"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد هفتم، شماره ۲، پاییز و زمستان ۹۷
(ص ۱۶۹-۱۵۳)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 7, No.: 2, Autumn and Winter 2018
(pp: 153-169)
DOI: 10.22034/ijsst.2019.109514.1063

اثر پیش تیمار بذر بر افزایش تحمل گیاهچه آفتابگردان در خاک‌های آلوده به سرب در شرایط گلخانه

نجمه افتخار[۱]، سینا فلاح[۲*]، علی عباسی سورکی[۳] و حبیب خداوردی‌لو[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲. استاد گروه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳. استادیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۴. دانشیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۰۶)

چکیده

در خاک‌های آلوده استقرار ضعیف گیاهچه و در نتیجه محدویت زیست توده گیاه، کارآیی فناوری گیاه‌پالایی را کاهش می‌دهد. در این پژوهش، اثر سطوح مختلف پیش‌تیمار بذر (سالیسیلیک اسید، نیترات پتاسیم و شاهد) و ۳ غلظت سرب شامل (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک) بر رشد گیاهچه‌ای آفتابگردان بررسی گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۵-۱۳۹۴ اجرا شد. بطور کلی صفات مورد مطالعه با افزایش غلظت سرب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در سمی‌ترین غلظت سرب تیمارهای نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید مانع از کاهش ۴۲٪ وزن خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد شدند. تیمار نیترات پتاسیم از کاهش وزن خشک برگ و کلرفیل a (به ترتیب ۲۴٪ و ۶۰٪) تیمار و سالیسیلیک اسید از کاهش کلرفیل b (۵۵٪) نسبت به بذور پرایم نشده جلوگیری کرد. وزن خشک ساقه با تیمارهای پرایمینگ بذر تغییر معنی‌داری نشان نداد. به موازات افزایش غلظت سرب میزان کاراتنوئید، پرولین و نشت یونی گیاهچه افزایش یافت. این در حالی است تیمار سالیسیلیک اسید موجب کاهش ۲۱٪ نشت الکترولیتی شد. تیمار نیترات پتاسیم مانع از افزایش ۲۴٪ کاروتنوئید گردید ولی میزان پرولین از ۱۰۴ به ۱۱۱ میکرومول بر گرم افزایش داد. بطور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که کاربرد سالیلیک اسید و نیترات پتاسیم با کاهش میزان کاروتنوئید و نشت الکترولیتی و افزایش محتوای پرولین بردباری گیاهچه آفتابرگردان را به سمیت سرب افزایش می‌دهد.

کلمات کلیدی: پرولین، سرب، کلروفیل، گیاه پالایی، نشت الکترولیتی

Effect of seed Pretreatments on Sunflower Seedling Tolerance in Soils Contaminated with Lead under Greenhouse Conditions

N. Eftekhar[1] S. Fallah[2*] A. Abbasi Surki[3] H. Khodaverdiloo[4]

1. MSc student of Seed Technology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2. Professor of Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
3. Assistant Professor of Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
4. Associate Professor of Soil Science Department, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
(Received: Feb. 07, 2017– Accepted: May. 27, 2017)

Abstract

Poor seedling establishment and total plant biomass reduction in contaminated soils, decrease the efficiency of phytoremediation techniques. In this study, the effects of different types of seed pretreatments (such as salicylic acid, and potassium nitrate) and three concentrations of lead (0, 200, 400 and 600 mg lead/kg soil) on sunflower seedling growth under greenhouse conditions were evaluated. These factorial experiment was conducted in completely randomized design with three replications in research greenhouse of Shahrekord University, in 2016. In general, the studied traits significantly decreased with increasing concentrations of lead. In most toxic concentrations of lead, Potassium nitrate and salicylic acid prevented the decreasing of dry weight of root compared to control up to 42%. Potassium nitrate prevented the decreasing of dry weight of leaf and chlorophyll a (with 24% and 60%, respectively), Salicylic acid prevented the decreasing of chlorophyll b (55%) compared to control. Shoot dry weight didn't affect by seed priming treatments. Increasing in concentrations of lead elevated carotenoids, proline content and electrolyte leakage. Salicylic acid treatment reduced of electrolyte leakage (by 21%). Potassium nitrate prevents the increasing of carotenoids (by 24%), however increased proline content from 104 to 111 µm/g. Generally it could be concluded that salicylic acid and potassium nitrate increase seedling tolerance to lead toxicity through reducing carotenoids content, electrolyte leakage and increasing proline content. This technique can be used to increase the efficiency of phytoremediation of soils contaminated with lead.

Key words: Chlorophyll, Electrolyte leakage, Lead, Phytoremediation, Proline

* Email: falah1357@yahoo.com

مقدمه

آلودگی زیست محیطی توسط فلزات سنگین به دنبال افزایش فعالیت‌های صنعتی و معدن کاوی از اواخر قرن ۱۹ و اوایل قرن ۲۰ گسترده‌تر شده است. افزون بر این، این آلاینده‌ها از منابع پرشمار انسانی شامل پسماندها و فاضلاب‌های صنعتی، رواناب شهری، کاربرد لجن فاضلاب، استفاده از قارچ‌کش‌های کشاورزی، زباله‌های خانگی و غیره حاصل می‌شود (Benavides *et al.*, 2005). فلزات سنگین در اکوسیستم‌های کشاورزی سبب ایجاد تنش اکسیدی در گیاهان می‌شوند (Groppa *et al.*, 2007). به این صورت که با ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن[1] که محصول متابولیسم هوازی‌اند و شامل ترکیباتی مانند سوپراکسیدها، رادیکال اکسیژن، پراکسیدها و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشند، طی واکنش‌های انتقال الکترون در میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها و پروکسی زوم‌ها تولید می‌گردند و در صورت عدم تنظیم غلظت آن‌ها سبب آسیب به پروتئین‌ها، DNA و غشا می‌گردند (Davey *et al.*, 2005). سرب یک عنصر غیر ضروری است که علاوه بر سمیت زیادی که برای انسان دارد اثرات سوئی نیز بر گیاهان می‌گذارد (Lin *et al.*, 2009). اثرات شدید فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی برای فلز سرب بر بذر گزارش شده است. سرب مانع جوانه‌زنی، طویل شدن ریشه‌چه، توسعه گیاهچه، ایجاد اختلال در جذب عناصر ضروری مثل منیزیم و آهن، کاهش میزان CO_2 به دلیل بسته شدن روزنه‌ها می‌شود. فلز سرب موجب اکسید شدن ریشه‌ها و در کل باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدولیز کننده کربوهیدرات مثل آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز، اسید انورتاز و اسید فسفاتاز و همچنین تغیرات ژنومی DNA می‌شود (Kumar and Shyamasree, 2013). فرایندهای فتوسنتزی گیاه در اثر وجود سرب در محیط به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد و سرعت فتوسنتز کاهش چشمگیری نشان می‌دهد که به علت تغییر شکل کلروپلاست‌ها، ممانعت از سنتز کلروفیل‌ها، پلاستوکوئینون، متوقف شدن زنجیره انتقال الکترون و جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین در اثر سمیت سرب می‌باشد (Sharma and Dubey, 2005). پیوند قوی سرب با N- پروتئین را دلیل کاهش سنتز کلروفیل می‌باشد (Ghorbanli *et al.*, 2006). افزایش غلظت سرب در محیط خاک موجب بر هم خوردن توازن عناصر غذایی موثر در رشد گیاهان می‌شود. تغییرات معنی‌دار در مقدار عناصر، باعث بر هم خوردن نسبت‌های درونی عناصر در گیاهان رشد یافته در محیط‌های آلوده به سرب می‌شود. در بیشتر موارد سرب، از ورود کاتیون (روی، مس، آهن، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و منگنز) و آنیون‌ها (NO_3^-) به درون سیتم ریشه‌ای ممانعت می‌کند. در آزمایش Karimi و همکاران (۲۰۱۳) غلظت‌های ۲۰۰ تا ۱۵۰۰میکرومولار باعث ایجاد یک روند کاهشی تدریجی در مقادیر انواع کلروفیل شد به طوریکه کمترین میزان آن در گیاهان تحت تیمار ۱۵۰۰ میکرومولار اتفاق افتاد. علاوه بر این تیمارهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار به ترتیب موجب کاهش ۱۳، ۳۰، ۳۹، ۴۲، ۵۴، ۶۴ و ۷۰ درصدی میزان کلروفیل a و b شدند. مقاومت گیاهان نسبت به سرب به توانایی آنها به سنتز اسمولیت‌ها و فعال سازی سیستم تدافعی آنتی‌اکسیدانی مربوط می‌شود (Sharma and Dubey, 2007). زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های غیر زیستی قرار می‌گیرند، میزان پرولین آنها افزایش می‌یابد و ساختارهای سلولی و آنزیمی را در برابر فاکتورهای تنش‌زا محافظت می‌کند. گزارش شده است که پرولین در غلظت‌های زیاد فلزات سنگین تجمع می‌یابد (Yadav, 2010). پرولین بردباری گیاه به تنش را از طریق سازوکارهایی مانند تنظیم اسمزی، حفاظت آنزیم‌ها در برابر دناتوره شدن و تثبیت سنتز پروتیین، می‌افزاید (Verbruggen and Hermans, 2008). گونه‌های فعال اکسیژن با القای پراکسیداسیون لیپیدی،

[1] ROS

آسیب غشائی ایجاد می‌کنند و باعث اختلال در فرآیند سلولی و تجزیه DNA و نشست الکتروفورز (Krystofova *et al*., 2009) می‌شوند، نشت املاح از مواد گیاهی برای منعکس کردن وضعیت غشاء سلولی است، و بر اساس این دیدگاه حفظ ضعیف املاح منجر به نشت بالا از بذر در حال آبنوشی می‌شود و در نتیجه نشان دهنده غشاء آسیب دیده و یا ناقص است (Agrawal and Mishra, 2009).

پیش‌اندازی یا پرایمینگ بذر یکی از روش‌های مهم توانمندسازی بذر، قبل از کاشت است که در آن بذر، به طور محدود و کنترل شده داخل آب یا محلول اسمزی قرار می‌گیرند و تا مرحله‌ای پیش می‌رود که بذر خیس خورده، ولی جوانه‌زنی صورت نمی‌گیرد و در نتیجه در فاز تأخیر به حالت تعلیقی می‌ماند (Tiriki *et al*., 2009) و فقط برخی از فرآیندهای فیزیولوژی جوانه‌زنی مانند فعال شدن آنزیم‌ها و هورمون‌ها و تجزیه مواد غذایی در بذر رخ می‌دهد (Halmer, 2004). پرایمینگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی شده و این آنزیم‌ها باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید در طی جوانه‌زنی می‌شوند (Farooq *et al*., 2007). Ashrafi and Razmju (2010) در آزمایشی به این نتیجه دست یافتند که تیمار بذرهای جو با اسید هیومیک در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و طول مدت ۱۲ ساعت موجب رشد بیشتر گیاهچه‌ها و تولید گیاهچه‌های قوی‌تر می‌شود. کاربرد بیرونی سالیسیلیک اسید موجب تنظیم فعالیت‌های مختلف فیزیولوژیکی در گیاهان مانند بسته شدن روزنه، جذب و انتقال یون، مهار بیوسنتز اتیلن، تعرق، بردباری به تنش، نفوذپذیری غشاء، فتوسنتز، رشد (Guo *et al*., 2009) و افزایش عملکرد گیاه می‌شود. علاوه بر این، سالیسیلیک اسید منجر به پایداری غشاء، تحریک دستگاه فتوسنتزی، سنتز پروتئین و افزایش محتوای کلروفیل می‌گردد (Shakirova *et al*., 2003).

برای پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین و دیگر آلاینده‌ها، گیاه‌پالایی بعنوان روشی کم هزینه، دوستدار محیط زیست پیشنهاد شده است. در این فناوری با کشت گیاهان مناسب نسبت به جذب فلز توسط گیاه و برداشت اندام‌های هوایی گیاه و خارج کردن آن اقدام می‌شود (Lombi *et al*., 2001). آفتابگردان به دلیل رشد سریع و زیست توده بالا، گیاهی مناسب جهت جذب فلزات سنگین از خاک مناطقی که شدیدا به این فلزات آلوده هستند، به شمار می‌رود (Jadia and Fulekar, 2008). اما با توجه به سمیت بالا در این مناطق احتمال استقرار ضعیف گیاهان کاشته شده پیش بینی می‌شود و در نتیجه موجب کاهش کارایی فناوری گیاه پالایی می‌شود. یکی از روش‌های غلبه بر مشکل کاهش جوانه‌زنی و شاخص‌های آن، استفاده از پیش‌تیمار بذرها قبل از جوانه‌زدن می‌باشد.

بطور کلی میزان آلودگی مناطق مختلف به سرب متفاوت است اما مبنای آلودگی خاک‌ها به سرب، وجود بیش از ۳۰۰ ملی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک گزارش شده است (Kabatta-Pendias and Pendias, 2001). با توجه به روند افزایشی توسعه معادن و در نتیجه آلودگی مناطق مجاور این معادن به فلزات سنگین، استفاده از فناوری گیاه‌پالایی می‌تواند در احیای خاک‌های این مناطق مفید واقع شود. اما با توجه به سمیت بالا در این مناطق احتمال استقرار ضعیف گیاهان کاشته شده پیش بینی می‌شود. بر این اساس پژوهش حاضر به منظور بررسی افزایش تحمل گیاهچه آفتابگردان در محیط آلوده به سرب اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. بذر آفتابگردان (رقم رکورد) از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. به منظور بررسی اثر سالیسیلیک اسید و نیترات پتاسیم تحمل گیاهچه‌های آفتابگردان به غلظت‌های سمی

سرب آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سالیسیلیک اسید، پتاسیم هیومات، نیترات پتاسیم و چای کمپوست و سه غلظت سرب (۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک) بودند. غلظت سالیسیلیک اسید، پتاسیم هیومات به ترتیب ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مول بر لیتر بود. غلظت نیترات پتاسیم نیز ۲ درصد بود. از بذر بدون تیمار با سرب و پرایمینگ نیز به‌عنوان شاهد استفاده شد.

در این آزمایش گلدان‌ها (با قطر ۱۴ سانتی‌متر) قبل از استفاده به طور کامل با آب مقطر شسته شدند. سپس با توجه به حجم گلدان‌ها یک کیلوگرم خاک الک شده (با الک ۲ میلی‌متری) که به طور کامل و یکنواخت با هم مخلوط شده بود توزین و به گلدان‌ها انتقال داده شد. در کف گلدان‌ها یک عدد زیر گلدانی جهت جلوگیری از انتقال و خروج خاک از کف گلدان‌ها قرار داده شد. سرب مصرفی از منبع کلرید سرب $Pb(NO_3)_2$ بود. مقادیر مورد نیاز از سرب ابتدا توسط ترازوی ۰/۰۰۱ توزین شد. سپس ۰/۵ لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید و به صورت محلول به خاک گلدان‌ها اضافه شد. به منظور پخش شدن کامل فلز سنگین در خاک، به مدت ۳ هفته آبشویی صورت گرفت. آب خارج شده پس از آبشویی به داخل گلدان‌ها برگردانده شد. برای هر گلدان، ۱۵ عدد بذر شمارش شد. شست و شوی بذور با آب معمولی انجام گردید، پس از آن بذور ضدعفونی شده به مدت ۸ ساعت در محلول‌های پرایمینگ مربوطه قرار گرفتند. بعد از اتمام زمان پرایمینگ، بذور جهت کشت در گلدان‌ها به گلخانه منتقل شدند. کشت در تاریخ اول بهمن ماه ۱۳۹۴ انجام گردید. پس از اتمام کشت نسبت به آبیاری گلدان‌ها اقدام شد. در طول دوره آزمایش مراقبت‌های لازم از جمله وجین دستی علف‌های هرز، تنک کردن (۸ عدد گیاهچه در هر گلدان) و آبیاری بر اساس نیاز و شرایط محیطی صورت گرفت.

جدول ۱- خصوصیات خاک مورد آزمایش.

Table 1-Experimental soil properties.

بافت Texture	EC	pH	کربن آلی Organic C	کربنات کلسیم $CaCO_3$	فسفر قابل استفاده Available P	پتاسیم قابل استفاده Available K	نیتروژن کل Total N	آهن Fe	منیزیم Mg	مس Cu
-	dS/m	-	%	%	mg/kg	mg/kg	%	mg/kg	mg/kg	mg/kg
لومی رسی Clay loam	0.79	7.94	0.81	21.5	7.3	185	0.075	3.41	8.18	0.51

جدول ۲- خصوصیات شیمیایی آب آبیاری مورد استفاده در آزمایش.

Table 2- Chemical properties of used irrigation water.

EC	pH	سدیم Na	منیزیم Mg	کلسیم Ca	پتاسیم K	بی کربنات HCO_3^-	سولفات SO_4^{-2}	کلر Cl	نسبت جذب سدیم SAR
dS/m		mq/lit	mq/lit	mq/lit	mq/lit	mq/lit	mq/lit	mq/lit	mq/lit
0.33	7.62	4.7	2	2.8	2.5	6	2.8	4	3.03

اندازه‌گیری وزن خشک ریشه و اندام هوایی

برداشت گیاهچه‌های رشد یافته در خاک آلوده به سرب ۴۰ روز پس از کاشت صورت گرفت. پس از ریشه‌شویی، ریشه و اندام هوایی از هم جدا شد. برای به دست آوردن وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس توزین انجام شد.

اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی

اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی به روش Wllburn (۱۹۹۴) انجام شد.

اندازه‌گیری پرولین

تهیه عصاره و اندازه‌گیری پرولین آزاد برگ به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد.

اندازه‌گیری نشت الکترولیتی

میزان نشت الکترولیتی از رابطه زیر محاسبه گردید (Dionisio-Sese and Tobita, 1998):

$$\text{نشت الکترولیتی} = \left(\frac{EC1}{EC2}\right) \times 100$$

اندازه‌گیری غلظت سرب در اندام‌های گیاهی

اندازه‌گیری غلظت سرب دراندام‌های گیاهی به روش هضم تر انجام شد (Emami, 1996).

تجزیه آماری

کلیه داده‌ها توسط نرم افزار SAS 9.1 مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک ریشه

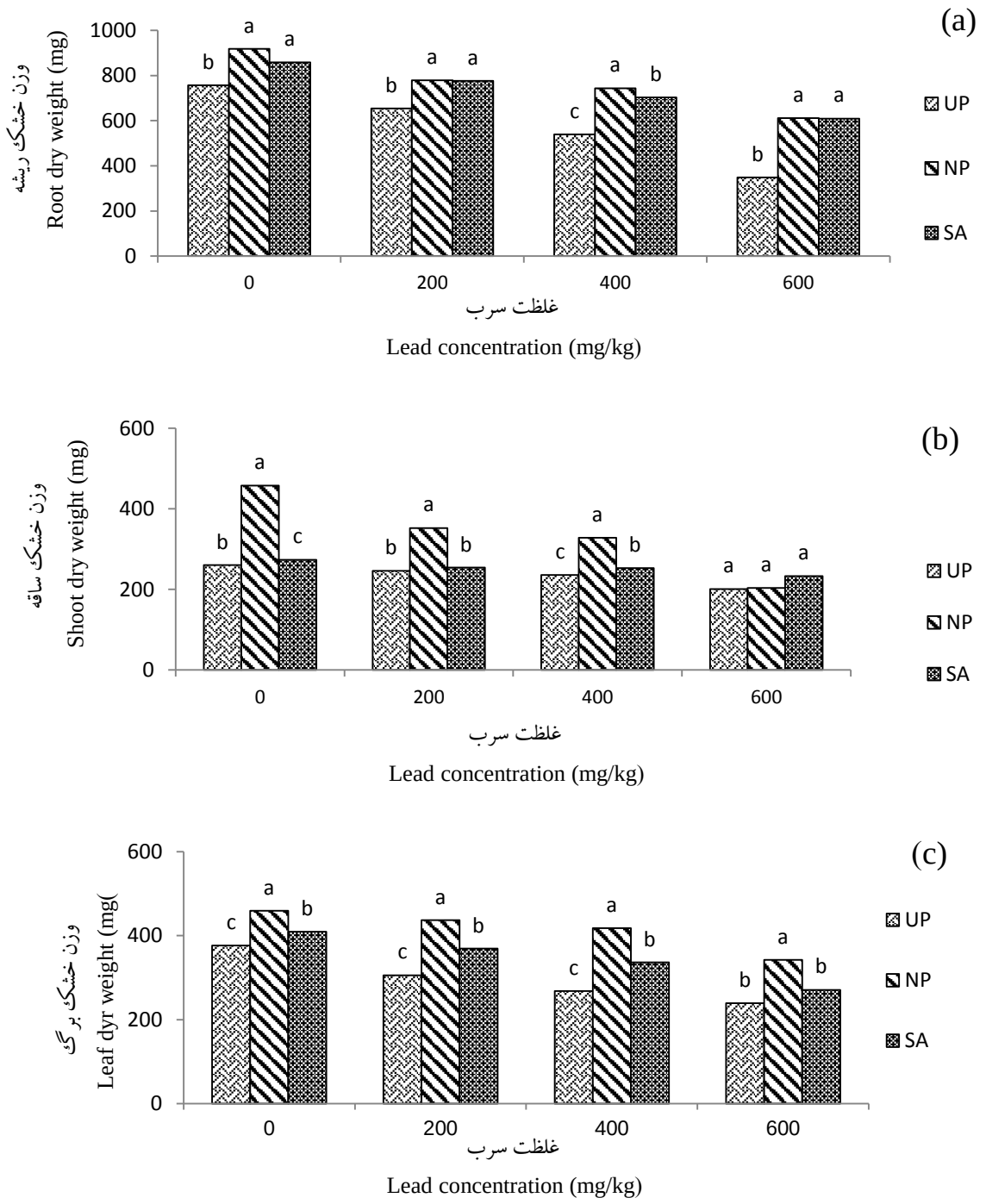
اثرات اصلی تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و سرب و اثر متقابل آن‌ها بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌داربود ($P<$۰/۰۱). افزایش غلظت سرب باعث کاهش وزن خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد شرایط بدون سرب گردید که این میزان برای غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک، به ترتیب برابر با ۱۵٪، ۲۸٪ و ۵۳٪ بود. استفاده از تکنیک پرایمینگ توانست از کاهش این پارامتر جلوگیری کند. با استناد به شکل ۱ (a) می‌توان اظهار داشت که بین تیمارهای پرایمینگ بذر در غلظت‌های ۲۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، تیمار نیترات پتاسیم در سطح بالاتری نسبت به سالیسیلیک اسید قرار گرفت. تیمار نیترات پتاسیم مانع از کاهش ۱۶٪، ۲۷٪ و ۴۲٪ وزن خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد در هر غلظت سرب گردید. تیمار سالیسیلیک اسید نیز توانست از کاهش ۱۵٪، ۲۳٪ و ۴۲٪ این پارامتر نسبت به تیمار شاهد جلوگیری کند.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثرات پرایمینگ بذر بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

Table 3- Analysis of variance (MS) effects of seed priming on root and shoot dry weight of sunflower plant under lead stress.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات (Mean of square)		
		وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight
پرایمینگ بذر (P) Seed priming	4	124857**	33573**	38172**
سرب (Pb) Lead	3	163428**	21132**	24493**
P × Pb	6	4631**	7256**	1030**
خطا Error	24	713	269	46.4
ضریب تغییرات (٪) C.V (%)		3.86	5.97	1.92

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. ** significant at 1% probability level.



شکل ۱- اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر وزن خشک ریشه (a)، ساقه (b) و برگ (c) آفتابگردان در خاک‌های آلوده به سرب.
در هر غلظت سرب میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.
UP، NP و SA به ترتیب تیمار بدون پرایم، نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید می‌باشند.

Figure 1- Seed priming effect on root dry weight (a), shoot dry weight (b) and leaf dry weight (c) of sunflower plants in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, mean values followed by same letters aren't significantly different at $P < 0.05$ by LSD. UP, NP and SA respectively are control, potassium nitrate and salicylic acid.

وزن خشک ساقه

اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر، اثر سرب و اثر متقابل آن‌ها بر وزن خشک ساقه‌چه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). در شکل ۱ (b) مشاهده می‌شود که افزایش غلظت سرب به مراتب باعث افت وزن خشک ساقه‌چه گردید بطوریکه بیشترین میزان این کاهش در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به ثبت رسید که حدود ۲۲٪ بود. تیمار نیترات پتاسیم در سطوح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، مانع از کاهش معنی‌دار این صفت گردید. در سطح ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، تیمارهای پرایمینگ بذر با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان ندادند.

وزن خشک برگ

اثرات اصلی تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و اثر سرب و اثر متقابل آن‌ها بر وزن خشک برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). همان‌گونه که در شکل۱ (c) با افزایش غلظت سرب از میزان وزن خشک برگ کاسته شد. در کلیه‌ی سطوح سرب، تیمار نیترات پتاسیم و تیمار شاهد به ترتیب در بالاترین و پایین‌ترین سطح قرار گرفتند، بطوریکه وزن خشک برگ تیمار شاهد غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، به ترتیب ۳۰۵، ۲۶۷ و ۲۵۹ میلی‌گرم به ثبت رسید. تیمار نیترات پتاسیم موجب افزایش این پارامتر شد و وزن برگ را در غلظت‌های سرب ذکر شده به ترتیب به ۴۳۷، ۴۱۸ و ۳۴۲ میلی‌گرم رساند.

کلرفیل a

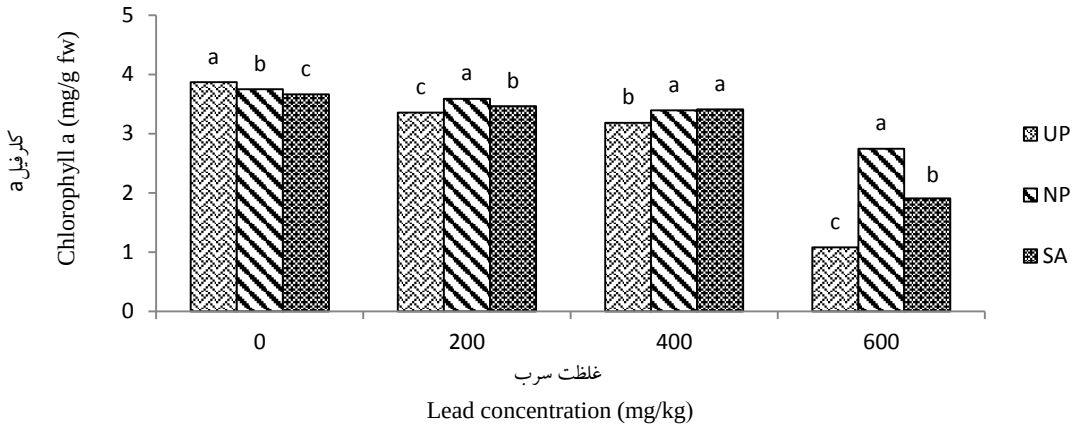
اثر غلظت‌های مختلف سرب، پرایمینگ بذور و اثرات متقابل آنها بر میزان کلروفیل a، در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). با افزایش غلظت سرب از میزان این پارامتر کاسته شد ولی اعمال تیمارهای پرایمینگ توانست از افت معنی‌دار این پارامتر جلوگیری کند (شکل ۲). میزان کلرفیل a در تیمار شاهد شرایط بدون سرب، حدود ۳/۸۶ میلی‌گرم بر گرم بود ولی با افزایش غلظت سرب به میزان ۲۰۰ ، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، این پارامتر به میزان ۳/۳۵، ۳/۱۸ و ۱/۰۷ میلی‌گرم بر گرم کاهش یافت. تیمار نیترات پتاسیم به عنوان بهترین تیمار پرایمینگ شناخته شد و توانست میزان کلرفیل a را در غلظت‌های سرب ذکر شده به ترتیب به ۳/۵۸، ۳/۴۰ و ۲/۷۴ میلی‌گرم بر گرم برساند.

جدول ۴- تجزیه واریانس اثرات پرایمینگ بذر بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و پرولین گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

Table 4- Analysis of variance (MS) effects of seed priming on photosynthetic pigments and proline content of sunflower plant under lead stress.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات (Mean of square)			
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Contaminated	پرولین Proline
پرایمینگ بذر (P) Seed priming	4	0.744**	7.02**	0.494**	134.6**
سرب (Pb) Lead	3	6.12**	2.85**	2.21**	11147**
P × Pb	6	0.485**	0.472**	0.021**	46.73**
خطا Error	24	0.001	0.008	0.003	5.61**
ضریب تغییرات (٪) C.V (%)		1.12	4.80	4.70	3.32

** significant at 1% probability level. **معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.



شکل ۲- اثر تیمارهای پرایمینگ بر میزان کلرفیل a گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

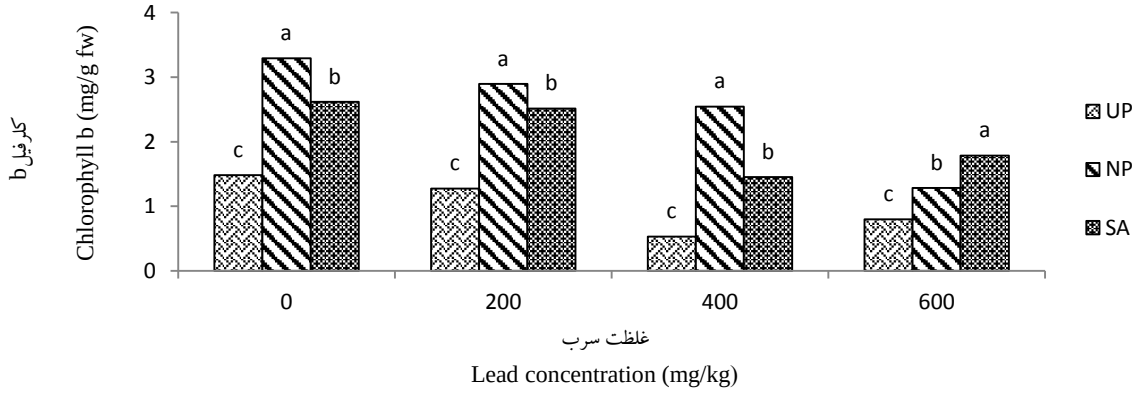
در هر غلظت سرب میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

UP، NP و SA به ترتیب تیمار بدون پرایم، نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید می‌باشند.

Figure 2- Seed priming effect on chlorophyll a of sunflower plants in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, mean values followed by same letters aren't significantly different at P < 0.05 by LSD. UP, NP and SA respectively are control, potassium nitrate and salicylic acid.

کلرفیل b

اثر غلظت‌های مختلف سرب، پرایمینگ بذور و اثرات متقابل آنها بر میزان کلرفیل b در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P<$۰/۰۱). سمیت سرب موجب کاهش میزان کلرفیل b شد. اعمال تیمارهای پرایمینگ بذر مانع از کاهش معنی‌دار کلرفیل b گردید. در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، نیترات پتاسیم در سطح بالاتری نسبت به سالیسیلیک اسید قرار گرفت و بترتیب مانع از کاهش ۵۶٪ و ۷۹٪ این پارامتر نسبت به تیمار شاهد گردید. در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، سالیسیلیک اسید به عنوان تیمار برتر شناخته شد و مانع از کاهش ۵۵٪ کلرفیل b نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل ۳).



شکل ۳- اثر تیمارهای پرایمینگ بر میزان کلرفیل b گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

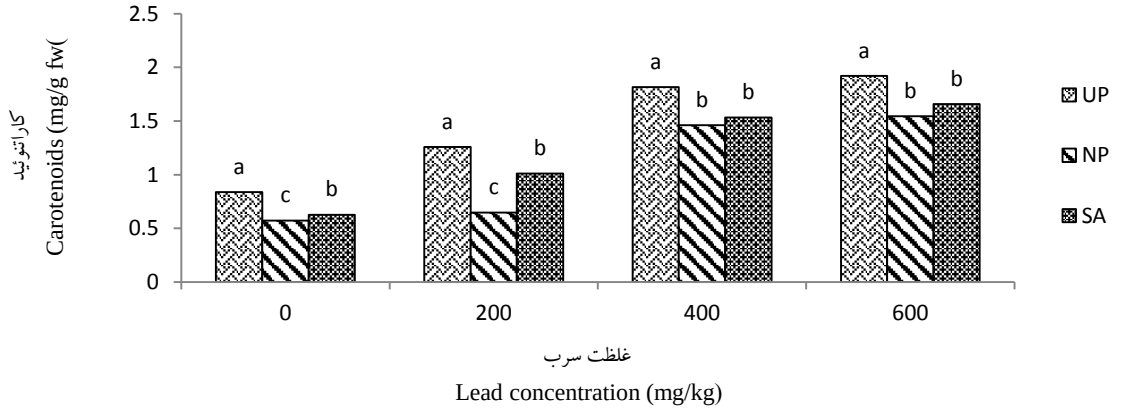
در هر غلظت سرب میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

UP، NP و SA به ترتیب تیمار بدون پرایم، نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید می‌باشند.

Figure 3- Seed priming effect on chlorophyll b content of sunflower plants in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, mean values followed by same letters aren't significantly different at P < 0.05 by LSD. UP, NP and SA respectively are control, potassium nitrate and salicylic acid.

کاروتنوئید

اثر غلظت‌های مختلف سرب، پرایمینگ بذر و اثرات متقابل آنها بر میزان کاروتنوئید، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). شکل ۴ بیانگر این است که با افزایش غلظت سرب، میزان کاروتنوئید نیز افزایش یافت بطوریکه بالاترین غلظت کاروتنوئید در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک، حاصل گردید. اعمال تیمارهای پرایمینگ بذر موجب کاهش میزان کاروتنوئید شدند. در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک نیترات پتاسیم مانع از افزایش ۹۵٪ این پارامتر گردید. در غلظت های ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک بین تیمارهای پرایمینگ بذر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی نیترات پتاسیم در سطح پایین‌تری نسبت به سالیسیلیک اسید قرار گرفت و مانع از افزایش ۲۳٪ و ۲۴٪ این پارامتر نسبت به تیمار شاهد هر غلظت گردید.

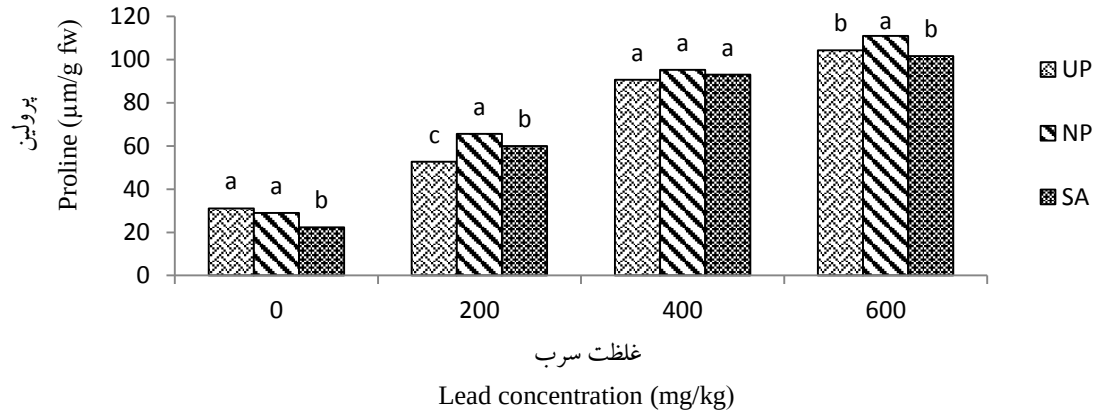


شکل ۴- اثر تیمارهای پرایمینگ بر میزان کاراتنوئیدها گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.
در هر غلظت سرب میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.
UP، NP و SA به ترتیب تیمار بدون پرایم، نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید می‌باشند.

Figure 4- Seed priming effect on carotenoids of sunflower plants in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, mean values followed by same letters aren't significantly different at P < 0.05 by LSD. UP, NP and SA respectively are control, potassium nitrate and salicylic acid.

پرولین

اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و غلظت‌های مختلف سرب و اثرات متقابل آنها بر میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). شکل ۵ بیان‌گر این است که با افزایش غلظت سرب، میزان پرولین نیز افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان آن در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به ثبت رسید. در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک هر دو تیمار پرایمینگ میزان بالاتری از پارامتر را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند و به ترتیب ۶۵ و ۶۰ میکرومول بر گرم برای آنها به ثبت رسید. میزان پرولین شاهد در این غلظت از سرب ۵۲ میکرومول بر گرم بود. در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک، بین تیمارهای پرایمینگ بذر و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک نیترات پتاسیم میزان پرولین را به ۱۱۱ میکرو مول بر گرم رساند در حالیکه پرولین تیمار شاهد ۱۰۴ میکرو مول بر گرم به ثبت رسیده بود.



شکل ۵- اثر تیمارهای پرایمینگ بر میزان پرولین گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

در هر غلظت سرب میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

UP، NP و SA به ترتیب تیمار بدون پرایم، نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید می‌باشند.

Figure 5- Seed priming effect on proline content of sunflower plants in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, mean values followed by same letters aren't significantly different at $P < 0.05$ by LSD. UP, NP and SA respectively are control, potassium nitrate and salicylic acid.

نشت الکترولیتی

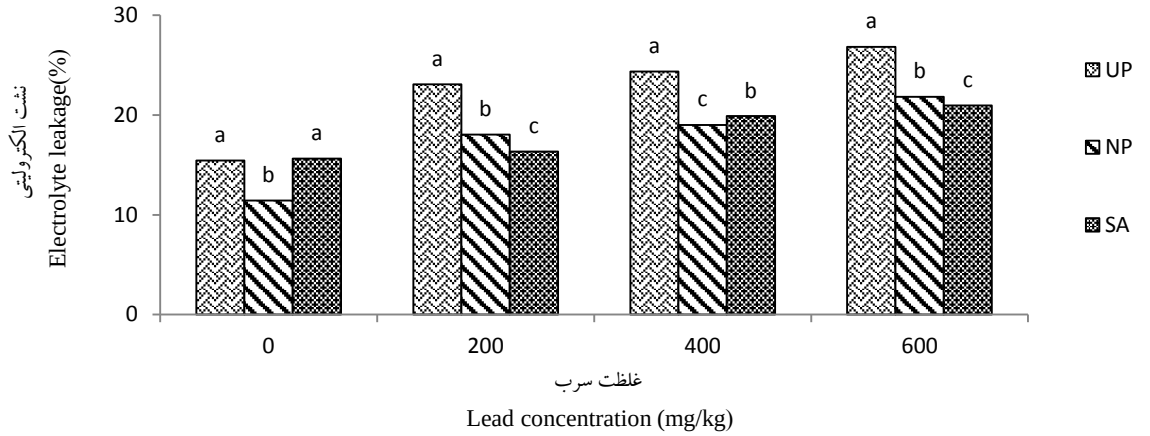
اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و غلظت‌های مختلف سرب و اثرات متقابل آنها بر میزان نشت الکترولیتی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). از شکل ۶ استنباط می‌شود که با افزایش غلظت سرب، میزان نشت الکترولیتی نیز افزایش یافت. بطوریکه بیشترین میزان این پارامتر در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک حاصل شد. میزان نشت الکترولیتی در تیمار شاهد شرایط بدون سرب، ۱۵/۴۴ درصد به ثبت رسید در حالیکه در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک، این پارامتر به ۲۶/۸۲ درصد رسید. هر دو تیمارهای پرایمینگ موجب کاهش این پارامتر شدند که در این میان سالیسیلیک اسید با میزان نشت الکترولیتی ۲۰/۹۴ درصد به عنوان بهترین تیمار پرایمینگ شناخته شد.

جدول ۵- تجزیه واریانس اثرات پرایمینگ بذر بر نشت الکترولیت، غلظت سرب ریشه و اندام هوایی گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

Table 5- Analysis of variance (MS) effects of seed priming on electrolyte leakage, lead root concentration, and lead shoot concentration of sunflower plant under lead stress.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات (Mean of square)		
		نشت الکترولیت Electrolyte leakage	غلظت سرب ریشه Lead root concentration	غلظت سرب اندام هوایی Lead shoot concentration
پرایمینگ بذر (P) Seed priming	4	83.74**	0.190**	0.915**
سرب (Pb) Lead	3	134.2**	10.02**	75.82**
P × Pb	6	8.29**	0.049**	0.211**
خطا Error	24	0.039	0.003	0.25
ضریب تغییرات (٪) C.V (%)		1.02	2.60	3.85

** significant at 1% probability level. **معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.



شکل ۶- اثر تیمارهای پرایمینگ بر نشت الکترولیتی گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

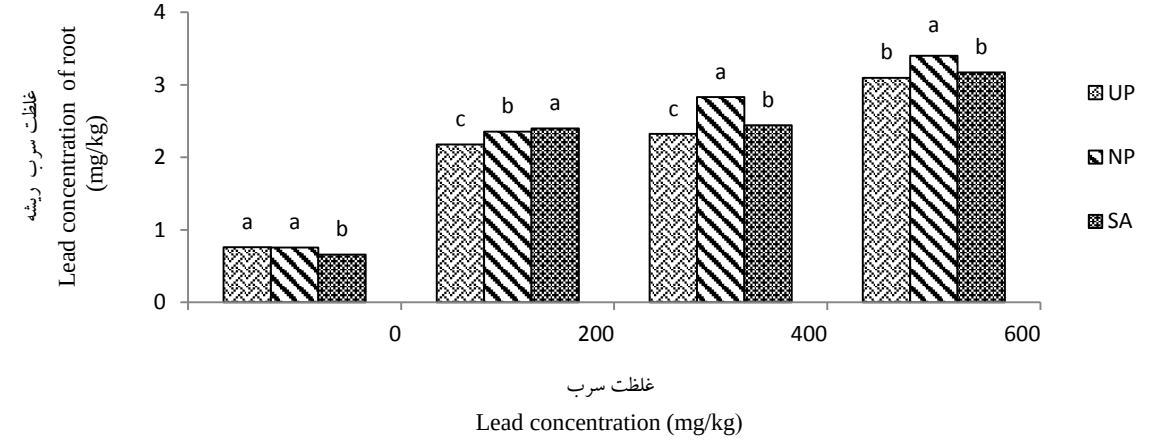
در هر غلظت سرب میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

UP، NP و SA به ترتیب تیمار بدون پرایم، نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید می‌باشند.

Figure 6- Seed priming effect on electrolyte leakage of sunflower plants in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, mean values followed by same letters aren't significantly different at $P < 0.05$ by LSD. UP, NP and SA respectively are control, potassium nitrate and salicylic acid.

غلظت فلز سرب ریشه

اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و غلظت‌های مختلف سرب و اثرات متقابل آنها بر غلظت فلز سرب در ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). با افزایش سمیت سرب، غلظت این فلز در ریشه گیاه آفتابگردان افزایش یافت. اعمال تیمارهای پرایمینگ بذر نیز موجب افزایش این پارامتر در ریشه شدند. در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، غلظت فلز سرب در تیمار شاهد، ۳/۰۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ثبت رسید. تیمار نیترات پتاسیم میزان این پارامتر را به ۳/۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رساند و به عنوان بهترین تیمار پرایمینگ شناخته شد (شکل ۷).



شکل ۷- اثر تیمارهای پرایمینگ بر غلظت سرب ریشه گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

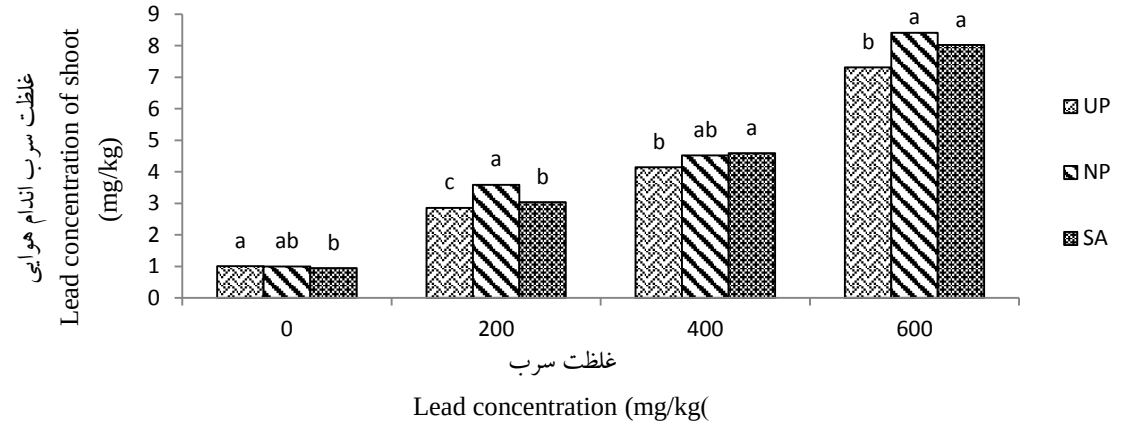
در هر غلظت سرب میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

UP، NP و SA به ترتیب تیمار بدون پرایم، نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید می‌باشند.

Figure 7- Seed priming effect on lead root concentration of sunflower plants in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, mean values followed by same letters aren't significantly different at $P < 0.05$ by LSD. UP, NP and SA respectively are control, potassium nitrate and salicylic acid.

غلظت سرب اندام‌های هوایی

اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و غلظت‌های مختلف سرب و اثرات متقابل آنها بر غلظت فلز سرب اندام‌های هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). به موازات افزایش سمیت سرب، غلظت این فلز در اندام‌های هوایی نیز افزایش یافت. تیمار بذور با نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید موجب افزایش این پارامتر گردید. بیشترین میزان این فلز در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به ثبت رسید که برابر با ۷/۳۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. تیمارهای نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید موجب افزایش این پارامتر به میزان ۸/۴۱ و ۸/۰۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم شدند. قابل ذکر است که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای پرایمینگ بذر وجود نداشت (شکل ۸).



شکل ۸- اثر تیمارهای پرایمینگ بر غلظت سرب اندام هوایی گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.
در هر غلظت سرب میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.
UP، NP و SA به ترتیب تیمار بدون پرایم، نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید می‌باشند.

Figure 8- Seed priming effect on lead shoot concentration of sunflower plants in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, mean values followed by same letters aren't significantly different at P < 0.05 by LSD. UP, NP and SA respectively are control, potassium nitrate and salicylic acid.

بحث

ریشه گیاهان اولین مکان برخورد با فلزات سنگین است (Kabatta-Pendias and Pendias, 2001) سرب درون ریشه‌ها با یون‌های قابل تبادل روی دیواره سلولی پیوند برقرار کرده و منجر به ایجاد رسوبات اضافی می‌شود. (Jatvis and Leung, 2002) از علائم مرئی و قابل رویت سمیت سرب می‌توان به جلوگیری از رشد ریشه‌ها (شارما و دوبی، ۲۰۰۵)، اکسید شدن ریشه‌ها و در کل کاهش وزن آنها اشاره کرد (سرب باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدولیز کننده کربوهیدرات مثل آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز، اسید انورتاز و اسید فسفاتاز و همچنین تغیرات ژنومی DNA می‌شود (Kumar and Shyamasree, 2013). زمانی که فعالیت آنزیم آمیلاز و هیدرولیتیک کاهش می‌یابد، مواد غذایی به ریشه‌های اولیه و اندام‌های اولیه نمی‌رسد و در نتیجه رشد گیاهچه کاهش می‌یابد (Kabir *et al*., 2008). بطور کلی می‌توان گفت کاهش در وزن گیاهچه می‌تواند به دلیل کاهش جذب عناصر غذایی ضروری مانند K، Ca، Mg و Fe (Gogorcena *et al*., 2002) و کاهش تولید زیست توده به دلیل اختلال در فرآیندهای فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن (Balestrasse *et al*., 2001) در اثر غلظت‌های سمی سرب باشد. در تحقیق حاضر سالیسیلیک اسید و نیترات پتاسیم مانع از کاهش شدید وزن خشک ریشه و برگ در محیط سمی سرب شد، که

تأییدی بر نقش مثبت آن‌ها می‌باشد. سالیسیلیک اسید باعث تغییر در تعادل هورمون (Shakirova *et a.l*, 2003) و غیر فعال‌سازی یون سرب(Metwally *et al*., 2003) و حذف این فلز از فرآیندهای متابولیکی و کاهش سمیت سرب با وجود افزایش غلظت آن می‌گردد (McDonald, 2000). پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک اسید قبل از جوانه‌زنی نشان می‌دهد که این هورمون به درون بذر انتقال یافته و بعضی فرآیندها را باعث می‌شود که دائما توسعه دانه‌رست‌ها و پایداری در برابر سرب را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش در وزن خشک ریشه توسط تیمار سالیسیلیک اسید ممکن است به دلیل القای فعالیت‌های متابولیک در جنین در نتیجه پرایمینگ باشد (Wahid *et al*., 2008).

یون نیترات نمک نیترات پتاسیم در سنتز آنزیم‌ها و رونویسی DNA و RNA نقش دارد و یون پتاسیم قابلیت نفوذ دیواره سلولی را افزایش می‌دهد (Preece and Read, 1993) که موجب سهولت پویایی اندوخته‌های غذایی بذر از آندوسپرم به سمت محور جنینی، سنتز پروتئین‌ها، نوکلئوتیدها و به دنبال آن رشد بیشتر جنین (Umair *et al*., 2010) و در نتیجه افزایش وزن می‌گردد. پرایمینگ بذر با مواد حاوی یون پتاسیم موجب می‌شود نیتروژن، پتاسیم و کلسیم در بذر جذب شده و برای ساختار بندی جنین برای تولید گیاهچه به کار برده شود (Farooq *et al*., 2010). بنابراین پرایمینگ بذر با نیترات پتاسیم ممکن است منجر به افزایش منبع غذایی (K^+ و NO_3^-)، نمو گیاهچه و در نتیجه افزایش وزن گردد (Ghobadi *et al*., 2012).

فتوسنتز یکی از حساس‌ترین فرآیندهای متابولیکی نسبت به سمیت سرب است. سرب کاهش فتوسنتز را ممکن است از طریق آسیب به سازماندهی فراساختاری کلروپلاست، تغییر در متابولیت‌های فتوسنتزی و ممانعت از ساختن یا تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی القا کند. به طور کلی با جایگزینی سرب به جای منیزیم موجود در حلقه پورفیرینی، کلروفیل تخریب می‌گردد (Reddy *et al*., 2005). در تحقیق حاضر، از بین تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر، نیترات پتاسیم غلظت سمی سرب میزان بالاتری از کلروفیل a را نشان داد که این افزایش کلرفیل را می‌توان به پتاسیم موجود در آنها نسبت داد. Kumar و Kumar (2008) گزارش کردند که با افزایش مصرف سولفات پتاسیم افزایش در محتوی نسبی کلرفیل دیده شد. این محققان اعلام نمودند بالا رفتن فعالیت‌های فتوسنتزی ناشی از افزایش محتوی نسبی کلرفیل در برگ ها به واسطه نقش پتاسیم در سنتز پیش ماده رنگدانه‌های کلرفیل می‌تواند باشد و افزایش محتوی نسبی کلرفیل در برگ‌ها انتقال انرژی تابشی را به داخل انرژی شیمیایی اولیه در شکل ATP و NADPH در کلروپلاست‌ها بهبود می بخشد. افزایش میزان کلرفیل b توسط تیمار سالیسیلیک اسید را می‌توان به تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و هورمونی ایجاد شده در فاز ۲ جوانه‌زنی نسبت داد (Kaur *et al*., 2000) که این تغییرات باعث افزایش میزان کلرفیل در گیاهان پرایم شده می‌شود (Ashrafi and Razmju, 2010).

محتوی کاروتنوئید گیاهان در معرض سرب، یک الگوی منظم را نشان نمی‌هد و در گیاهان مختلف ممکن است افزایش یا کاهش یابد (Parmar *et al*., 2013). افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند کاروتنوئید یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر فلزات سنگین است (Smeet *et al*., 2005). در این تحقیق نیز به موازات افزایش سمیت سرب، بر میزان کاروتنوئید افزوده شد. پرایمینگ بذر احتمالا از طریق افزایش پارامترهای رشدی موجب کاهش سمیت سرب گردیده، در نتیجه گیاه به کاهش تجمع کاروتنوئید روی آورده است.

تجمع میزان زیادی از پرولین پاسخ تطبیقی گیاهان تحت شرایط پر تنش است (Surasak *et a*l., 2002). زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های غیر زیستی قرار می‌گیرند، میزان پرولین آنها افزایش می‌یابد و ساختارهای سلولی و آنزیمی را در برابر فاکتورهای تنش‌زا محافظت می‌کند. اغلب بیان شده است که تجمع پرولین ممکن است به تنظیم اسمزی در سطح سلولی و تثبیت ساختار ماکرومولکول‌ها و اندامک‌ها کمک کند (Kasai *et al*., 1998). پرولین

بردباری گیاهان به تنش را از طریق حفاظت آنزیم‌ها در برابر دناتوره شدن و تثبیت سنتز پروتئین، افزایش می‌دهد. تجمع پرولین سبب کاهش اثرات تنش، کاهش اسیدی شدن سلول، در نتیجه تولید $NADP^+$ و حمایت از مسیر اکسیداتیو پنتوز فسفات می‌شود زیرا وابسته به $NADP^+$ بوده و توسط NADPH مهار می‌شود (Keshtegar *et al.*, 2014). احتمالاً پرایمینگ سبب ایجاد تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در روند جوانه‌زنی گیاهان شده (Kaur *et al.*, 2000) که این تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باعث افزایش میزان پرولین در گیاهان پرایم شده می‌شود (Ashrafi and Razmju, 2010). Ashrafi and Razmju (2010) گزارش کردند افزایش تجمع پرولین در گیاهان پرایم شده باعث رشد بهتر این گیاهان می‌شود.

نشت املاح از اجزاء گیاهی، منعکس کننده وضعیت غشاء سلولی است. مشخص شده است که اثرات زیان‌بار ناشی از آسیب اکسیداتیو فلزات سنگین، می‌تواند ساختار غشاء را به علت پراکسیداسیون لیپیدی تخریب کند و در نتیجه، باعث نشت املاح گردد (Agrawal and Mishra, 2009). تیمار سالیسیلیک اسید سبب کاهش نشت الکترولیتی ناشی از تنش سرب شد، که این امر، نقش این ترکیب را در مقابل آسیب اکسیداتیو تأیید می‌کند (Krantev *et al.*, 2008). تیمار با سالیسیلیک اسید اثر محافظتی بر ثبات غشاء دارد که این موضوع توسط افزایش سطح چربی‌ها و تغییرات در ترکیب اسید چرب آن‌ها در هنگام تیمار با سالیسیلیک اسید اثبات شد (Popova *et al.*, 2012). Nawaz و همکاران (2012) بیان داشتند که کاهش نشت الکترولیتی در گیاهچه بذر پرایم شده بامیه ممکن است با ترمیم بهتر غشاء در طول فرآیند پیش‌خیسانی و ایجاد پاسخ‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت که می‌توانند محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو را فراهم کنند، همراه باشد.

افزایش غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی، توسط نیترات پتاسیم را می‌توان به یون پتاسیم موجود در آن نسبت داد. پتاسیم نقش فیزیولوژیکی مهمی در شرایط نامساعد محیطی در سلول ایفا کرده و زیاد بودن آن موجب افزایش تحمل گیاه می‌شود (Cakmak, 2005). در نتیجه با وجود شرایط سمی مقاومت گیاه به سرب توسط پتاسیم افزایش یافته و گیاه قادر به تجمع بیشتر سرب شده است. همچنین با توجه به شکل ۵ افزایش میزان پرولین توسط نیترات پتاسیم موجب افزایش مقاومت گیاه به سرب نسبت گردید. در نتیجه با افزایش مقاومت گیاه توانسته غلظت بالاتری از فلز را در خود تجمع دهد.

نتیجه‌گیری کلی

بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت که سرب موجب کاهش پارامترهای جوانه‌زنی (وزن خشک ریشه، برگ و گیاهچه) و پارامترهای فیزیولوژی (کلروفیل a و b) آفتابگردان شد. با افزایش سمیت سرب از پارامترهای مذکور کاسته شد با این حال اعمال تیمارهای پرایمینگ توانست از کاهش شدید آنها جلوگیری کند. به موازات افزایش سمیت سرب، میزان کاروتنوئید، پرولین و نشت الکترولیتی افزایش یافت. بطوریکه در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک، بیشترین میزان این پارامترها به ثبت رسید. تیمارهای پرایمینگ بذر موجب بهبود کاروتنوئد و پرولین شد ولی از افزایش میزان نشت الکترولیتی جلوگیری کرد و موجب رشد بهتر گیاهچه‌ها در شرایط سمی شد. با توجه به اثرات سودمند پرایمینگ بر کاهش سمیت سرب، افزایش پارامترهای اندازه‌گیری شده گیاهچه آفتابگردان در خاک‌های سمی و به طبع آن افزایش بردباری گیاهچه، می‌توان از پرایمینگ بذر به عنوان فناوریی سودمند جهت افزایش کارایی گیاه پالایی بهره جست. چرا که افزایش بردباری گیاهان در مرحله گیاهچه‌ای تضمین کننده رشد بهتر و بیشتر گیاه در مراحل بعدی رشد می‌باشد. رشد بیشتر نیز موجب افزایش جذب سرب از خاک شده و به این صورت موجب بالابردن کارایی پالایش سرب توسط آفتابگردان می‌شود.

References منابع

Agrawal, S.B., and S. Mishra. 2009. Effects of supplemental ultraviolet-B and cadmium on growth, antioxidants and yield of *Pisum sativum* L. Ecotoxicol. Environ. Saf. 72:610-618.

Ashrafi, O.F., and J. Razmjou. 2010. The effect of physiological and biochemical characteristics of safflower under drought stress hydropriming. J. Crop Ecophysiol. 1:34-43 (In Persian)

Balestrasse, K.B., L. Gardey, S.M. Gallego, and M.L. Tomaro. 2001. Response of antioxidant defense system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Aust. J. Plant Physiol. 28:497-504.

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

Benavides, M.P., S.M. Gallego, and M.L. Tomaro. 2005. Cadmium toxicity in plants Braz. Br. J. Appl. Phys.17:21-34.

Cakmak, I. 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. J. Plant Nutr. Soil Sci. 168:521– 530.

Davey, M.W.E., B. Stals, J. Panis, and R.L. Keulemans. 2005. High throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. Anal. Biochem. 347:201-207.

Dionisio-Sese M.L., and S. Tobita. 1998. Antioxidant responses of rice seedling to salinity stress. Plant Sci. 135:1-9.

Emami, A. 1996. Methods of Plant Analysis. 400p. (In Persisn)

Farooq, M., S.M.A. Basra, H. Rehman, N. Ahmad, and B.A. Saleem. 2007. Osmopriming improve the germination and early seedling growth of melons (*Cucumis melon* L.). Pak. J. Agric. Sci. 44:529-536.

Farooq, M., S.M.A. Bassra, A. Wahid, and N. Ahmad. 2010. Changes in nutrient homeostasis and reserves metabolism during rice seed priming: consequences for seedling emergence and growth. Agric. Sci. China. 9:191-198.

Ghobadi, M., M. Shafiei-Abnavi, S. Jalali-Honarm, M.E. Ghobadi, and G.R. Mohammadi. 2012. Does KNO_3 and hydropriming improve wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds germination and seedlings growth? Ann. Biol. Res. 3:3156-3160.

Ghorbanli, M., M. Khanlryan, R. Haj Hussein, and H. Zali. 2006. Reviews accumulation of lead and its effect on Klrfyl content, iron and calcium in two cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.). Agron. J. (Pajohesh va Sazandegi). 71: 34-40 (In Persian).

Gogorcena, Y., J.J. Lucena, and J. Abadia. 2002. Effects of Cd and Pb in sugar beets plants grown in nutrient solution: Induced Fe deficiency and growth inhibition. J. Function. Plant Biol. 29: 1453-1464.

Groppa, M.D., M.L. Tomaro, and M.P. Benarides. 2007. Polyamines and heavy metal stress, the antioxidant behavior of spermine in cadmium and copper treated wheat leaves. Biometals 20:185-195.

Guo, B., Y. Liang, and Y. Zhu. 2009. Does salicylic acid regulate antioxidant defense system, cell death, cadmium uptake and partitioning to acquire cadmium tolerance in rice. J. Plant Physiol. 166: 20-31.

Halmer, P. 2004. Methods to improve seed performance in the field, In: R.L. Benech Arnold, and R.A. Sánchez (eds). Handbook of Seed Physiology, Applications to Agriculture. Haworth Press, N.Y. Pp. 125-166.

Jadia, C.H., and M.H. Fulekar. 2008. The application of vermicompost to remove zinc, cadmium, copper, nikel and lead by sunflower Plant. Environ. Eng. Manage. J. 7: 547-558.

Jatvis, M.D., and D.W.M. Leung. 2002. Chelated lead transport in pinus radiat: an ultrastructural study. Environ. Exp. Bot. 48:21-32.

Kabatta-Pendias, A., and H. Pendias. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. C.R.C., Boca Raton.

Kabir, M., M.Z. Iqbal, M. Shafigh, and Z.R. Faroogi. 2008. Reduction in germination and seedling growth of *Thespesia populnea* L. caused by lead and cadmium treatments. Pak. J. Bot. 40:2419-2426.

Karimi, N., D. Khan Ahmad, and B. Moradi. 2013. The effect of different concentrations of lead on some parameters artichoke plant *artichoke*. J. Plant Prod. 1:49-62(In Persian).

Kasai, Y., M. Kato, J. Aoyama, and H. Hyodo. 1998. Ethylene production and increase in 1 -aminocyclopropane-1 -carboxylate oxidase activity during senescence of broccoli florets. Acta Hortic. 464:153-157.

Kaur, S.A., K. Gupte, and N. Kaur. 2000. Seed priming increases crop yield possibly by modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. J. Agron. Crop Sci.191:81-87.

Keshtegar, M., A. Safipour Afshar, and F. Saeid Nematpour. 2014. Effect of heavy metals Cu and Pb on some growth characteristics, proline content and lipid peroxidation in two varieties of mung bean (*Vigna radiate*). J. Crop Ecophysiol. 8:363-374 (In Persian).

Krantev, A., R. Yordanova, T. Janda, G. Szalai, and L. Popova. 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. J. Plant Physiol. 165:920–931.

Krystofova, O., V. Shestivska, M. Galiova, K. Novotny, J Kaiser, J.P. Zehnalek, R. Babula, V. Opatrilova, R. Adam, and R. Kizek. 2009. Sunflower plants as bioindicators of environmental pollution with lead (II) ions. Sensors 9:5040-5058.

Kumar, A.R., and M. Kumar. 2008. Studies on the efficacy of sulphate of potash on physiological, yield and uality parameters of Banana cv. Robusta (Cavendish- AAA). Eur-Asian J. BioSciences 2:102-109.

Kumar, S., and G. Shyamasree. 2013. Effect of heavy metals on germination of seeds. J. Nat. Sci. Biol. Med. 2:272-275.

Lin, C.J., L. Liu, L. Liu, T. Zhu, D. Sheng, and D. Wang. 2009. Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. Environ. Exp. Bot. 65: 410-416.

Lombi, E., F. Zhao, S. Dunham, and P. McGrath. 2001. Phytoremediation of heavy metal-contaminated. J. Environ. Qual. 30:1919-1926.

Metwally, A., I. Finkemeier. M. George, and K.J. Dietz. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiol. 132:272-281.

Nawaz, A., M. Amjad, M.M. Jahangir, S.M., Khan, H. Cui, and J. Hu. 2012. Induction of salt tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds through sand priming. Aust. J. Crop Sci. 6:1199-1203.

Parmar, P., N. Kumari, and V. Sharma. 2013. Structural and functional terations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. Botanical Studies. 54:45-51.

Popova, L.P., L.T. Maslenkova, A.P. Ivanova, and Z. Stoinova. 2012. Role of Salicylic Acid in Alleviating Heavy Metal Stress, In: P. Ahmad, M.N.V. Prasad (eds). Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change. Springer, N.Y. Pp. 441-466.

Preece, J.E., and P.E. Read. 1993. The Biology of Horticulture: An Introductory Textbook. John Wiley and sons, U.S.

Reddy, A.M., S.G. Kumar, G. Jyonthsnakumari, S. Thimmanaik, and C. Sudhakar. 2005. Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) and bengalgram (*Cicer arietinum*L.). Chemosphere. 60: 97-104.

Shakirova, F.M., A.R. Sakhabutdinova, M.V. Bezrukova, R.A. Fatkhutdinova, and D.R. Fatkhutdinova. 2003. Changes in hormonal status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164: 317-322.

Sharma, P., and R. Dubey. 2005. Lead toxicity in plants. Br. J.Plant Physiol. 17:35-52.

Smeet, K., A. Cuypers, A. Lambrechts, B. Semane, P. Hoet, A.V. Laere, and J. Vangronsveld. 2005. Induction of oxidative stress and antioxidativ mechanisms in Phaseolus vulgaris aftar Cd application. Plant Physiol. Biochem. 43:437-444.

Surasak, S., T. Samuel, S.V. Desh-Pal, and T.S. Richard. 2002. Molecular mechanisms of proline mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. The Plant Cell. 14:2837-2847.

Tiriki, I., M. Kizilsmsek, and M. Kaplan. 2009. Rapid and enhanced germination at low temperature of alfalfa and white clover seeds following osmotic priming. Tropical Grasslands. 43:171-177.

Umair, A., S. Ali, K. Bashir, and S. Hussain. 2010. Evaluation of different seed priming techniques in mung bean (*Vigna radiate*). Plant Soil Environ. 29:181-186.

Verbruggen, N., and C. Hermans. 2008. Proline accumulation in plants: a review. Amino Acids 35: 753-759.

Wahid. A.A., S. Noreen, M.A. Basra, S. Gelani, and M. Farooq. 2008. Priming-induced metabolic changes in sunflower (*Helianthus annuus*) achenes improve germination and seedling growth. Botanical Studies 49:343-350.

Wllburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoid, using varous solvents with spectrophotometers of different resolution. J. Plant Physiol. 307-313.

Yadav, S.K. 2010. Heavy metals toxicity in plants: an Overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. South Afric. J. Bot. 76:167-179.