محتوای سرب ریشه	وزن خشک ریشه	طول ریشه
شوری (S)	۲	۱۳۶۰۰۱۵/۳۱ **	۰/۱۱ **	۴۹/۲۸ **
سرب (P)	۲	۳۸۵۹۵۲۴۹/۹۹ **	۰/۱۶ **	۱۱۶/۳۰ **
تخفیف‌دهنده (A)	۲	۱۹۹۴۸۱/۹۱ **	۰/۰۰۹ **	۱۶/۷۴ **
S × P	۴	۸۴۵۱۱۸/۴۰ **	۰/۰۰۵ **	۲/۳۸ *
S × A	۴	۴۴۲۸/۵۲ **	۰/۰۰۰۵ *	۱/۰۲ ns
P × A	۴	۶۶۰۹۹/۵۵ **	۰/۰۰۱ **	۱/۷۷ ns
S × P × A	۸	۱۳۷۱۸/۸۲ *	۰/۰۰۲ *	۰/۱۲ ns
خطا	۵۴	۵۵۳۲/۳۷	۰/۰۰۰۱	۰/۸۰
ضریب تغییرات (٪)	–	۷/۶۰	۷/۲۳	۱۱/۳۱

***، ** و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌داری را نشان می‌دهند.**



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش تنش شوری، سرب و تخفیف‌دهنده تنش بر جذب سرب در ریشه‌های گیاهچه سیر. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD هستند.

محتوای سرب ریشه: محتوای سرب ریشه سیر به‌صورت معنی‌دار تحت تأثیر تنش شوری، سرب و تخفیف‌دهنده‌های تنش قرار گرفت. همچنین اثرات متقابل دوگانه و برهمکنش سه‌گانه فاکتورهای مورد مطالعه معنی‌دار شدند (جدول ۱). نتایج نشان داد با افزایش غلظت سرب به 10^{-3} مولار، محتوای سرب ریشه‌ها نسبت به شاهد به‌شدت افزایش یافت (شکل ۱). سرب عنصری است که به‌طور غیرفعال و به‌دنبال انتقال آب وارد ریشه گیاه می‌شود، لذا علت عمده جذب سرب در ریشه به سبب اختلاف غلظت سرب محیط ریشه و داخل ریشه است. لازم به ذکر است نتایج تحقیقات مختلف بیان‌کننده افزایش تجمع سرب در ریشه با افزایش غلظت آن در محیط ریشه است (نعمتی و بستانی، ۱۳۹۳؛ Rahimi *et al.*, 2011

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

Bharwana *et al.*, 2014). براساس شکل ۱، مقایسه میانگین برهمکنش تنش شوری و سرب، تنش شوری ۲۵ میلی‌مولار میزان جذب سرب ریشه را ۲۳/۸۶ درصد در غلظت 10^{-5} مولار سرب کاهش داد اما شوری ۷۵ میلی‌مولار در غلظت‌های مختلف سرب سبب افزایش تجمع سرب در ریشه گردید. تنش شوری بسته به غلظت و تحمل گیاه می‌تواند اثرات متفاوتی بر محتوای فلز سنگین تجمع‌یافته در گیاه ایجاد کند (Shafi *et al.*, 2010). براساس گزارش (Norvell *et al.*, 2000) تنش شوری می‌تواند از طریق کاهش فعالیت فلز سنگین در محیط‌کشت باعث کاهش جذب فلز سنگین در بافت گیاه شود، این کاهش فعالیت از طریق افزایش pH توسط شوری قابل توجیه است. از سوی دیگر گزارش شده با افزایش شوری، فراهمی فلزات سنگین و جذب آنها توسط گیاهان می‌تواند افزایش یابد (Filipovic *et al.*, 2018). به‌نظر می‌رسد اثر مضر کلرید سدیم در غلظت بالا و پاسخ گیاه به جذب سرب تا حدی در ارتباط با غلظت‌های نمک بالاتر از حد آستانه تحمل گیاه باشد که به تجمع سرب در حجم مشخص بافت منجر می‌گردد. از سوی دیگر سلنیوم نسبت به سولفید هیدروژن میزان جذب سرب در ریشه را به مقدار بیشتری کاهش داد. به‌طوریکه کاربرد سلنیوم، تحت شرایط شوری ۲۵ میلی‌مولار به‌ترتیب ۳۰/۱۳ و ۱۷/۰۳ درصد جذب سرب را در غلظت‌های 10^{-5} و 10^{-3} مولار سرب کاهش داد. احتمالاً این موضوع مرتبط با سلنیوم دوست‌بودن گیاه سیر بوده به‌صورتی‌که گیاه در رقابت برای جذب، سلنیوم را بر فلز سنگین ترجیح می‌دهد (قره‌باغلی و سپهری، ۱۳۹۷).

وزن خشک ریشه: براساس نتایج جدول ۱ اختلاف معنی‌داری بین وزن خشک ریشه گیاهچه‌ها در شرایط شوری، سرب و تخفیف‌دهنده‌های تنش مشاهده می‌شود. برهمکنش‌های دوگانه و سه گانه تیمارهای مورد بررسی نیز تفاوت‌های معنی‌داری در وزن خشک ریشه نشان دادند. وزن خشک ریشه تحت تنش شوری و سرب کاهش یافت (جدول ۲). مطالعات زیادی کاهش وزن خشک ریشه در تنش شوری را تأیید می‌کنند (ارچنگی و همکاران، ۱۳۹۱؛ دهقانی و مستاجران، ۱۳۸۹). از آنجا که ریشه در تماس مستقیم با شوری است و برای جذب آب از محیط شور نیاز به صرف انرژی دارد، لذا رشد آن کاهش می‌یابد. همچنین کاهش رشد ریشه می‌تواند ناشی از اثر سمی یون سدیم و کلر و یا عدم تعادل در جذب عناصر غذایی به‌وسیله گیاه باشد. نتایج آزمایش در حضور سرب نشان‌دهنده تحمل سیر به تنش سرب تا غلظت 10^{-5} مولار است. اتصال سرب به دیواره سلولی و انتقال آن به واکوئل، یکی از مکانیسم‌های تحمل سرب در ریشه گیاهان است. گیاهانی مانند سیر که توانایی اصلاح خاک و آب، از فلزات سنگین را دارند مقادیر از سرب را در واکوئل‌های ریشه تجمع داده و آن را سمیت‌زدایی می‌کنند (Fahr *et al.*, 2013). عدم کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه در تیمار 10^{-5} مولار احتمالاً به‌علت وجود نیترات در ترکیب نیترات سرب و متعاقب آن رشد رویشی بوده است. درحالیکه در تیمار 10^{-3} مولار سرب علی‌رغم بالابودن میزان نیترات، رشد گیاه کاهش یافته است. این امر نشان می‌دهد توده سیر همدانی در غلظت 10^{-3} مولار قادر به تحمل تنش ناشی از سمیت سرب نیست.

برهمکنش شوری و سرب نشان داد در همه سطوح شوری، سرب در غلظت کم، کاهشی در وزن خشک ریشه ایجاد نکرد در حالیکه در غلظت بالای سرب کاهش شدید در وزن خشک ریشه مشهود بود. در شرایط شوری و یا سرب استفاده از تخفیف‌دهنده‌های سلنیوم و سولفید هیدروژن تا حدی اثر بازدارنده تنش‌های مذکور را کاهش داد. این اثر در کاربرد سلنیوم نسبت به سولفید هیدروژن در شرایط تنش شوری یا سرب مشهودتر بود (جدول ۳، ۴ و شکل ۲). به‌نظر می‌رسد نقش مثبت سلنیوم و سولفید هیدروژن در کاهش جذب سرب در ریشه سبب کاهش سمیت سرب و درنهایت بهبود رشد شده است. سلنیوم نیز به سبب کاهش بیشتر جذب سرب نسبت به سولفید هیدروژن در افزایش وزن خشک ریشه برتری داشت. Mroczek-Zdyrska و Wojcik (۲۰۱۲) اظهار داشتند که اثر بهبوددهنده سلنیوم بر وزن خشک ریشه در گیاه باقلا در شرایط تنش سرب به‌دلیل اثر سلنیوم بر کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از سرب است. در توجیه این اثر می‌توان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر عوامل شوری و سرب بر طول و وزن خشک ریشه

تیمار		طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه (گرم)
شوری	سرب		
صفر	۰	۱۰/۳۳± ۱/۱۸^{a}	۰/۲۸ ± ۰/۰۸^{a}
	$۱۰^{-۵}$	۹/۵۵ ± ۱/۲۸ ^{a}	۰/۲۶ ± ۰/۳^{b}
	$۱۰^{-۳}$	۷/۴۲ ± ۱/۴۲^{b}	۰/۱۶ ± ۰/۰۵^{c}
۲۵ میلی‌مولار	۰	۹/۵۵ ± ۱/۱۵^{a}	۰/۲۵ ± ۰/۰۶^{b}
	$۱۰^{-۵}$	۹/۷۷ ± ۱/۱۲^{a}	۰/۲۶ ± ۰/۰۵^{b}
	$۱۰^{-۳}$	۵/۶۶ ± ۱/۱۷^{c}	۰/۰۸ ± ۰/۰۴^{e}
۷۵ میلی‌مولار	۰	۷/۴۲ ± ۱/۱۴^{b}	۰/۱۳ ± ۰/۰۷^{d}
	$۱۰^{-۵}$	۷/۴۹ ± ۱/۳۴^{b}	۰/۱۷ ± ۰/۰۹^{c}
	$۱۰^{-۳}$	۳/۷۲ ± ۱/۵۳^{d}	۰/۰۲ ± ۰/۰۱^{f}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD هستند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر عوامل شوری و تخفیف‌دهنده تنش بر طول و وزن خشک ریشه

تیمار		طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه (گرم)
شوری	تخفیف‌دهنده		
صفر	۰	۸/۰۱± ۱/۱۵^{cd}	۰/۲۲ ± ۰/۰۵^{b}
	سلنیوم	۱۰/۲۲ ± ۱/۲۸^{a}	۰/۲۶ ± ۰/۰۱^{a}
	سولفید هیدروژن	۸/۸۸ ± ۱/۴۶^{b}	۰/۲۱ ± ۰/۰۶^{b}
$۱۰^{-۵}$	۰	۷/۵۰ ± ۱/۱۰^{de}	۰/۱۸ ± ۰/۰۷^{c}
	سلنیوم	۹/۰۰ ± ۱/۰۰^{b}	۰/۲۲ ± ۰/۰۴^{b}
	سولفید هیدروژن	۸/۵۳ ± ۱/۱۱^{bc}	۰/۱۹ ± ۰/۰۸^{c}
$۱۰^{-۳}$	۰	۵/۸ ± ۱/۰۲^{g}	۰/۰۹ ± ۰/۰۳^{e}
	سلنیوم	۶/۸۸ ± ۱/۱۴^{ef}	۰/۱۲ ± ۰/۰۶^{d}
	سولفید هیدروژن	۶/۵۰ ± ۱/۰۳^{fg}	۰/۱۱ ± ۰/۰۵^{d}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD هستند.

یادآور شد که سلنیوم یک جزء مهم گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-PX) است که در مکانیسم‌های دفاع داخل سلولی برعلیه تنش اکسیداتیو، توسط جلوگیری از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن شرکت می‌کند. این عنصر دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی است و می‌تواند مکانیسم‌های محافظتی کاهش‌دهنده تنش اکسیداتیو را از طریق آنزیمی و غیرآنزیمی و همچنین کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، فعال کند (Paciolla *et al.*, 2011).

طول ریشه: طول ریشه به‌صورت خیلی معنی‌داری تحت تأثیر شوری، تنش سرب و تخفیف‌دهنده‌های تنش قرار گرفت.

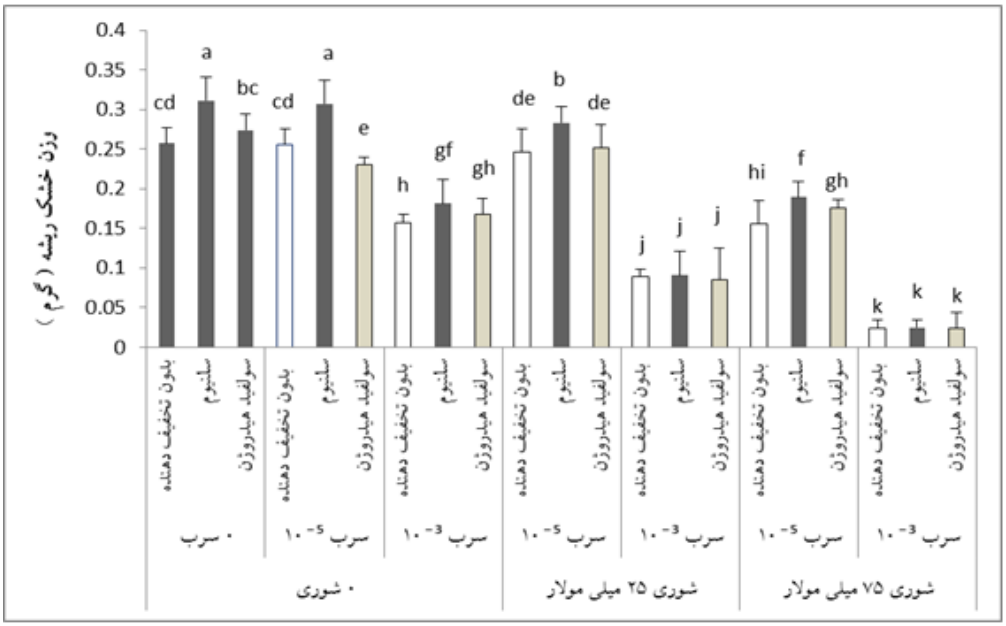
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر عوامل سرب و تخفیف‌دهنده تنش بر طول و وزن خشک ریشه

تیمار		طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه (گرم)
سرب	تخفیف‌دهنده		
صفر	۰	۸/۱۱± ۱/۰۵^{d}	۰/۱۹ ± ۰/۰۶^{c}
	سلنیوم	۱۰/۲۳ ± ۱/۲۹^{a}	۰/۲۵ ± ۰/۰۷^{a}
	سولفید هیدروژن	۹/۲۱ ± ۱/۰۱^{bc}	۰/۲۱ ± ۰/۰۶^{b}
$۱۰^{-۵}$	۰	۸/۰۰ ± ۱/۱۰^{d}	۰/۲۱ ± ۰/۰۷^{b}
	سلنیوم	۱۰/۰۵ ± ۱/۰۳^{ab}	۰/۲۵ ± ۰/۰۴^{a}
	سولفید هیدروژن	۹/۱۱ ± ۱/۱۲^{c}	۰/۲۱ ± ۰/۰۶^{b}
$۱۰^{-۳}$	۰	۵/۲۷ ± ۱/۱۴^{e}	۰/۰۹ ± ۰/۰۳^{d}
	سلنیوم	۵/۸۳ ± ۱/۰۴^{e}	۰/۰۹ ± ۰/۰۶^{d}
	سولفید هیدروژن	۵/۵۰ ± ۱/۰۳^{e}	۰/۰۹ ± ۰/۰۵^{d}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD هستند.



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش تنش شوری، سرب و تخفیف‌دهنده تنش بر وزن خشک ریشه گیاهچه‌های سیر. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD هستند.

ولی برهمکنش شوری و سرب در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با تشدید تنش شوری و تنش سرب طول ریشه سیر کاهش یافت به‌طوریکه کاهش ۲۰ درصدی در طول ریشه سیر در شوری ۷۵ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۲). فخری و همکاران (۱۳۹۵) و Singh و Roy (۲۰۱۶) کاهش طول ریشه در گیاهچه‌های گندم و پیاز را در اثر تنش شوری قبلاً گزارش کرده‌اند. کاهش طول ریشه تحت تنش شوری احتمالاً در ارتباط با اثرات منفی یون‌های کلرید سدیم بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه است. تنش سرب نیز سبب کاهش ۳۰/۱ درصدی طول ریشه در غلظت $۱۰^{-۳}$

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

مولار سرب شد. قابل ذکر است اثر اولیه سمیت سرب در گیاهان، مهار سریع رشد ریشه است، که ممکن است به‌علت مهار تقسیم سلولی در نوک ریشه اتفاق بیافتد (Eun *et al.*, 2000). طبق اظهارات Foy و همکاران (۱۹۷۸) قسمت اعظم سرب جذب‌شده در دیواره سلول‌های ریشه رسوب کرده، موجب ایجاد شکاف‌هایی در دیواره شده و درنتیجه از رشد طولی ریشه ممانعت می‌کند. اثر بازدارنده سرب نیز بر تقسیم سلولی در ریشه‌ها در چند گونه گیاهی از جمله گندم (Kaur *et al.*, 2013)، ذرت (Kozhevnikova *et al.*, 2009) و نخودفرنگی (Malecka *et al.*, 2009) با کاهش طول ریشه گزارش شده است. برخلاف غلظت بالای سرب، تیمار 10^{-5} مولار نیترات سرب کاهش معنی‌داری در طول ریشه ایجاد نکرد. لذا، این نوع تأثیر سرب بر طول ریشه در گیاه سیر ممکن است به سبب غلظت کمتر از حد بحرانی سرب در محیط‌کشت و نیز نوع منبع سرب (نیترات سرب) باشد. احتمالاً نیترات موجود در ترکیب مذکور مانع بروز اثرهای منفی سرب در گیاه شده است. با توجه به مشاهدات Liu و همکاران (۲۰۰۹) غلظت سرب تا 10^{-5} مولار اثر سوء بر رشد ریشه سیر ندارد، بلکه اثر افزایشی بر رشد طولی ریشه خواهد داشت.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین مربوط به تخفیف‌دهنده‌های تنش نشان داد که رشد طولی ریشه در حضور هر دو تخفیف‌دهنده نسبت به شاهد بیشتر بود. طبق نتایج Abd-Allah و همکاران (۲۰۱۶) در گیاه گوجه‌فرنگی نیز اثر مثبت سلنیوم بر طول ریشه تأیید شده است. نتایج نشان داد که بیشترین طول ریشه سیر مربوط به سلنیوم بوده به گونه‌ای که طول ریشه با کاربرد سلنیوم ۲۲/۱۹ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافت (جدول ۲). هر چند که نقش بهبود دهنده سولفید هیدروژن نیز بر طول ریشه کلزا (Ali *et al.*, 2014) و اسفناج (Chen *et al.*, 2014) نیز گزارش شده است.

برهمکنش تنش شوری و سرب بر طول ریشه سیر معنی‌دار بود. کمترین طول ریشه در تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار در غلظت 10^{-3} مولار سرب حاصل شد (جدول ۲ و شکل ۲). گزارش‌هایی از کاهش طول ریشه در برهمکنش شوری و سرب در گیاهان ماش (Singh *et al.*, 2003) و گز (Kadukova and Kalogerakis, 2007) وجود دارد. هنگامی که گیاهان در معرض انواع مختلفی از تنش قرار می‌گیرند، مسیرهای انتقال سیگنال ارتباطی، ایجاد می‌شوند (Mittler, 2006). تعامل بین این مسیرها می‌تواند خنثی، افزایشی و یا هم‌افزایی باشد که ممکن است منجر به پاسخ جدید غیرقابل پیش‌بینی گردد (Pandey *et al.*, 2015). در اغلب موارد، پاسخ گیاه به تنش ترکیبی از پاسخ به تنش‌های فردی متفاوت است (Prasch and Sonnewald, 2013). از این رو به‌نظر می‌رسد اثر ناشی از ترکیب عوامل تنش‌زای شوری و سرب در ارتباط با غلظت شوری و سرب، به گونه گیاهی و مدت زمان مواجه با تنش ترکیبی باشد. در گیاهچه‌های اسفناج (قربانی و همکاران، ۱۳۹۵) و برخی دیگر از گیاهان هالوفیت گزارش شده است که کلرید سدیم در غلظت‌های کم، مسمومیت ناشی از سرب و سایر فلزات سنگین بر رشد را محدود می‌کند، این نتایج متفاوت از مشاهداتی است که در گیاهچه‌های سیر و در برهمکنش شوری و سرب دیده شد. این تفاوت احتمالاً به‌دلیل تفاوت در گونه گیاهی است.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در ریشه به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر شوری، سرب و تخفیف‌دهنده‌ها قرار گرفت (جدول ۵). همچنین برهمکنش دوگانه سرب و شوری و برهمکنش شوری و تخفیف‌دهنده‌های تنش بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در شوری ۷۵ میلی‌مولار افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ریشه کاملاً مشهود بود. مرآتی و همکاران (۱۳۹۴) نیز افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اثر تنش شوری در ریشه گیاه پونه معطر را گزارش کرده‌اند. غلظت 10^{-5} مولار سرب موجب تشدید فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ریشه‌های سیر شد. لازم به ذکر است در تنش شدید سرب (10^{-3} مولار) فعالیت این آنزیم در ریشه‌ها کاهش یافت و تأثیر بازدارنده سرب بر این آنزیم قابل‌ملاحظه بود (شکل a ۳). اثر بازدارنده یا محرک سرب بر فعالیت آنزیم‌های

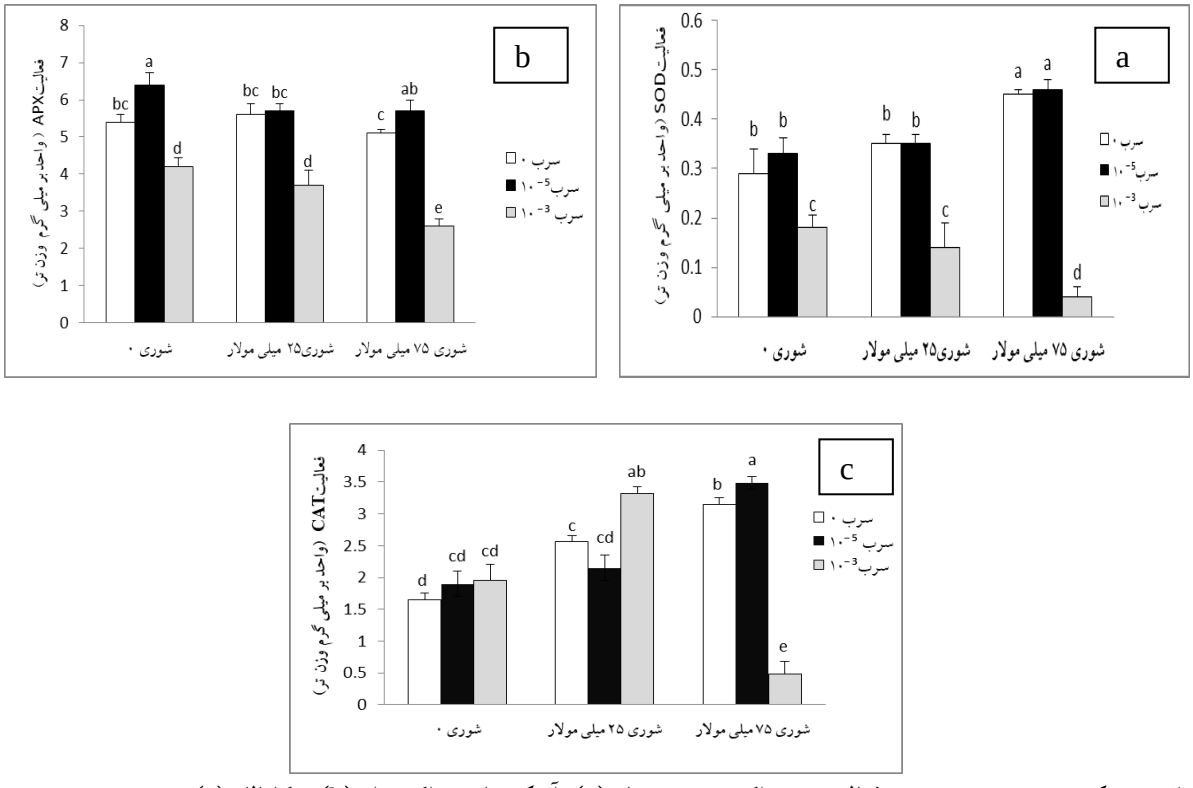
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر شوری، سرب و تخفیف‌دهنده‌های تنش بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ریشه‌های گیاهچه‌ی سیر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز
شوری (S)	۲	۰/۰۲ **	۶/۰۸ **	۲۶/۱۳**
سرب (P)	۲	۰/۸۸ **	۷۳/۱۱ **	۱۱/۸۸**
تخفیف‌دهنده (A)	۲	۰/۰۴ **	۴/۸۵ **	۱/۲۹ns
S × P	۴	۰/۱۰ **	۱/۸۷ **	۶۶/۴۰**
S × A	۴	۰/۰۱۱ **	۱/۶۷ **	۲/۱۸ns
P × A	۴	۰/۰۰۰۴ ns	۰/۰۴ ns	۰/۸۱ns
S × P × A	۸	۰/۰۰۱۱ ns	۰/۰۴ ns	۱/۶۵ns
خطا	۵۴	۰/۰۰۲	۰/۴۳	۰/۲۰
ضریب تغییرات (٪)	–	۱۳/۵۰	۸/۰۴	۲۰/۰۸

***، ** و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌داری را نشان می‌دهند.**



شکل ۳- برهمکنش شوری و سرب بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (a)، آسکوربات پراکسیداز (b) و کاتالاز (c).

آنتی‌اکسیدانتی به شکل ویژه عنصر، گونه گیاهی، شدت و مدت تنش ارتباط دارد (Singh *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2009). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ریشه نخود فرنگی (Dias *et al.*, 2019)، سیر (Liu *et al.*, 2009) و کنجد (Amooaghaie *et al.*, 2017) تحت تنش سرب نیز گزارش شده است. افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین ممکن است به‌علت سنتز مولکولی پروتئین‌های آنزیمی باشد (Diwan *et al.*, 2008). از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

سوی دیگر گزارش شده است غلظت‌های بالای سرب در ریشه کلزا (Ali *et al.*, 2014) و پنبه (Bharwana *et al.*, 2014) موجب کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گردیده است. در همین رابطه Fatima و Ahmad (۲۰۰۴) گزارش کردند غلظت‌های زیاد از فلزات سنگین در محیط‌کشت، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را به‌علت اتصال یون‌های فلزی به قسمت‌های فعال آنزیم کاهش می‌دهد. در ضمن احتمال می‌رود سرب با ایجاد اختلال در جذب عناصر معدنی مانند روی، آهن و منگنز که کوفاکتورهای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی هستند سبب کاهش سنتز آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شده باشد.

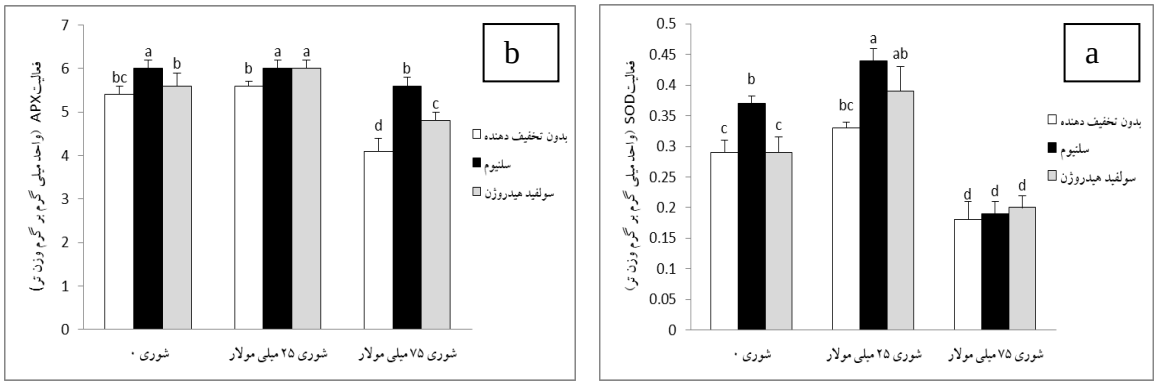
با افزایش تنش شوری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ریشه‌های سیر در سطح 10^{-5} مولار سرب تغییر معنی‌داری نسبت به تیمار بدون سرب نشان نداد. درحالیکه در غلظت 10^{-3} مولار سرب و شوری ۷۵ میلی‌مولار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۶۲/۲ درصد کاهش یافت (شکل a ۳). این امکان وجود دارد که در تیمار غلظت بالای سرب و شوری تولید گونه‌های فعال بیش از حد تحمل گیاه افزایش یابد و درنتیجه آن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی مختل گردد (Chamseddine *et al.*, 2009).

از سوی دیگر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر برهمکنش شوری و تخفیف‌دهنده‌های تنش قرار گرفت به‌طوریکه سلنیوم و سولفید هیدروژن فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را به‌ترتیب تقریباً ۳۳ و ۱۸ درصد تحت تنش ۲۵ میلی‌مولار شوری بهبود بخشیدند. این تأثیر در سطح بالای تنش شوری مشاهده نشد (شکل c ۴). نتایج برخی تحقیقات حاکی از آن است که کاربرد سلنیوم در شرایط تنش شوری با بهبود جذب آهن، مس، روی و منگنز در گیاه اثر مثبتی بر تولید ایزوآنزیم‌های مختلف سوپراکسید دیسموتاز (Fe-SOD, Mn-SOD, Cu/Zn-SOD) و درنهایت افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کل داشته باشد (Seppanen *et al.*, 2003). همچنین اثر بهبوددهنده سولفید هیدروژن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در حضور شوری ممکن است به سبب نقش مفید آن از طریق تحریک فعالیت این آنزیم‌ها باشد. به‌طور مشابه، افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در ریشه‌های خیار تحت شرایط شوری توسط Jiang و همکاران (۲۰۱۹) گزارش شده است. احتمال می‌رود اثر محرک سولفید هیدروژن بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی ناشی از اثر سیگنالی آن باشد (Zhang *et al.*, 2009). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در گیاهان معمولاً به متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربات، گلوتاتیون، پلی-فنول‌ها و فلاونوئیدها بستگی دارد (Ksouri *et al.*, 2007)، به‌ویژه آسکوربات و گلوتاتیون نقش کلیدی در انتقال سیگنال ردوکس در گیاهان عالی تحت شرایط تنش دارند (Foyer and Noctor, 2011). گزارش شده است که سولفید هیدروژن می‌تواند باعث سنتز گلوتاتیون در گیاهان شود (Lu *et al.*, 2008). بنابراین، این متابولیسم ممکن است تا حدی مسئول ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر باشد. در پژوهش دیگر Wang و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که افزودن هیدروژن سولفید سدیم به محیط ریشه گیاهان یونجه تحت تنش شوری به‌طور قابل‌توجهی فعالیت‌های آنزیم آنتی-اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز را از طریق فعال‌کردن بیان آنزیم‌ها در سطح رونویسی بهبود داد. بسیاری از مطالعات نیز نشان داده‌اند که سولفید هیدروژن می‌تواند استرس اکسیداتیو را با افزایش بیان و فعالیت برخی آنزیم‌ها، مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، پلی‌فنل اکسیداز (PPO)، مونودهیدرو آسکوربات ردوکتاز (MDHAR)، دهیدروآسکوربات ردوکتاز (DHAR) و گایاکول پراکسیداز (GPX) را کاهش دهد (Wei *et al.*, 2019; Ye *et al.*, 2020).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: تأثیر عوامل شوری، سرب و تخفیف‌دهنده‌های تنش و همچنین برهمکنش‌های دوگانه شوری در سرب و شوری در تخفیف‌دهنده‌های تنش بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). شوری ۲۵ میلی‌مولار سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شرایط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]



شکل ۴- برهمکنش شوری و تخفیف‌دهنده تنش بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (a) و آسکوربات پراکسیداز (b)

عدم شوری شد اما در غلظت ۷۵ میلی‌مولار شوری، کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشاهده گردید. براساس شکل b ۳ ملاحظه می‌شود غلظت 10^{-5} مولار سرب نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به عدم حضور سرب شده است. در صورتیکه در تنش شدید سرب (10^{-3} مولار) کاهش محسوس در فعالیت آنزیم مذکور مشاهده گردید. چنین روندی در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز دیده شد (شکل a ۴). Ali و همکاران، (۲۰۱۴) در ریشه‌های کلزا نتایج مشابهی مبنی بر افزایش و کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطوح کم و زیاد تنش سرب را گزارش دادند. با توجه به روند مشابه تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌توان به این موضوع اشاره کرد که افزایش فعالیت این آنزیم سبب تولید H_2O_2 در ریشه‌ها می‌شود و از آنجا که آنزیم آسکوربات پراکسیداز تمایل بالایی نسبت به کاتالاز به تجزیه پراکسید هیدروژن دارد لذا متناسب با محتوای پراکسید هیدروژن فعالیت آن تغییر می‌یابد. قابل ذکر است برهمکنش دوگانه تخفیف‌دهنده‌ها در سرب اثر معنی‌داری در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان نداد.

در تحقیق حاضر فعالیت آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر برهمکنش شوری و سرب قرار گرفت (شکل b ۳). در واقع برهمکنش شوری و سرب روندی مشابه با تغییرات سرب نشان داد. احتمالاً به سبب غالب‌بودن اثرات تنش سرب بر فعالیت آنزیم‌ها، روند تغییرات در این تیمار مشابه سرب بوده باشد.

فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه‌های سیر به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر شوری و سرب قرار گرفت. همچنین برهمکنش دوگانه عوامل مذکور نیز بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار شد (جدول ۵). شوری ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار به‌ترتیب سبب افزایش ۴۸/۶۷ و ۳۶/۹۲ درصدی در فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. چنین روندی در فعالیت آنزیم کاتالاز در آزمایش ملکی و همکاران (۱۳۹۶) در ریشه‌های گیاه وتیوار گراس (*Chrysopogon zizanioides*) گزارش شده است. عموماً تنش شوری با تأثیر بر انتقال الکترون در فرایندهایی مانند فتوسنتز باعث ایجاد H_2O_2 در گیاه می‌شود. افزایش H_2O_2 سبب کاهش میزان رشد و آسیب‌های غشایی شده، در چنین شرایط آنزیم کاتالاز فعال می‌گردد و با تجزیه H_2O_2 به آب و اکسیژن اثرات مخرب آن را خنثی می‌کند. در حقیقت حذف مقادیر اضافی و دخالت در تنظیم ظرفیت مقادیر مناسب H_2O_2 عمدتاً به عهده آنزیم کاتالاز است (Sairam and Tyagi, 2004).

مشابه با نتایج تنش سرب بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز، فعالیت کاتالاز در ریشه‌های سیر در سطح سرب 10^{-5} مولار تشدید شد. لازم به ذکر است در تنش سرب شدید (10^{-3} مولار) فعالیت این آنزیم به‌شدت کاهش یافت و تأثیر بازدارندگی سرب بر این آنزیم ملاحظه شد (شکل‌های ۳ a تا c). فعالیت آنزیم کاتالاز هماهنگ با فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ریشه‌های سیر در معرض تنش سرب القاء شد، این امر به نقش حفاظتی این آنزیم و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

سوپراکسید دیسموتاز در فرایند مهار H_2O_2 در متابولیسم سلول اشاره دارد. به عبارت دیگر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در ریشه‌ها قابل انتظار بود زیرا افزایش در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز منجر به تولید H_2O_2 می‌شود که در مراحل بعدی باید سمیت‌زدایی شود تا وضعیت ردااکس سلولی حفظ شود. بنابراین در شرایط تنش سرب بالارفتن فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به تنهایی نمی‌تواند از گیاه در برابر سمیت رادیکال‌های اکسیژن محافظت کند و افزایش فعالیت دیگر آنزیم‌ها (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) در سمیت‌زدایی H_2O_2 ضروری است. از سوی دیگر در تنش شدید با تولید بیش از حد ROS، از توانایی گندزدایی سیستم آنزیمی حفاظت‌کننده پیش افتاده و سبب کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

شکل c ۳ نشان می‌دهد که کمترین میزان فعالیت کاتالاز در تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار و 10^{-3}مولار سرب و بیشترین فعالیت در تیمار 10^{-3} مولار سرب و بدون شوری حاصل شد. چنین به‌نظر می‌رسد که در برهمکنش شوری و سرب (10^{-3} مولار)، شوری ۲۵ میلی‌مولار نسبت به شرایط بدون شوری اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرده است. در توجیه اثرات برهمکنش شوری و سرب بر فعالیت کاتالاز می‌توان اذعان کرد که در ریشه‌های سیر در همه حالات برهمکنش مذکور، فعالیت آنزیم افزایش یافته است بجز تیمار شوری ۷۵ میلی مولار و 10^{-3} مولار سرب که به‌نظر می‌رسد تنش ترکیبی حاصل‌شده از حد تحمل گیاه بیشتر بوده و سیستم دفاع آنزیمی گیاه دچار اختلال گردیده است.

نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش حاکی از کاهش خصوصیات رشدی ریشه، در غلظت بالای سرب و تنش شوری بود. با افزایش شدت تنش شوری و سرب تجمع سرب در ریشه‌های گیاه افزایش یافت و به‌دنبال آن کاهش محسوس در وزن خشک ریشه مشاهده شد. با افزایش غلظت سرب به 10^{-3} مولار، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در ریشه کاهش یافت ولی میزان کاهش برای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بیشتر بود. ترکیبات تخفیف‌دهنده مورد استفاده باعث بهبود وزن خشک و طول ریشه گیاه در شرایط تنش شده و تجمع سرب در ریشه‌ها و بهبود فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را تحت تأثیر قرار دادند. علی‌رغم اثر مثبت هر دو ترکیب مورد استفاده، تخفیف‌دهنده تنش سلنیوم بر سولفید هیدروژن در بهبود تمامی صفات مورد بررسی برتری داشت. لازم به ذکر است اثر بهبوددهندگی هر دو ترکیب در شدت‌های کم تنش‌ها بیشتر مشهود بود و در غلظت‌های بالای سرب و شوری اثر مثبت آنها ملاحظه نشد.

منابع

ارچنگی، آ.، خدامباشی، م. و محمدخانی، ع. (۱۳۹۱) تأثیر تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیک و میزان عناصر سدیم، پتاسیم و کلسیم در گیاه دارویی شنبلیله (*Trigonella foenum* gracum) تحت شرایط کشت هیدروپونیک. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۱۰: ۴۰-۳۳.

دهقانی، ا. و مستاجران، ا. (۱۳۸۹) اثر تنش شوری بر رشد رویش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی در گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale* Roscoe.). داروهای گیاهی ۱: ۸-۱.

متشرع‌زاده، ی. و ثواقبی، غ. (۱۳۹۴) گیاه پالایی یا پالایش سبز. انتشارات دانشگاه تهران.

ملکی، ط.، عطائیان، ب.، محمدپرست، ب. و اخضری، د. (۱۳۹۶) اثر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه وتیوار گراس *Chrysopgon zizanioides* در شرایط گلخانه‌ای. حفاظت زیست‌بوم گیاهان۱۰: ۱۳۸-۱۱۹.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

قربانی، ه.، حیدری، م. و غفاری، م. (۱۳۹۵) تأثیر سطوح مختلف شوری و عناصر سنگین سرب و کادمیوم بر رشد، رنگدانه‌های فتوسنتزی و مقادیر سدیم و پتاسیم در اسفناج. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۲۵: ۲۳-۱۵.

قره‌باغلی، ن. و سپهری، ع. (۱۳۹۷) اثر سلنیوم بر جذب کادمیوم، خصوصیات رشدی و فتوسنتزی گیاهچه‌های سیر در معرض کادمیوم و کلرید سدیم در شرایط هیدروپونیک. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۱: ۱۴-۱.

مرآتی، م.، نیکنام، و.، حسن‌پور، ح. و میرمعصومی، م. (۱۳۹۴) مقایسه اثر تنش شوری بر رشد و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های مختلف گیاه پونه معطر (*Mentha pulegium* L.). مجله پژوهش‌های گیاهی ۵: ۱۱۰۷-۱۰۹۷.

نعمتی، ح. و بستانی، ع. (۱۳۹۳) بررسی امکان جذب سرب و کادمیوم توسط گیاه گوجه‌فرنگی در حضور باکتری‌های PGPR و قارچ میکوریزی آربوسکولار. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار ۱: ۲۳۳-۲۱۹.

Abd- Allah, E. F., Hashem, A. and Alqarawia, A. (2016) Mitigation of cadmium induced stress in tomato (*Solanum lycopersicum*) by selenium. Pakistan Journal of Botany 48: 953-961.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology, Elsevier 1: 121-126.

Ali, B., Mwamba, T. M., Gill, R. A., Yang, C., Ali, S., Daud, M. K., Wu, Y. and Zhou, W. (2014b) Improvement of element uptake and antioxidative defense in *Brassica napus* under lead stress by application of hydrogen sulfide. Plant Growth Regulation 74: 261-273.

Amooaghaie, R., Zangene-madar, F. and Enteshri, S. (2017) Role of two-sided crosstalk between NO and H_2S on improvement of mineral homeostasis and antioxidative defense in *Sesamum indicum* under lead stress. Ecotoxicology and Environmental safety 139: 210-218.

Ashraf, U., Kanu, A. S., Mo, Z., Hussain, S., Anjum, S. A., Khan, I., Abbas, R. N. and Tang, X. (2015) Lead toxicity in rice: Effects, mechanisms, and mitigation strategies—a mini review. Environmental Science and Pollution Research 22: 18318-18332.

Badawy, S. A., Zayed, B. A., Bossiouni, S. M. A., Mahdi, A. H. A., Majrashi, A., Ali, E. F. and Seleiman, M. F. (2021) Influence of nano silicon and nano selenium on root characters, growth, ion selectivity, yield, and yield components of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity conditions. Plants 10: 1657.

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

Becana, M., Moran, J. F. and Iturbe-Ormaetxe, I. (1998) Iron dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: Toxicity and antioxidant protection. Plant and Soil 201: 137-147.

Bharwana, S. A., Ali, S., Farooq, M. A., Ali, B., Iqbal, N., Abbas, F. and Ahmad, M. S. A. (2014) Hydrogen sulfide ameliorates lead-induced morphological, photosynthetic, oxidative damages and biochemical changes in cotton. Environmental Science and Pollution Research 21: 717-731.

Chamseddine, M., Wided, B. A., Guy, H., Marie-Edith, C. and Fatma, J. (2009) Cadmium and copper induction of oxidative stress and antioxidative response in tomato (*Solanum lycopersicon*) leaves. Plant Growth Regulation 57: 89-99.

Chen, J., Wu, F. H., Wang, W. H., Zheng, C. J., Lin, G. H., Dong, X. J., He, J. X., Pei, Z. M. and Zheng, H. L. (2011) Hydrogen sulphide enhances photosynthesis through promoting chloroplast biogenesis, photosynthetic enzyme expression, and thiol redox modification in *Spinacia oleracea* seedlings. Journal of Experimental Botany 62: 4481-4493.

Christou, A., Manganaris, G. A., Papadopoulos, L. and Fotopoulos, V. (2013) Hydrogen sulfide induces systemic tolerance to salinity and non-ionic osmotic stress in strawberry plants through modification of reactive species biosynthesis and transcriptional regulation of multiple defence pathways. Journal of Experimental Botany 64: 1953-1966.

Dias, M. C., Mariz-ponte, N. and Santos, C. (2019) Lead induces oxidative stress in *Pisum sativum* plants and changes the levels of phytohormones with antioxidant role. Plant Physiology and Biochemistry 137: 121-129.

Diwan, H., Ahmad, A. and Iqbal, M. (2008) Genotypic variation in the phytoremediation potential of *Indian mustard* for chromium. Environmental Management 41: 734-741.

Djanaguiraman, M., Devi, D. D., Shanker, A. K., Sheeba, J. A. and Bangarusamy, U. (2005) Selenium–an antioxidative protectant in soybean during senescence. Plant and Soil 272: 77-86.

Eun, S. O., Shik Youn, H. and Lee, Y. (2000) Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*. Physiologia Plantarum 110: 357-365.

Fahr, M., Laplaze, L., Bendaou, N., Hocher, V., El Mzibri, M., Bogusz, D. and Smouni, A. (2013) Effect of lead on root growth. Frontiers in Plant Science 4: 175.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

Fatima, R. A. and Ahmad, M. (2004) Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. Science of the Total Environment 346: 256-73.

Feng, R., Wei, C. and Tu, S. (2013) The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. Environmental and Experimental Botany 87: 58-68.

Filipovic, L., Romic, M., Romic, D., Filipovic, V. and Ondrasek, G. (2018) Organic matter and salinity modify cadmium soil (phyto) availability. Ecotoxicology and Environmental Safety 147: 824-831.

Flora, G., Gupta, D. and Tiwari, A. (2012) Toxicity of lead: A review with recent updates. Interdisciplinary Toxicology 5: 47-58.

Foy, C., Chaney, R. T. and White, M. (1978) The physiology of metal toxicity in plants. Annual Review of Plant Physiology 29: 511-566.

Foyer, C. H. and Noctor, G. (2011) Ascorbate and glutathione: Theheart of the redox hub. Plant Physiology 155: 2-18.

Francois, L. E. (1994) Yield and quality response of salt-stressed garlic. HortScience 29: 1314-1317.

Gupta, D., Nicoloso, F., Schetinger, M., Rossato, L., Pereira, L., Castro, G., Srivastava, S. and Tripathi, R. (2009) Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. Journal of Hazardous Materials 172: 479-484.

Huang, D., Huo, J. and Liao, W. (2020) Hydrogen Sulfide: Roles in Plant Abiotic Stress Response and Crosstalk with Other Signals, Plant Science.

Jiang, J. L., Tian, Y., Li, L., Yu, M., Hou, R. P. and Ren, X. M. (2019) H_2S Alleviates Salinity Stress in Cucumber by Maintaining the Na^+/K^+ balance and regulating H_2S metabolism and oxidative stress response. Frontiers in Plant Science 10: 678.

Kadukova, J. and Kalogerakis, N. (2007) Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis* Bunge. European Journal of Soil Biology 43: 216-223.

Kamenetsky, R. and Rabinowitch, H. (2017) Physiology of domesticated Alliums: Onions, Garlic, Leek, and Minor Crops 1: 255-261.

Kaur, G., Singh, H. P., Batish, D. R. and Kohli, R. K. (2013) Lead (Pb)-induced biochemical and ultrastructural changes in wheat (*Triticum aestivum*) roots. Protoplasma 250: 53-62.

Kozhevnikova, A., Seregin, I., Bystrova, E., Belyaeva, A., Kataeva, M. and Ivanov, V. (2009) The effects of lead, nickel, and strontium nitrates on cell division and elongation in maize roots. Russian Journal of Plant Physiology 56: 242-250.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C. and Abdelly, C. (2007) Salinity effects on polyphenol contentand antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. Plant Physiology and Biochemistry 45: 244-249.

Kucukyumuk, Z. and Suarez, D. L. (2021) The effect of selenium on salinity stress and selenate – sulfate comparision in kale. Journal of Plant Nutrition 44: 2996-3004.

Lai, D., Mao, Y., Zhou, H., Li, F., Wu, M., Zhang, J., He, Z., Cui, W. and Xie, Y. (2014) Endogenous hydrogen sulfide enhances salt tolerance by coupling the reestablishment of redox homeostasis and preventing salt-induced K^+ loss in seedlings of *Medicago sativa*. Plant Science 225: 117-129.

Liu, D., Zou, J., Meng, Q., Zou, J. and Jiang, W. (2009) Uptake and accumulation and oxidative stress in garlic (*Allium sativum* L.) under lead phytotoxicity. Ecotoxicology 18: 134-143.

Liu, J., Fu, C., Li, G., Khan, M. N. and Wu, H. (2021) ROS homeostasis and plant salt tolerance: Plant nanobiotechnology updates. Sustainability 13: 3556.

Malecka, A., Piechalak, A. and Tomaszewska, B. (2009) Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: The whole roots level. Acta Physiologiae Plantarum 31: 1053-1063.

Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A. and Cambraia, J. (2003) Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Brazilian Journal of Plant Physiology 15: 12-21.

Mirza, H., Hossain, M. A. and Fujita, M. (2010) Selenium in higher plants: Physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. Journal of Plant Sciences 5: 354-375.

Mittler, R. (2006) Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends in Plant Science 11: 15-19.

Mroczek-Zdyrska, M. and Wojcik, M. (2012) The influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. Biological Trace Element Research 147: 320-328.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology 22: 867-880.

Netondo, G. W., Onyango, J. C. and Beck, E. (2004) Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Science 44: 797-805.

Norvell, W., Wu, J., Hopkins, D. and Welch, R. (2000) Association of cadmium in durum wheat grain with soil chloride and chelate-extractable soil cadmium. Soil Science Society of America Journal 64: 2162-2168.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

Pan, Y., Wu, L. J. and Yu, Z. L. (2006) Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* fisch). Plant Growth Regulation 49: 157-165.

Pandey, P., Ramegowda, V. and Senthil-Kumar, M. (2015) Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: Physiological and molecular mechanisms. Frontiers in Plant Science 6: 723-436.

Prasch, C. M. and Sonnewald, U. (2013) Simultaneous application of heat, drought, and virus to arabidopsis plants reveals significant shifts in signaling networks. Plant Physiology 162: 1849-1866.

Rahimi, A. S., Bahmanyar, M. and Ghajar, S. M. (2011) The effects of sewage sludge application on pH, EC, OC, Pb and Cd in soil and lettuce and radish plants. Journal of Soil and Water Conservation 1: 1-14.

Sairam, R. and Tyagi, A. (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science 86.

Sepehri, A. and Gharebaghli, N. (2018) Selenium alleviate cadmium toxicity by improving nutrient uptake, antioxidative and photosynthetic responses of Garlic. Russian Journal of Plant Physiology 66: 152-159.

Seppanen, M., Turakainen, M. and Hartikainen, H. (2003) Selenium effects on oxidative stress in potato. Plant Science 165: 311-319.

Shafi, M., Zhang, G., Bakht, J., Khan, M. A., Islam, U., Khan, M. D. and Raziuddin, G. (2010b) Effect of cadmium and salinity stresses on root morphology of wheat. Pakistan Journal of Botany 42: 2747-2754.

Singh, D. and Roy, B. K. (2016) Salt stress affects mitotic activity and modulates antioxidant systems in onion roots. Brazilian Journal of Botany 39: 67-76.

Singh, R., Tripathi, R., Dabas, S., Rizvi, S., Ali, M., Sinha, S., Gupta, D., Mishra, S. and Rai, U. (2003) Effect of lead on growth and nitrate assimilation of *Vigna radiata* (L.) Wilczek seedlings in a salt affected environment. Chemosphere 52: 1245-1250.

Singh, R., Tripathi, R., Dwivedi, S., Kumar, A., Trivedi, P. and Chakrabarty, D. (2010) Lead bioaccumulation potential of an aquatic macrophyte *Najas indica* are related to antioxidant system. Bioresource Technology 101: 3025-3032.

Uzu, G., Sobanska, S., Sarret, G., Munoz, M. and Dumat, C. (2010) Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts. Environmental Science and Technology 44: 1036-1042.

Wang, Y. and Wu, W. H. (2010) Plant sensing and signaling in response to K^+-deficiency. Molecular Plant 3: 280-287.

Wang, Y. Q., Li, L., Cui, W. T., Xu, S., Shen, W. B. and Wang, R. (2012) Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. Plant and Soil 351: 107-119.

Wei, G. Q., Zhang, W. W., Cao, H., Yue, S. S., Li, P. and Yang, H. Q. (2019) Effects hydrogen sulfide on the antioxidant system and membrane stability in mitochondria of *Malus hupehensis* under NaCl stress. Biologia Plantarum 63: 228-236.

Ye, X. Y., Qiu, X. M., Sun, Y. Y. and Li, Z. G. (2020) Interplay between hydrogen sulfide and methylglyoxal initiates thermotolerance in maize seedlings by modulating reactive oxidative species and osmolyte metabolism. Protoplasma 257: 186.

Zhang, H., Hu, S. L., Zhang, Z. J., Hu, L. Y., Jiang, C. X., Wei, Z. J., Liu, J., Wang, H. L. and Jiang, S. T. (2011) Hydrogen sulfide acts as a regulator of flower senescence in plants. Postharvest Biology and Technology 60: 251-257.

Zhang, H., Tang, J., Liu, X. P., Wang, Y., Yu, W., Peng, W. Y., Fang, F., Ma, D. F., Wei, Z. J. and Hu, L. Y. (2009) Hydrogen sulfide promotes root organogenesis in *Ipomoea batatas*, *Salix matsudana* and *Glycine max*. Journal of Integrative Plant Biology 51: 1086-1094.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]

Reducing the effect of salinity and lead on garlic (*Allium sativum*) seedling roots by improving oxidant defence under selenium and hydrogen sulfide

Nesa Gharehbaghli[1], Ali Sepehri[2]*

[1] Department of Agriculture Payame noor University, Tehran
[2] Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
(Received: 11/10/2021, Accepted: 24/01/2022)

Abstract

Selenium and hydrogen sulfide can alleviate the adverse effects of oxidative stress on plants by improving the oxidative defense system. In order to improve the oxidative defense system of garlic under lead and salinity stress by selenium and hydrogen sulfide, a factorial experiment was carried out using selenium and hydrogen sulfide in a completely randomized design with three replications. Experimental treatments included sodium chloride at three levels of zero, 25 and 75 mM, lead at three concentrations of zero, 10^{-5} and 10^{-3} M lead nitrate as well as stress ameliorators in three levels (5 mg / L sodium selenate, 200 µm sodium hydrogen sulfide and control). The results showed that with increasing salinity and lead concentration, a significant decrease in root length and dry weight was observed. In the treatment of 10^{-5} M lead under 75 mM salinity, the activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and catalase were 4.44, 11.76 and 10.47%, respectively, and compared to the zero lead stress and 75 mM, salinity was improved with selenium application. In general, sodium selenate and sodium hydrogen sulfide decreased the uptake of lead in root tissue whereas increased the length and dry weight of roots under salinity stress at a concentration of 10^{-5} M, but at a concentration of 10^{-3} M lead, this effect was not observed. Overall results showed that the positive effect of selenium on hydrogen sulfide during salinity stress was more evident in reducing the negative effects of lead. It seemed that selenium suppressant improved the growth parameters of garlic roots under salinity stress and low lead concentrations by reducing lead absorption and increasing the activity of antioxidant enzymes.

Keywords: Antioxidant enzymes, Hydrogen sulfide, Lead content, Salinity, Sodium selenite

Corresponding author, Email: sepehri2748@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.18.3]