Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
Islamic Azad University Gorgan Branch
Phycological Society of Iran

Investigating the effect of silicon on the growth and some physiological parameters of *Brassica napus* L. under arsenic and cadmium stress

Naser Karimi[1]*, Salimeh Khademi Azam[2], Zahra Souri[3]

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran, Email: nkarimi@razi.ac.ir
[2]Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran, Email: salimeh.khademi@yahoo.com
[3]Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran, Email: z.souri.razi.ac@gmail.com

Article type:
Research article

Article history
Received:09.04.2024
Revised: 09.06.2024
Accepted:14.06.2024
Published:22.09.2024

Keywords
Antioxidant
Cadmium
Heavy Metals
Resistance
Silicon

Abstract

Silicon, the second most abundant element in soil and earth's crust, can increase plant growth and improve various stresses, including heavy metal stress. To investigate the effect of silicon on some growth and physiological parameters of *Brassica napus* under arsenic and cadmium stress, two independent experiments were conducted as factorials in a completely randomized design with three replications. In this study, after reaching the four-leaf stage, plants were exposed to arsenic and cadmium treatments at 600 µM and silicon at concentrations of 0, 0.5, 1, and 2 mM for 14 days. The results showed that applying cadmium and arsenic stress significantly reduced the plant growth parameters and total chlorophyll content. On the other hand, compared to the treatment containing arsenic or cadmium, the application of silicon improved the growth parameters and chlorophyll content. In addition, the application of silicon led to an increase in chlorophyll content and the activity of glutathione S-transferase enzyme in the shoot of the *B.napus*. The results indicated that the application of silicon can enhance the resistance of *Brassica napus* by improving growth parameters and boosting the antioxidant defense system, particularly under cadmium stress. Therefore, silicon can be utilized to foster growth and increase the resilience of this plant in heavy metal stress conditions, especially those involving cadmium. As a result, the use of silicon can improve crop production and strengthen plants' resistance to cadmium stress.

Cite this article as: Karimi, N., Khademi Azam, S., Souri, Z. (2024). Investigating the Effect of Silicon on the growth and some physiological parameters of Brassica napus L. under arsenic and cadmium stress. *Journal of Plant Environmental Physiology,* 19(3): 1-20.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: https://doi.org/10.71890/iper.2024.1106270

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
PSI انجمن جلبک شناسی ایران Phycological Society of Iran

بررسی اثر غلظت‌های مختلف سیلیکون بر رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش آرسنیک و کادمیوم (*Brassica napus L.*)

ناصرکریمی[۱*]، سلیمه خادمی اعظم[۲]، زهرا سوری[۳]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: nkarimi@razi.ac.ir
[۲]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: salimeh.khademi@yahoo.com
[۳]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: z.souri.razi.ac@gmail.com

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۵
تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

واژه‌های کلیدی:
آنتی اکسیدان
سیلیکون
فلزات سنگین
کادمیوم
مقاومت

چکیده

سیلیکون به عنوان دومین عنصر فراوان در خاک و پوسته زمین، می‌تواند رشد گیاهان را افزایش داده و موجب بهبود تنش‌های مختلف از جمله تنش فلزات سنگین گردد. به منظور بررسی اثر سیلیکون بر برخی پارامترهای رشد و فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش آرسنیک و کادمیوم دو آزمایش مستقل به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این پژوهش گیاهان پس از رسیدن به مرحله‌ی چهار برگی به مدت ۱۴ روز تحت اثر تیمارهای آرسنیک و کادمیوم با غلظت ۶۰۰ میکرو مولار و سیلیکون با غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و۲ میلی‌مولار قرار گرفتند. اعمال تنش کادمیوم و آرسنیک به طور معنی داری پارامتر های رشد گیاه و محتوای کلروفیل کل را کاهش داد. از سوی دیگر در مقایسه با تیمار حاوی آرسنیک و یا کادمیوم، کاربرد سیلیکون باعث بهبود پارامترهای رشد و محتوی کلروفیل گردید. همچنین کاربرد سیلیکون منجر به افزایش محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس- ترانسفراز در بخش هوایی گیاه کلزا شد. نتایج نشان دادند که کاربرد سیلیکون می تواند مقاومت گیاه کلزا را از طریق بهبود فاکتورهای رشد و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی به ویژه تحت تنش کادمیوم بهبود بخشد. بنابراین می‌توان از سیلیکون جهت بهبود رشد و افزایش مقاومت این گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین به ویژه تنش کادمیوم استفاده کرد.

استناد: کریمی، ناصر؛ خادمی اعظم، سلیمه؛ سوری، زهرا (۱۴۰۳).بررسی اثر غلظت‌های مختلف سیلیکون بر رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش آرسنیک و کادمیوم (*Brassica napus* L.). *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۱۹(۳)، ۲۰-۱.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.
Doi: https://doi.org/10.71890/iper.2024.1106270

مقدمه

امروزه آلودگی خاک توسط فلزات سنگین به یک نگرانی مهم زیست محیطی در بخش کشاورزی تبدیل شده است. زمین‌های کشاورزی که به دلیل تجمع فلزات سنگین آلوده شده‌اند، فعالیت بیولوژیکی خاک، متابولیسم گیاه، تنوع زیستی و سلامت انسان‌ها و حیوانات را تحت تأثیر قرار داده و مشکلات فراوانی را به‌وجود آورده‌اند (Farooq et al., 2013; 2016). کادمیوم، یک فلز سنگین سمی رایج برای گیاهان است که دارای تحرک بالا و حلالیت قابل توجه در آب می‌باشد (Azam et al., 2021). از علائم سمیت کادمیوم در گیاهان می‌توان به کاهش رشد ریشه و بخش هوایی، اختلال در جذب مواد غذایی، کاهش فتوسنتز، اختلال در تثبیت دی اکسید کربن، تغییر در نفوذپذیری غشای سلول‌ها و کاهش فعالیت آنزیم‌ها اشاره کرد (Azam et al., 2021).

آرسنیک به‌عنوان یک شبه فلز سمی برای انسان، گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شود (Karimi and) Souri, 2015; Souri et al., 2017; 2020). هنگامی که گیاهان در معرض بیش از حد آرسنیک، در خاک یا درکشت هیدروپونیک قرار می‌گیرند، علائمی مانند مهار جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه، کاهش رشد بخش هوایی و محتوای کلروفیل، تخریب غشای کلروپلاستی، کاهش نرخ فتوسنتز، کاهش توسعه ریشه و اختلال در نمو گیاه ایجاد می‌گردد (Souri et al., 2020; Saleem et al., 2022; Khan et al., 2023).

کلزا (*Brassica napus* L.) گیاهی علفی از خانواده‌ی شب بو و دارای دوره‌ی رشد یک ساله می‌باشد. مطالعات قبلی تأثیر گونه‌های براسیکا مانند *B. carinata* و *B. napus* L. در گیاه پالایی فلزات سنگین مانند کادمیوم را تایید کردند. لذا این گیاهان می‌توانند به عنوان گزینه‌های احتمالی برای استخراج گیاهی به عنوان اصلی‌ترین تکنیک گیاه پالایی در نظر گرفته شوند (Vatehova et al., 2012; Hasanuzzaman et al., 2017).

سیلیکون به‌عنوان یک عنصر مفید می‌تواند به تحمل تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی در گیاهان کمک کند. سیلیکون مقاومت گیاهان به فلزات سنگین مانند آرسنیک و کادمیوم را از طریق برخی مکانیسم‌ها شامل کاهش جذب فلز، فعال کردن سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و سیگنالینگ هورمونی افزایش می‌دهد (Azam et al., 2021). سیلیکون اگرچه به عنوان یک عنصر ضروری برای تمام گیاهان در نظر گرفته نشده اما برای رشد و توسعه‌ی بسیاری از گونه‌های گیاهی مفید می‌باشد (Souri et al., 2021). این عنصر به عنوان تعدیل‌کننده‌ی انواع تنش‌ها پیشنهاد شده است که سازش‌های فیزیولوژیک گیاه را در پاسخ به تنش فلزات سنگین افزایش می‌دهد (Pandey et al., 2016). از مکانیسم‌های فرضی برای نقش سیلیکون در ارتباط با کاهش تنش فلزات سنگین می‌توان به کاهش جذب فلزات سنگین، کاهش انتقال از ریشه به بخش هوایی، تحریک آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، سیگنالینگ هورمونی و تغییرات ساختاری در گیاهان اشاره کرد (Emamverdian et al., 2018; Souri et al., 2020). شواهد فراوانی وجود دارد که نشان می‌دهد زمانی که سیلیکون در اختیار گیاهان قرار می‌گیرد، نقش مؤثری در بهبود رشد، تغذیه معدنی و مقاومت در برابر تنش فلزات سنگین دارد (Azam et al., 2021). سیلیکون اثرات سمی فلزات سنگین مانند کادمیوم (Shao et al., 2017)، منگنز (Che et al., 2016)، آرسنیک (Sanglard et al., 2014; Azam et al., 2021) و مس Mateos-Naranjo (et al., 2015) در گیاهان را کاهش می‌دهد. مطالعات قبلی نشان داد که سیلیکون از طریق کاهش جذب ریشه‌ای، کاهش انتقال از ریشه به بخش هوایی،

تعدیل فتوسنتز، تسهیل جذب عناصر معدنی، بیوسنتز هورمون‌های گیاهی و القای سیستم دفاع آنتی اکسیدانی مقاومت گیاه به فلزات سنگین را ممکن می‌سازد (Azam et al., 2021; Saleem et al., 2022; Boorboori, 2023). با توجه به اهمیت کلزا به‌عنوان یک گیاه استراتژیک زراعی و از طرفی کاربرد سیلیکون در افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش فلزات سنگینی مانند آرسنیک و کادمیوم، هدف از انجام این پژوهش بررسی برخی از مکانیسم‌هایی است که به واسطه آن‌ها سیلیکون به گیاه کلزا کمک می‌کند تا تنش آرسنیک و یا کادمیوم را بهتر تحمل کند. لذا در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف سیلیکون بر برخی پارامترهای رشد و فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش آرسنیک و کادمیوم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

کشت گلدانی: بذرهای گیاه کلزا از دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی تهیه گردید. سپس بذرها در گلدان‌های حاوی پرلیت و ماسه (به نسبت دو به یک) کشت داده شدند و در گلخانه‌ی گروه زیست‌شناسی دانشگاه رازی با شرایط محیطی نیمه کنترل شده شامل دمای متناوب ۲۵-۱۸ درجه سانتی گراد (شب و روز)، رطوبت نسبی ٤٥ درصد، تناوب نوری ١٦ ساعت نوری و ٨ ساعت تاریکی و شدت نوری حدود ۱۵۰ میکرو مول فوتون در متر مربع رشد کردند. در ادامه بذرها بعد از جوانه زنی و تشکیل دانه رست، آن ها در محیط حاوی محلول غذایی هوگلند ۱۰ درصد قرار گرفتند که دارای ترکیبات: ۰/۵ میلی مولار KNO_3، ۰/۷۵ میلی‌مولار $Ca(NO_3)_2$، ۰/۲ میلی‌مولار $MgSO_4$، ۰/۵ میلی‌مولار KH_2PO_4، ۰/۲ میکرومولار $NaMoO_4$، ۱ میکرومولار $ZnSO_4$، ۰/۵ میکرومولار $CuSo_4$، ۲ میکرومولار $MnCl_2$، ۱۵ میکرومولار H_3BO_3، ۵۰ میکرومولار Fe-EDTA بود (Karimi et al., 2009). پس از رسیدن به مرحله‌ی چهار برگی، گیاهان در گروه‌های سه گلدانی (سه تکرار) قرار گرفتند که حجم هر گلدان یک لیتر بود. سپس در این مرحله گیاهان به دو گروه مجزا تقسیم شدند. گروه اول دو بار در هفته و به‌مدت ١٤ روز تحت اثر تیمارهای مختلف آرسنیک (Na_2HAsO_4) با غلظت‌های صفر و ٦٠٠ میکرومولار و سیلیکون (Na_2SiO_3) با غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار قرار گرفتند. گروه دوم هم بطور مشابه دو بار در هفته و به مدت ١٤ روز تحت اثر تیمارهای مختلف کادمیوم ($CdCl_2$) با غلظت‌های صفر و ٦٠٠ میکرومولار و سیلیکون (Na_2SiO_3) با غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار قرار گرفتند. ترکیبات حاوی آرسنیک، کادمیوم و سیلیکون در غلظت‌های مورد نظر به گلدان‌های یک لیتری حاوی محلول هوگلند و به‌صورت همزمان اضافه شدند. تمامی ترکیبات و نمک‌های مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک و با درصد خلوص بیش از ۹۵ درصد تهیه گردید. دلیل انتخاب ١٤ روز مدت تیمار، بررسی‌های قبلی نویسندگان مقاله در کارهای مشابه بر روی آرسنیک و کادمیوم (Souri et al., 2020; Azam et al., 2021) و همچنین هدف از تحقیق که بررسی پارامترهای رشد و فیزیولوژیک در مدت مشابه بود. بعد از اتمام زمان تیمار و برداشت گیاهان، بخش هوایی و ریشه‌ای آنها جدا گردید و برای بررسی پارامترهای رشد، بیوشیمیایی و بررسی غلظت عناصر مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل: برای تعیین میزان کلروفیل در نمونه‌ها از روش Arnon استفاده گردید (Arnon, 1949). به این ترتیب که مقدار ۰/۱۵ گرم از بافت تر برگ هر تیمار در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به کمک هاون ساییده شد و سپس صاف

گردید. محلول حاصل، به مدت ده دقیقه با سرعت ٤٠٠٠ دور و در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. پس از آن به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب محلول رویی در طول موج‌های ٦٤٥ و ٦٦٣ نانومتر (OD 645 و OD 663) ثبت گردید. از استون ۸۰ درصد نیز به عنوان بلانک استفاده شد. میزان کلروفیل a، b و کل به کمک فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

Chl a (mg/g leaf) = (12.7×OD 663)-(2.6× OD 645) ×ml acetone/ mg leaf

Chl b (mg/g leaf) = (22.9× OD 645)-(4.68× OD 663)×ml acetone/mg leaf

Total Chl = Chl a+ Chl b

اندازه‌گیری آرسنیک و کادمیوم: برای اندازه‌گیری غلظت آرسنیک نمونه‌های گیاهی از روش (Meharg and Jardine, 2003) و برای اندازه‌گیری غلظت کادمیوم نمونه‌ها از روش (Shah et al., 2013) استفاده شد. به این ترتیب که به ۰/۵ گرم از نمونه‌های خشک برگ هر نمونه گیاهی ۱ میلی لیتر نیتریک اسید اضافه گردید. بعد از مدت ٢٤ ساعت به محتویات هر لوله‌ی آزمایش ۱ میلی لیتر پراکسید هیدروژن اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در داخل بن ماری جوشان ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از سرد شدن، محلول نمونه‌ها صاف و با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسید. برای اندازه‌گیری غلظت کادمیوم از محلول موجود در هر لوله‌ی آزمایش ۱۰ میلی لیتر برداشته شد و غلظت کادمیوم موجود در آن به وسیله‌ی دستگاه طیف سنج جذب اتمی (Shimadzu, 6200) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری آرسنیک نیز به ۱ میلی لیتر، از محلول رقیق شده‌ی هر یک از نمونه‌ها، به ترتیب ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۱۰ درصد، یدید پتاسیم ۱۰ درصد و اسید آسکوربیک ۵ درصد اضافه گردید. غلظت آرسنیک موجود در نمونه‌ها به وسیله‌ی دستگاه طیف سنج جذب اتمی (Shimadzu, 6200) به همراه تولید هیدرید (FIG 100) اندازه‌گیری شد. براساس مقدار وزن خشک استفاده شده و میزان حجم نمونه، غلظت فلزات بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک گزارش شد.

اندازه‌گیری محتوای پرولین: برای تعیین میزان پرولین بافت‌های گیاهی از روش (Bates et al., 1973) استفاده شد. به این صورت که به ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگی ۱۰ میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد اضافه گردید و بعد از مدت ٤٨ ساعت، محتوای لوله‌ها صاف شد و برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه به یک میلی لیتر از محلول صاف شده‌ی هر نمونه، ۱ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۱ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در بن ماری جوشان ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از سرد شدن، به محتوای هر لوله ۲ میلی لیتر تولوئن افزوده شد و محتویات لوله‌ها با احتیاط مخلوط شدند. پس از مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه از دو فاز تشکیل شده، محلول قرمز بالایی مورد استفاده قرار گرفت و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. بر اساس منحنی استاندارد و مقدار وزن خشک استفاده شده و میزان حجم نمونه، غلظت پرولین بر حسب میلی گرم / گرم وزن خشک گزارش شد.

اندازه‌گیری محتوای کربوهیدرات های محلول: برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش فنول- اسید سولفوریک استفاده شد (Dubois and Gilles, 1956). مطابق این روش ۰/۱ گرم از بافت خشک برگ با ۱۰

میلی لیترآب مقطر گرم در هاون ساییده شد و با کاغذ صافی صاف گردید. به ۲ میلی‌لیتر از محلول حاصل، ۵۰ میکرولیتر فنول ۸۰ درصد و سپس ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در محیط نگهداری و پس از آن به مدت ۲۰-۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس جذب محلول‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ٤٩٠ نانومترقرائت گردید و بر اساس منحنی استاندارد و مقدار وزن خشک استفاده شده و میزان حجم نمونه، غلظت محتوای کربوهیدرات های محلول میلی گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد.

اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژن: برای تعیین محتوای پراکسید هیدروژن، از روش Sergiev و همکاران (۱۹۹۷) با اندکی تغییر استفاده شد. ۰/۱۲ گرم از بافت تر برگی با ۳ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد در هاون ساییده شد و عصاره‌ی حاصل در۱۲۰۰۰ دور، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی لیتر از مایع رویی برداشته و به ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار و ۱ میلی لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه شد. جذب مخلوط ذکر شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد و در نهایت محتوی H_2O_2 با استفاده از ضریب خاموشی[1] (EC) mM^{-1} ۲۸ cm^{-1} محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز: مقدار ۳۵۰ میکرولیتر از بافرفسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (PH=7) را با ۲۰۰ میکرولیتر محلول گلوتاتیون احیاء ۳/۵ میلی مولار (GSSG) ترکیب کرده و بعد از مخلوط شدن، به محلول به دست آمده ۵۰ میکرولیتر ۱- کلرو ۲و٤- دی نیترو بنزن ۳۰ میلی مولار (CDNB) و ۵۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی اضافه شد. سپس تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۳٤۰ نانومتر در مدت ۱ دقیقه ثبت گردید. میزان فعالیت ویژه آنزیم، با در نظر گرفتن ضریب خاموشی ($EC= 9.6\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید (Souri et al., 2020).

آنالیز آماری داده‌ها: این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای، به صورت دو آزمایش فاکتوریل جداگانه (آرسنیک و سیلیکون و کادمیوم و سیلیکون) در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. تجزیه وتحلیل داده‌های حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری SPSS صورت گرفت. همچنین برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید. نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel ترسیم شد.

نتایج

اثر سیلیکون در حضور آرسنیک و کادمیوم بر طول و وزن تر بخش هوایی: در حضور کادمیوم از غلظت صفر تا ۲ میلی‌مولار سیلیکون طول و وزن تر بخش هوایی گیاه افزایش پیدا کرد. به‌طوریکه در غلظت ۲ میلی مولار سیلیکون، بیشترین افزایش این پارامترها مشاهده شد (شکل۱). در حضور آرسنیک افزایش سطوح سیلیکون تأثیر مثبتی در میزان طول و وزن تر بخش هوایی داشته و به‌ویژه در غلظت ۲ میلی‌مولار منجربه افزایش وزن تر به میزان ۸۰/۸ درصد و افزایش طول بخش هوایی به میزان ۲۲/۵ درصد نسبت به تیمار صفر سیلیکون گردیده است. در شرایط عدم کاربرد سیلیکون، وزن تر بخش هوایی در حضور کادمیوم و آرسنیک نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد. در شرایط عدم کاربرد سیلیکون و حضور کادمیوم، طول بخش هوایی گیاه بطور معنی‌داری تحت تاثیر قرار نگرفت که این امر

[1] Extinción coefficient

می‌تواند بیانگر مقاومت نسبی گیاه در مقابله با تنش کادمیوم حتی در شرایط عدم وجود سیلیکون باشد. کاربرد سیلیکون منجر به افزایش طول و وزن تر بخش هوایی در حضور کادمیوم و آرسنیک نسبت به تیمار عدم حضور فلز سنگین گردید. همچنین اثر مثبت سیلیکون در افزایش طول و وزن تر بخش هوایی در حضور تنش کادمیوم نسبت به آرسنیک بیشتر بوده است.

جدول ۱: نتایج حاصل از آنالیز واریانس اثر تیمارهای سیلیکون و آرسنیک بر محتوی کلروفیل، طول بخش هوایی و وزن تر بخش هوایی گیاه کلزا.

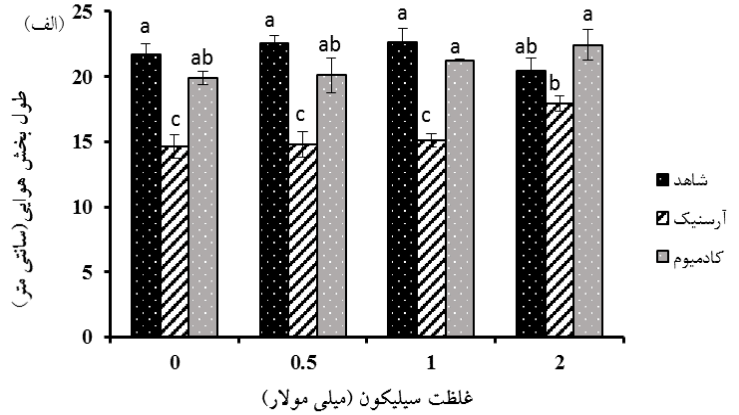
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	طول بخش هوایی	**وزن تر بخش هوایی**
آرسنیک	۱	۰/۶۱۳***	۰/۰۵۵^{ns}	۱/۰۳۷***	۲۳۰/۸۲۶***	۳۰/۵۵۰***
سیلیکون	۳	۰/۰۴۶^{ns}	۰/۰۲۴^{ns}	۰/۰۲۷^{ns}	۱/۱۴۶^{ns}	۰/۶۱۶^{ns}
آرسنیک× سیلیکون	۳	۰/۰۷۸^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۱۱۸^{ns}	۹/۲۷۷*	۰/۳۷۱^{ns}
خطا	۱۶					
ضریب تغییرات(٪)		۲۳/۹	۲۸/۸	۲۱/۵	۱۹/۲	۴۱/۸

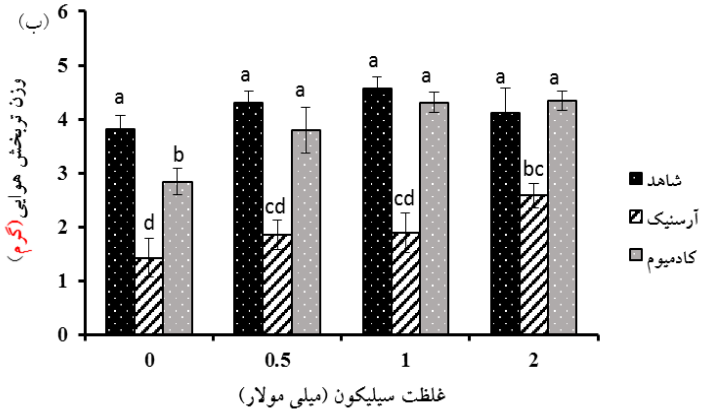
* و** و *** به‌ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و۰/۰۰۱ می‌باشد. ^{ns} نشان دهنده‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۲: نتایج حاصل از آنالیز واریانس اثر تیمارهای سیلیکون و کادمیوم بر محتوی کلروفیل، کاروتنوئید، طول ریشه و ساقه، وزن تر ریشه و بخش هوایی گیاه کلزا

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	طول بخش هوایی	وزن تر بخش هوایی
کادمیوم	۱	۰/۲۰۲^{ns}	۰/۰۹۲**	۰/۵۶۷**	۴/۸۴۲^{ns}	۰/۸۵۸^{ns}
سیلیکون	۳	۰/۰۵۸^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۰۵۶^{ns}	۱/۳۶۷^{ns}	۱/۳۹۵**
کادمیوم× سیلیکون	۳	۰/۰۹۷^{ns}	۰/۰۳۸*	۰/۲۳۸*	۵/۸۷۸^{ns}	۰/۳۷۲^{ns}
خطا	۱۶					
ضریب تغییرات(٪)		۲۰/۷	۳۱/۰	۱۹/۸	۸/۰	۱۶/۶

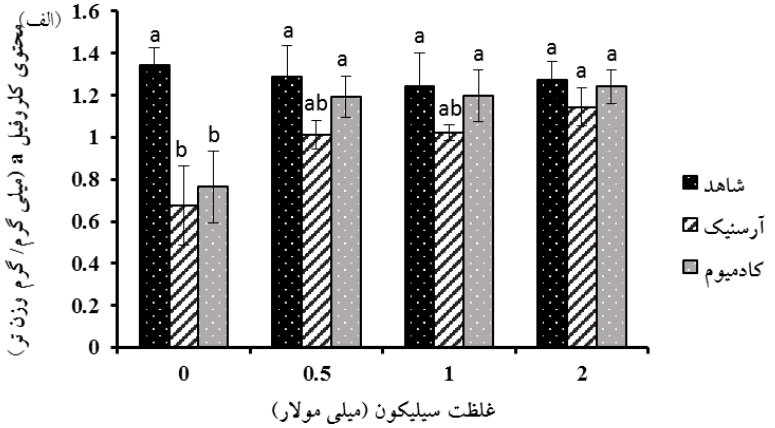
* و** و *** به ترتیب نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و۰/۰۰۱ می‌باشد. ^{ns} نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

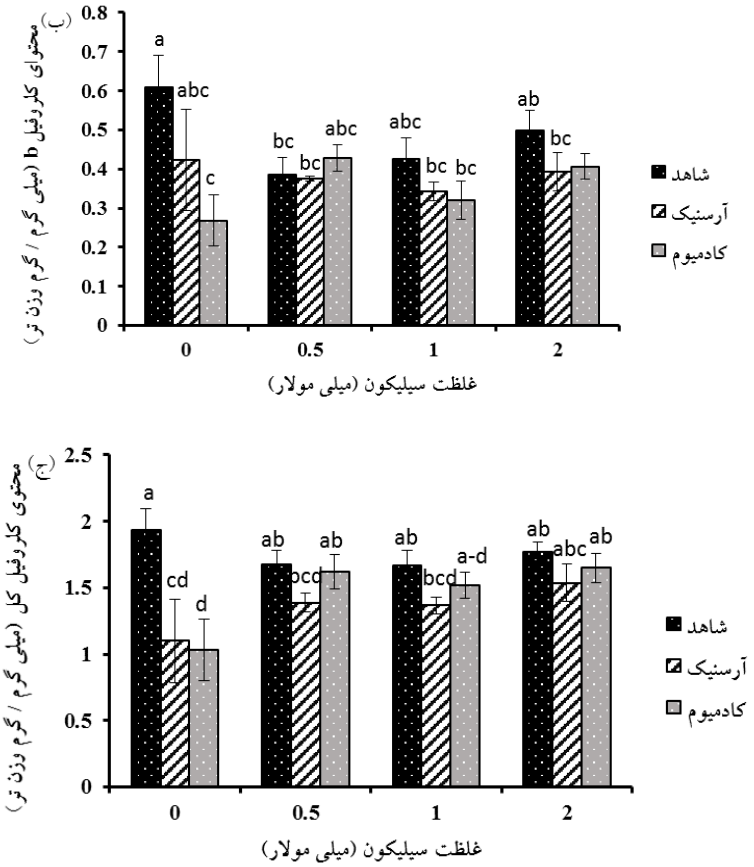




شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکون (صفر، ۰/۵، ۱ و۲ میلی مولار)، ۶۰۰ میکرومولار آرسنیک و ۶۰۰ میکرومولار کادمیوم بر میزان طول بخش هوایی (الف) و وزن تر بخش هوایی (ب) گیاه کلزا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار نبودن تفاوت‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

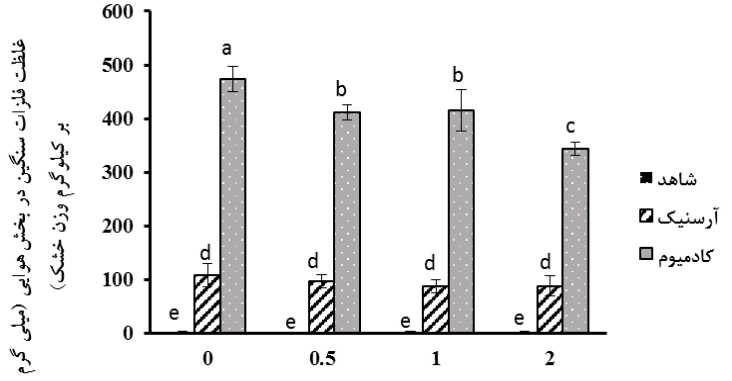
اثر سیلیکون در حضور آرسنیک و کادمیوم بر محتوای کلروفیل: با افزایش سطوح سیلیکون محتوای کلروفیل a، b و کل در گیاه کلزا در شرایط تنش کادمیوم افزایش یافت، به‌طوریکه بالاترین محتوای آن در غلظت ۲ میلی مولار سیلیکون مشاهده شد. محتوای کلروفیل کل در تیمار ۲ میلی مولار سیلیکون و ۶۰۰ میکرومولار آرسنیک (با میانگین ۱/۵۹۶ میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه)، ۳۹/۷۶ درصد نسبت به شرایط عدم کاربرد سیلیکون و ۶۰۰ میکرومولار آرسنیک (با میانگین ۱/۰۹۹ میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه) افزایش نشان داد. در شرایط عدم کاربرد سیلیکون نیز، محتوای کلروفیل در حضور آرسنیک و کادمیوم نسبت به تیمار عدم حضور فلز به طور معنی-داری کاهش داشته است. در غلظت ۲ میلی مولار سیلیکون میزان کلروفیل گیاه در تیمار کادمیوم میزان بیشتری را نسبت به تیمار آرسنیک به خود اختصاص داد (شکل۲ الف، ب، ج).





شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف سیلیکون (صفر، ۰/۵، ۱ و۲ میلی مولار)، ۶۰۰ میکرومولار آرسنیک و ۶۰۰ میکرومولار کادمیوم بر محتوای کلروفیل **a** (الف)، کلروفیل **b** (ب) و کلروفیل کل (ج) کلزا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار نبودن تفاوت-ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

اثر سیلیکون درحضور آرسنیک و کادمیوم بر میزان انباشت آرسنیک و کادمیوم بخش هوایی: در عدم حضور سیلیکون و در سطوح تیمار ۶۰۰ میکرومولار آرسنیک و کادمیوم، میزان انباشت آرسنیک و کادمیوم به‌ترتیب ۳۳ و ۱۴۵ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرده که در مورد کادمیوم این افزایش به مراتب بیشتر بوده است. کاربرد سیلیکون در غلظت های مختلف تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان انباشت فلزات سنگین به ویژه آرسنیک نداشت، اما در حضور کادمیوم با افزایش غلظت سیلیکون، میزان انباشت کادمیوم بخش هوایی کاهش یافت. در تیمار ۲ میلی‌مولار سیلیکون و ۶۰۰ میکرومولار کادمیوم، کاربرد سیلیکون باعث کاهش ۲۷درصدی نسبت به تیمار فاقد سیلیکون بود (شکل۳).



شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف سیلیکون (صفر، ۰/۵، ۱ و۲ میلی مولار)، ۶۰۰ میکرومولار آرسنیک و ۶۰۰ میکرومولار کادمیوم بر میزان انباشت فلزات سنگین بخش هوایی گیاه کلزا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار نبودن تفاوت‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۳: نتایج حاصل از آنالیز واریانس اثر تیمارهای سیلیکون و آرسنیک بر محتوی کربوهیدرات، پروتئین، پرولین، پراکسیدهیدروژن، گلوتاتیون ترانسفراز در بخش هوایی گیاه کلزا

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کربوهیدرات	پرولین	پراکسید هیدروژن	گلوتاتیون ترانسفراز
آرسنیک	۱	۷/۷۷۷***	۱۶/۵۷۵**	۱۲۸/۸۴۰***	۲۰۱۳۶۲/۷۲۲***
سیلیکون	۳	۰/۲۵۹ns	۱/۰۳۲ns	۱/۹۸۰ns	۱۲۳۳۵/۰۷۶*
آرسنیک× سیلیکون	۳	۰/۶۴۴ns	۰/۶۹۶ns	۱/۳۹۳ns	۷۷۳۷/۷۰۸ns
خطا	۱۶				
ضریب تغییرات(٪)		۳۴/۷	۳۵/۲	۵۳/۰	۷۱/۹

* و** و *** به ترتیب نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و۰/۰۰۱ می‌باشد. ns نشان دهنده‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

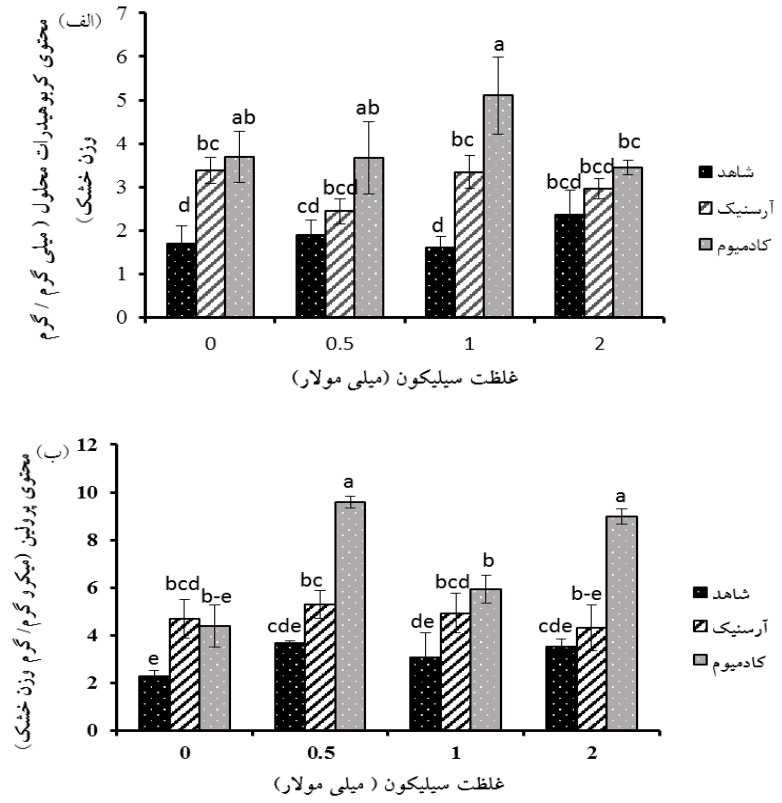
جدول ٤: نتایج حاصل از آنالیز واریانس اثر تیمارهای سیلیکون و کادمیوم بر محتوی کربوهیدرات، پروتئین، پرولین، پراکسیدهیدروژن، گلوتاتیون ترانسفراز در بخش هوایی گیاه کلزا

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کربوهیدرات	پروتئین	پرولین	پراکسیدهیدروژن	گلوتاتیون ترانسفراز
کادمیوم	۱	۲۶/۱۴۸***	۱۰/۵۰۷ns	۹۹/۷۹۲***	۵۱/۰۴۲***	۲۵۰/۸۱۵***
سیلیکون	۳	۰/۵۲۰ns	۱۶/۹۸٤*	۱٤/۲٦۳***	۲/٤۱٦ns	۱٦/۳۷۲*
کادمیوم× سیلیکون	۳	۱/۵٤۰ns	٤/۹۵٤ns	۵/۲٦۱**	۰/۰۹۹ns	٦/۱۳۱ns
خطا	۱٦					
ضریب تغییرات(٪)		٤۸/۹		۵۳/۰	٤۲/۸	۷۳/۵

* و** و *** به ترتیب نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و۰/۰۰۱ می‌باشد. ns نشان دهنده‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

با توجه به نتایج حاصل از شکل ٤-الف در شرایط عدم کاربرد سیلیکون، محتوای کربوهیدرات محلول در حضور آرسنیک و کادمیوم نسبت به تیمار عدم حضور فلز افزایش داشته و این افزایش معنی‌دار

بوده است. در حضور کادمیوم با افزایش غلظت سیلیکون در سطح ۱ میلی مولار، محتوای کربوهیدرات محلول افزایش یافته به طوری که بالاترین محتوای کربوهیدرات محلول گیاه با میانگین ۵/۱ میلی گرم بر گرم وزن خشک در تیمار ٦۰۰ میکرومولار کادمیوم به همراه ۱ میلی مولار سیلیکون مشاهده شد. محتوای کربوهیدرات در غلظت ۲ میلی‌مولار سیلیکون نسبت به تیمار قبل ۳۲/۵ درصد کاهش نشان داد. محتوای پرولین در بخش هوایی گیاه کلزا با اعمال تیمار ٦۰۰ میکرومولار آرسنیک و کادمیوم، افزایش یافت، اگرچه افزایش پرولین تحت تنش کادمیوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از آرسنیک بود. همچنین در حضور کادمیوم با افزایش غلظت سیلیکون، محتوای پرولین گیاه نسبت به شرایط عدم کاربرد سیلیکون به طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوریکه بیشترین محتوای پرولین در تیمار ۰/۵ میلی‌مولار سیلیکون و ٦۰۰ میکرومولار کادمیوم حاصل شد (شکل ٤ ب).

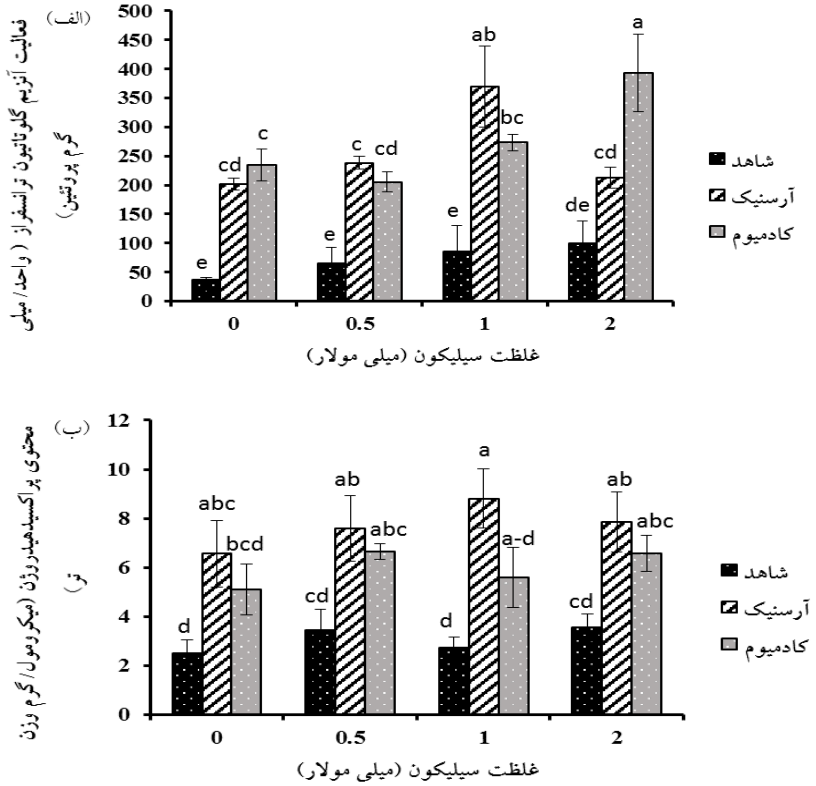


شکل ٤: اثر غلظت‌های مختلف سیلیکون (صفر، ۰/۵، ۱ و۲ میلی مولار)، ٦۰۰ میکرومولار آرسنیک و ٦۰۰ میکرومولار کادمیوم بر محتوای کربوهیدرات محلول (الف) و پرولین (ب) بخش هوایی گیاه کلزا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار نبودن تفاوت‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

اثر سیلیکون در حضور آرسنیک و کادمیوم بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز و محتوای پراکسید هیدروژن بیشترین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز متعلق به تیمار ۲ میلی مولار سیلیکون و ٦۰۰ میکرومولار کادمیوم بوده است (شکل۵-الف). میزان فعالیت آنزیم در حضور

آرسنیک با افزایش سطوح سیلیکون تا سطح ۱ میلی مولار افزایش پیدا کرد، درحالیکه فعالیت آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز در غلظت ۲ میلی مولار سیلیکون به میزان ٤٢/٣ درصد نسبت به تیمار قبل کاهش یافت. همچنین در تیمار صفر سیلیکون، درحضور آرسنیک و کادمیوم نسبت به تیمار عدم حضور فلز، افزایش در میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز مشاهده شد.

اعمال تیمارهای آرسنیک و کادمیوم باعث افزایش معنی‌دار پراکسید هیدروژن در گیاه کلزا شد. همزمان با افزایش سطوح سیلیکون، محتوای پراکسید هیدروژن در بخش هوایی گیاه افزایش پیدا کرد (شکل۵-ب). بیشترین محتوای پراکسید هیدروژن در تیمار ٦٠٠ میکرومولار آرسنیک و ۲ میلی‌مولار سیلیکون مشاهده شد که میزان پراکسید هیدروژن در حضور تنش آرسنیک نسبت به کادمیوم در گیاه بیشتر بود.



شکل۵: اثر غلظت‌های مختلف سیلیکون (صفر، ۰/۵، ۱ و۲ میلی مولار)، ٦٠٠ میکرومولار آرسنیک و ٦٠٠ میکرومولار کادمیوم بر محتوای گلوتاتیون ترانسفراز (الف) و پراکسید هیدروژن (ب) گیاه کلزا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار نبودن تفاوت‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

بحث

رشد گیاهان در محیط‌های آلوده به فلزات سنگین منجر به تغییر در مسیرهای متابولیسمی، تنش اکسیداتیو، و در نتیجه کاهش رشد در گیاهان می‌گردد (Imtiaz et al., 2016). مطالعات نشان داده‌اند که سیلیکون نقش اساسی را در بهبود مقاومت به تنش در گیاهان از طریق تحریک آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، کلاته کردن، رسوب و تشکیل کمپلس با فلزات، کده‌بندی، تغییرات ساختاری در گیاهان و تنظیم ژن‌های انتقال دهنده فلزات ایفا می‌کند (Imtiaz et al., 2016). سیلیکون می‌تواند از طریق بهبود ظرفیت آنتی‌کسیدان، سمیت کادمیوم را در گیاهان کاهش دهد (Azam et al., 2021).

در این تحقیق در مقایسه با گیاه شاهد، پارامترهای رشد شامل طول و وزن تر بخش هوایی در حضور آرسنیک و کادمیوم روند کاهشی داشتند. فلزات سنگین به‌دلیل واکنش‌پذیری و توان الکترون‌خواهی بالایی که دارند، موجب ایجاد اختلال در ساختار پروتئین، چربی، تیلاکوئید و ساختار سلولی می‌شوند که به مهار رشد گیاه منتهی می‌شود (Azam et al., 2021). از دلایل موجود برای کاهش زیست توده گیاه تحت تنش فلزات سنگین و شبه فلزاتی مانند آرسنیک می‌توان به کاهش آب سلول، کاهش کشسانی دیواره‌ی سلولی و کاهش جذب عناصرغذایی مانند کلسیم، آهن، پتاسیم و منیزیم اشاره کرد (Pandey et al., 2016). تنش اکسیداتیو و تجمع بیش از حد H_2O_2 نیز سبب عدم تعادل ردوکس سلولی و اختلال در سیگنالینگ فرآیندهایی می‌شود که در نهایت منجربه مهار رشد و آسیب سلولی خواهد شد (Liu et al., 2013; Azam et al., 2021). کاربرد سیلیکون تحت تنش فلزات از ساختار گیاه محافظت می‌کند که ممکن است به دلیل جداسازی و یا کلاته شدن فلزات سنگین در بخش‌های گوناگون گیاه باشد، در نتیجه غلظت فلز سنگین به‌صورت یون آزاد کاهش پیدا کرده و زیست توده و رشد گیاه افزایش پیدا می‌کند (Adrees et al., 2015). افزایش طول و وزن تر بخش هوایی در حضور آرسنیک و کادمیوم همسو با افزایش غلظت سیلیکون در گیاه کلزا می‌تواند به دلیل تأثیر مثبت سیلیکون بر میزان فتوسنتز از طریق افزایش کلروفیل‌ها و متعاقب آن افزایش در رشد و عملکرد این گیاه باشد. افزایش در وزن تر گیاه *Brassicajuncea* L. تحت تنش کروم (Ashfaque et al., 2017) و افزایش وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها در *Isatis cappadocica* تحت تنش کادمیوم (Azam et al., 2021) با کاربرد سیلیکون گزارش شده است. نتایج این پژوهش نشان داد که در شرایط عدم حضور سیلیکون، محتوای کلروفیل در گیاه کلزا در حضور تنش آرسنیک و کادمیوم کاهش پیدا کرده است. فلزات سنگین به وسیله مهار آنزیم‌های گاما آمینو لوالونیک اسید دهیدوژناز و پروتوکلروفیلد ردوکتاز سبب کاهش بیوسنتز کلروفیل می‌شوند (Azam et al., 2021). از علل دیگر کاهش کلروفیل در شرایط تنش فلزات سنگین، تغییر مسیر متابولیسمی به سمت تولید پرولین است، زیرا گلوتامات به عنوان پیش‌ساز مشترک سنتز کلروفیل و پرولین در مسیر بیوسنتز پرولین به کار می رود (Souri et al., 2021). در نتیجه کاهش محتوای کلروفیل در گیاه کلزا می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های ذکر شده باشد. از سوی دیگر افزایش میزان پرولین که در شرایط عدم حضور سیلیکون و در حضور آرسنیک و کادمیوم در این گیاه مشاهده می‌شود، تأییدی بر تغییر مسیر گلوتامات به سمت تولید بیشتر پرولین است. همچنین مشخص شده است که تنش فلزات سنگین مانند کادمیوم و آرسنیک موجب افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و تجزیه کلروفیل در گیاهان تحت تنش می‌شود (Saleem et al., 2022). در تحقیق حاضر

افزایش محتوای کلروفیل همزمان با کاربرد سیلیکون در شرایط تنش آرسنیک و کادمیوم، می‌تواند به دلیل تأثیر مثبت سیلیکون بر محتوای کلروفیل از طریق رسوب آن در پهنک برگ، تأثیر بر ساختار کلروپلاست و نیز افزایش مساحت سطح برگ باشد که سبب ارتقای توانایی گیاه در استفاده از نور می‌شود. همچنین سیلیکون از طریق کاهش انباشت آرسنیک و کادمیوم در بخش هوایی گیاه کلزا و تحریک سیستم دفاع آنتی اکسیدانی باعث کاهش اثرات سمی این فلزات سنگین در تشکیل کلوفیل می‌شود و از تجزیه کلروفیل جلوگیری می‌کند (Azam et al., 2021). همچنین بر اساس مطالعات قبلی، کاربرد سیلیکون محتوای کلروفیل گیاهان برنج، لوبیا، و جو تحت تنش آلومینیوم، کروم و آرسنیک (Souri et al., 2021) و گیاه برنج تحت تنش کادمیوم را افزایش داده است (Huang et al., 2018).

مهار انباشت رنگیزه‌های فتوسنتزی در پاسخ به تنش فلز سنگین ممکن است نتیجه پراکسیداسیون غشاء کلروپلاست از طریق افزایش میزان تولید ROS از جمله H_2O_2 باشد (Souri et al., 2020)، که این مشاهدات در توافق با نتایج پژوهش ما در ارتباط با افزایش میزان H_2O_2 و به دنبال آن کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش آرسنیک و کادمیوم (بدون حضور سیلیکون) نسبت به تیمار شاهد (عدم حضور سیلیکون، آرسنیک و کادمیوم) در گیاه کلزا می‌باشد. همچنین Ghori et al., 2019 گزارش کرده‌اند که غلظت بالای کادمیوم منجربه کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه *Alternanthera bettzickiana* شده است، که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. در پژوهش حاضر، در شرایط عدم کاربرد سیلیکون افزایش میزان انباشت کادمیوم در گیاه کلزا بسیار بیشتر از افزایش میزان انباشت آرسنیک نسبت به تیمار شاهد بود. یکی از دلایل انباشت بیشتر کادمیوم نسبت به آرسنیک، می‌تواند به تحرک بیشتر فلز کادمیوم در خاک برگردد که در صورت حضور در محیط ریشه به راحتی جذب گیاه شده و به اندام‌های هوایی گیاه انتقال می‌یابد. لازم به ذکر است که میزان انباشت کادمیوم به گونه گیاهی نیز بستگی دارد، به نحوی که مطالعات نشان داده‌اند گیاهان خانواده شب‌بو توانایی بالایی در انباشت کادمیوم دارند (Babula et al., 2009). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که به‌کارگیری سیلیکون در محیط رشد گیاه کلزا که تحت تنش کادمیوم قرار داشت، منجربه کاهش انباشت کادمیوم در مقایسه با شرایط عدم حضور سیلیکون شد. مشخص شده است که اثر سیلیکون بر انباشت کادمیوم نیز در گیاهان مختلف متفاوت است و مرتبط با رقم، گونه خاص و تفاوت در غلظت هر دو عنصر در محلول غذایی گیاهان می‌باشد (Vaculík et al., 2009). به‌نظر می‌رسد که نقش سیلیکون در افزایش مقاومت در برابر تنش فلزات سنگین، به رسوب آن در دیواره سلولی ریشه‌ها، برگ‌ها و ساقه‌ها مربوط می‌شود که انتقال فلزات سنگین مانند کادمیوم در بدنه گیاه را با اختلال مواجه می‌کند. به طور خاص، رسوب آن در ریشه‌ها موجب کاهش جذب و انتقال فلزات سنگین می‌شود (Ma and Yamaji, 2008). همچنین سیلیکون می‌تواند در دیواره سلولی از طریق ایجاد کمپلکس با لیگنین، تجمع پیدا کند و اتصال فلز سنگین و انباشت آن را در آپوپلاست افزایش دهد و در نهایت انتقال یون‌ها را از ریشه‌ها به اندام‌های هوایی کاهش دهد (Emamverdian et al., 2018). همسو با این تحقیق، کاهش غلظت کادمیوم در بخش هوایی گیاهان گندم (Wu et al., 2019) و کاهش غلظت آرسنیک در بخش هوایی گیاهان برنج با کاربرد سیلیکون (Guntzer et al., 2012) مشاهده شده است.

نتایج این پژوهش نشان داد که در شرایط تنش کادمیوم با افزایش غلظت سیلیکون (به جز غلظت ۱

میلی مولار) محتوای پرولین گیاه افزایش پیدا کرده است. تجمع پرولین در شرایط تنش، ممکن است به دلیل کاهش اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئیناز باشد، پرولین نقش محافظت کنندگی آنزیم‌های سیتوسولی (حفاظت از آنزیم کربوکسیلاز) و ساختار سلولی را برعهده دارد، از این‌رو در شرایط تنش در سلول انباشته می‌شود (Akbari Mogadam, 2012). افزایش محتوای پرولین در نشاءهای برنج تحت تیمار آرسنیک نیز گزارش شده است (Choudhury et al., 2011). نقش پرولین در هنگام تنش جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها، جلوگیری از تجزیه ماکرومولکول‌ها، دخالت در حفظ استحکام دیواره‌ی سلولی و پاکسازی رادیکال های آزاد تولیدی تحت تنش در گیاه است. به‌نظر می‌رسد سیلیکون با افزایش پرولین این تأثیر را شدت می‌بخشد و به افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش کمک می‌کند (Azam et al., 2021). سایر مطالعات نیز نشان داده است که تیمار گیاه با سیلیکون ممکن است به طور مستقیم و یا غیر مستقیم باعث القای ژن‌های مسیر بیوسنتز پرولین شده و یا آن که فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتز آنها را افزایش داده باشد (Kauss et al., 2003). از طرفی دلیل احتمالی کاهش میزان پرولین در غلظت ۱ میلی‌مولار سیلیکون احتمالا به‌دلیل سنتز آنزیم‌هایی مانند گلوتاتیون ترانسفراز می‌باشد که از گلوتاتیون به عنوان سوبسترا استفاده می‌کنند و برای سنتز گلوتاتیون از گلوتامات استفاده می‌شود، بنابراین تشکیل پرولین از طریق مسیر گلوتامات کاهش می‌یابد که افزایش میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز در غلظت ۱ میلی مولار سیلیکون در حضور کادمیوم در گیاه کلزا در تأیید این نتایج بود. در مطالعه‌ی دیگری سیلیکون سمیت کادمیوم را با افزایش تجمع پرولین در یونجه کاهش داد (Kabir et al., 2016) که با نتایج به دست آمده از این تحقیق همخوانی دارد.

همچنین نتایج این پژوهش افزایش قندهای محلول در اثر تنش آرسنیک و کادمیوم در گیاه کلزا را نشان داد. گیاهان تحت تنش پتانسیل اسمزی را از طریق تجمع آمینواسیدها، پرولین، پروتئین و قند محلول کاهش می‌دهند. این اسمولیت‌ها فشار اسمزی سیتوپلاسم را افزایش داده و جریان آب را در اندام‌ها و بافت‌های گیاهی بالا می‌برند (Ghafiyehsanj et al., 2013)، در نتیجه افزایش محتوای قندهای محلول مکانیسمی برای حفظ شرایط اسمزی مطلوب و حفاظت از غشاء و بیومولکول‌ها در مقابل تنش اکسیداتیو فراهم می‌کنند (Choudhury et al., 2010). علاوه بر این انباشت قندهای محلول در شرایط تنش، نقش‌های فیزیولوژیک مهمی را از نظر تأمین انرژی و جلوگیری از مرگ حتمی سلول ایفا می‌کند (Souri et al., 2020). همچنین افزایش اسمولیت‌ها بخصوص در سلول‌های گیاهان تحت تنش فلزات سنگین به انتقال و انباشت این ترکیبات در واکوئل منتهی می‌شود که به‌عنوان کلاته کننده فلز سنگین در این اندامک عمل می‌کنند و تحمل گیاه در برابر استرس را افزایش می‌دهند (Choudhury et al., 2010; Azam et al., 2021). سیلیکون در شرایط تنش فلزات سنگین، فرآیندهای متابولیک و متابولیسم را در حد مطلوب نگه داشته و با افزایش کربوهیدرات، گیاهان را از تخریب اکسیداتیو محافظت کرده و سبب بقای ساختار پروتئین نیز خواهد شد. همچنین اثر تقویت سیلیکون بر بیوسنتز کربوهیدرات، به ویژه قندهای محلول، به عنوان اصل اسمولیت سازگار در برخی از گیاهانی که تحت شرایط تنش قرار دارند، در نظر گرفته می‌شود (Hassanein et al., 2012). این دلایل می‌تواند افزایش محتوای قندهای محلول در تیمار کادمیوم و در غلظت ۱ میلی مولار سیلیکون در گیاه

کلزا را توجیه کند. در تایید نتایج حاصل از این پژوهش، کاربرد سیلیکون سبب افزایش محتوای قندهای محلول در باقلای سبز (*Vicia faba* L.) (Abu-Muriefah, 2015) و افزایش محتوای قندهای محلول تحت تنش کادمیوم در برنج نیز (Verma and Dubey, 2001) شده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که در نبود سیلیکون تنش آرسنیک و کادمیوم توانسته میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس- ترانسفراز را افزایش دهد. آنزیم گلوتاتیون اس - ترانسفراز می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و همچنین تخریب اکسیداتیو DNA را از طریق ترکیب آنها با گلوتاتیون حذف کند و می‌تواند سلول‌ها / ارگانیسم‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین محافظت کند (Dixit et al., 2011). افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس - ترانسفراز در برنج تحت تنش کادمیوم مشاهده شد (Zhao et al., 2009) که همسو با نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشد. در این مطالعه بیشترین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس - ترانسفراز در تیمار ۲ میلی‌مولار سیلیکون و ۶۰۰ میکرومولار کادمیوم مشاهده شد. تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در حضور سیلیکون ممکن است ناشی از تفاوت در گونه‌های گیاهی، سن، مدت زمان تیمار و شرایط آزمایشگاهی باشد. تحریک فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی مانند گلوتاتیون اس - ترانسفراز یکی از مکانیسم‌های مهم سیلیکون برای کاهش اثرات تنش فلزات سنگین در گیاهان است که از این طریق می تواند به طور موثری از سلول‌های گیاهی در برابر تنش اکسیداتیو محافظت کند و رادیکال‌های آزاد ایجاد شده را پاکسازی کند (Emamverdian et al., 2018; Hasanuzzaman et al., 2017). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بادام زمینی تحت سمیت کادمیوم (Shi et al., 2010) و کاهش آنزیم‌های آنتی اکسیدان در رقم حساس به منگنز در گیاه برنج (Li et al., 2012) با کاربرد سیلیکون گزارش شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی دارد. در این پژوهش در حضور تنش آرسنیک و کادمیوم افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در گیاه کلزا مشاهده شد. تنش فلزات سنگین به علت افزایش تولید انواع ROS از جمله H_2O_2 منجربه تنش اکسیداتیو در گیاهان می گردد (Bharwana et al., 2013; Farooq et al., 2013). برخی از محقیقین معتقدند که H_2O_2 با ایجاد تحمل در غلظت کم در سازگاری به تنش کمک می‌کند، در حالی که در غلظت بالا سبب آسیب سلولی و منجربه مرگ سلول شود (Stone and Yang, 2006). افزایش محتوای H_2O_2 در حضور سیلیکون در پژوهش حاضر می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی القاء شده توسط سیلیکون و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باشد.

نتیجه گیری نهایی

به طور کلی در این تحقیق سمیت کادمیوم و آرسنیک (در غلظت ۶۰۰ میکرومولار) منجر به کاهش پارامتر های رشد و محتوای کلروفیل کل در گیاه کلزا گردید. از سوی دیگر کاربرد سیلیکون با کاهش انباشت کادمیوم، افزایش ترکیبات محافظ مانند پرولین، کربوهیدرات و فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس - ترانسفراز، توانست سمیت فلزات سنگین به ویژه کادمیوم را کاهش داده و در نهایت منجربه افزایش مقاومت گیاه کلزا در مقابل تنش کادمیوم گردید.

References

Abu-Muriefah, S. S. (2015). Effects of silicon on membrane characteristics, photosynthetic pigments, antioxidative ability, and mineral element contents of faba bean (*Vicia faba* L.) plants grown under Cd and Pb stress. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. 2(6):1-17.

Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Zia-ur-Rehman, M., Ibrahim, M., Abbas, F. and Irshad, M. K. (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 119: 186-197.

Akbari Mogadam, R. (2012). Dry matter partitioning and wheat varieties morphological reaction under drought conditions at different growth stages. PhD. Thesis, Zabul Agriculture University, Zabul, Iran.

Ali, H., Khan, E. and Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. Chemosphere. 91(7): 869-881.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology. 24(1): 1-15.

Ashfaque, F., Inam, A., Iqbal, S. and Sahay, S. (2017). Response of silicon on metal accumulation, photosynthetic inhibition and oxidative stress in chromium-induced mustard (*Brassica juncea* L.). South African Journal of Botany. 111: 153-160.

Azam, S. K., Karimi, N., Souri, Z. and Vaculík, M. (2021). Multiple effects of silicon on alleviation of arsenic and cadmium toxicity in hyperaccumulator *Isatis cappadocica* Desv. Plant Physiology and Biochemistry. 168:177-187.

Babula, P., Ryant, P., Adam, V., Zehnalek, J., Havel, L. and Kizek, R. (2009). The role of sulphur in cadmium (II) ions detoxification demonstrated in in vitro model: *Dionaea muscipula* Ell. Environmental Chemistry Letters. 7: 353-361.

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

Bharwana, S. A., Ali, S., Farooq, M. A., Iqbal, N., Abbas, F. and Ahmad, M. S. A. (2013). Alleviation of lead toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton. Journal of Bioremediation & Biodegradation. 4(4): 1-11.

Boorboori, M. R. (2023). Investigating the role of silicon in reducing the risk of arsenic, cadmium, drought and salinity stresses in wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Crop Science and Biotechnology. 1-18.

Che, J., Yamaji, N., Shao, J. F., Ma, J. F. and Shen, R. F. (2016). Silicon decreases both uptake and root-to-shoot translocation of manganese in rice. Journal of Experimental Botany. 67(5): 1535-1544.

Choudhury, B., Chowdhury, S. and Biswas, A. K. (2011). Regulation of growth and metabolism in rice (*Oryza sativa* L.) by arsenic and its possible reversal by phosphate. Journal of Plant Interactions. 6(1): 15-24

Choudhury, B., Mitra, S. and Biswas, A. K. (2010). Regulation of sugar metabolism in rice seedling under arsenate toxicity and its improvement by phosphate. Physiology and Molecular Biology of Plants. 16: 59-68.

Dixit, P., Mukherjee, P. K., Ramachandran, V. and Eapen, S. (2011). Glutathione transferase from *Trichoderma virens* enhances cadmium tolerance without enhancing its accumulation in transgenic *Nicotiana tabacum*. Plos One. 6(1): 1-15.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T. and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28(3): 350-356

Emamverdian, A., Ding, Y., Xie, Y. and Sangari, S. (2018). Silicon mechanisms to ameliorate heavy metal stress in plants. BioMed Research International. 2018: 1-10.

Farooq, M. A., Ali, S., Hameed, A., Ishaque, W., Mahmood, K. and Iqbal, Z. (2013). Alleviation of cadmium toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes; suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton. Ecotoxicology and Environmental Safety. 96: 242-249.

Farooq, M. A., Detterbeck, A., Clemens, S. and Dietz, K. J. (2016). Silicon-induced reversibility of cadmium toxicity in rice. Journal of Experimental Botany. 67(11): 3573-3585.

Feng, J., Shi, Q., Wang, X., Wei, M., Yang, F. and Xu, H. (2010). Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus* L. Scientia Horticulturae. 123(4): 521-530.

Ghafiyehsanj, E., Dilmaghani, K. and Hekmat Shoar, H. (2013). The effects of salicylic acid on some of biochemical characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. Annals of Biological Research. 4(6): 242-248.

Ghori, N. H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V. and Ozturk, M. (2019). Heavy metal stress and responses in plants. International Journal of Environmental Science and Technology. 16: 1807-1828.

Guntzer, F., Keller, C. and Meunier, J. D. (2012). Benefits of plant silicon for crops: a review. Agronomy for Sustainable Development. 32: 201-213.

Hassanein, R. A., Hashem, H. A. and Khalil, R. R. (2012). Stigmasterol treatment increases salt stress tolerance of faba bean plants by enhancing antioxidant systems. Plant Osmics. 5(5): 476-485.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Anee, T. I. and Fujita, M. (2017). Exogenous silicon attenuates cadmium-induced oxidative stress in *Brassica napus* L. by modulating AsA-GSH pathway and glyoxalase system. Frontiers in Plant Science. 8:1-9.

Huang, F., Wen, X. H., Cai, Y. X. and Cai, K. Z. (2018). Silicon-mediated enhancement of heavy metal tolerance in rice at different growth stages. International Journal of Environmental Research and Public Health. 15 (10):1-16.

Imtiaz, M., Rizwan, M. S., Mushtaq, M. A., Ashraf, M., Shahzad, S. M., Yousaf, B. and Tu, S. (2016). Silicon occurrence, uptake, transport and mechanisms of heavy metals, minerals and salinity enhanced tolerance in plants with future prospects: a review. Journal of Environmental Management. 183: 521-529.

Kabir, A. H., Hossain, M. M., Khatun, M. A., Mandal, A. and Haider, S. A. (2016). Role of silicon counteracting cadmium toxicity in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Frontiers in Plant Science. 7:1-12.

Karimi, N., Ghaderian, S. M., Raab, A., Feldmann, J. and Meharg, A. A. (2009). An arsenic accumulating, hyper-tolerant brassica, *Isatis cappadocica* Desv. New Phytologist. 184: 41–47.

Karimi, N. and Souri, Z. (2015). Effect of phosphorus on arsenic accumulation and detoxification in arsenic hyperaccumulator, *Isatis cappadocica*. Journal of Plant Growth Regulation. 34: 88-95.

Kauss, H., Seehaus, K., Franke, R., Gilbert, S., Dietrich, R. A. and Kröger, N. (2003). Silica deposition by a strongly cationic proline rich protein from systemically resistant cucumber plants. The Plant Journal. 33(1): 87-95.

Khan, E., Panthri, M., Pandey, C., Sahay, S. and Gupta, M. (2023). Silicon modulates expression of PIN genes and genotoxicity during arsenic stress in rice (*Oryza sativa*). Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 23: 1660–1677.

Li, L., Zheng, C., Fu, Y., Wu, D., Yang, X. and Shen, H. (2012). Silicate-mediated alleviation of Pb toxicity in banana grown in Pb-contaminated soil. Biological Trace Element Research. 145: 101–108.

Liu, J., Zhang, H., Zhang, Y. and Chai, T. (2013). Silicon attenuates cadmium toxicity in *Solanu nigrum* L. by reducing cadmium uptake and oxidative stress. Plant Physiology and Biochemistry. 68: 1-7.

Ma, J. F. and Yamaji, N. (2008). Functions and transport of silicon in plants. Cellular and Molecular life Sciences. 65: 3049-3057.

Mateos-Naranjo, E., Galle, A., Florez-Sarasa, I., Perdomo, J. A., Galmes, J., Ribas-Carbo, M. and Flexas, J. (2015.) Assessment of the role of silicon in the Cu-tolerance of the C4 grass *Spartina densiflora*. Journal of Plant Physiology. 178: 74–83.

Meharg, A. A. and Jardine, L. (2003). Arsenite transport in to paddy rice (*Oryza sativa*) roots. New Phytologist. 157(1): 39-44.

Pandey, C., Khan, E., Panthri, M., Tripathi, R. D. and Gupta, M. (2016). Impact of silicon on Indian mustard (*Brassica juncea* L.) root traits by regulating growth parameters. cellular antioxidants and stress modulators under arsenic stress. Plant Physiology and Biochemistry. 104: 216-225.

Saleem, M. H., Mfarrej, M. F. B., Alatawi, A., Mumtaz, S., Imran, M., Ashraf, M. A., Rizwan, M., Usman, K., Ahmad, P. and Ali, S. (2023) Silicon enhances morpho–physio–biochemical responses in arsenic stressed spinach (*Spinacia oleracea* L.) by minimizing its uptake. Journal of Plant Growth Regulation. 42(3): 2053-2072.

Sanglard, L., Martins, S. C., Detmann, K. C., Silva, P. E., Lavinsky, A. O., Silva, M. M., Detmann, E., Araujo, W. L. and DaMatta, F. M. (2014). Silicon nutrition alleviates the negative impacts of arsenic on the photosynthetic apparatus of rice leaves: an analysis of the key limitations of photosynthesis. Physiologia Plantarum. 152(2): 355-366

Sergiev, I., Alexieva, V. and Karanov, E. (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences. 51(3): 121-124.

Shah, A., Niaz, A., Ullah, N., Rehman, A., Akhlaq, M., Zakir, M. and Suleman Khan, M. (2013). Comparative study of heavy metals in soil and selected medicinal plants. Journal of Chemistry. 2013:1-5.

Shao, J. F, Che, J., Yamaji, N., Shen, R. F. And Ma, J. F. (2017). Silicon reduces cadmium accumulation by suppressing expression of transporter genes involved in cadmium uptake and translocation in rice. Journal of Experimental Botany. 68(20):5641-5651.

Shi, G., Cai, Q., Liu, C. and Wu, L. (2010). Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes. Plant Growth Regulation. 61: 45-52.

Souri, Z., Karimi, N., Farooq, M. A. and Sandalio, L, M. (2020). Nitric oxide improves tolerance to arsenic stress in *Isatis cappadocica* Desv. Shoots by enhancing antioxidant defenses. Chemosphere. 239: 124523.

Souri, Z., Karimi, N. and Sandalio, L. M. (2017). Arsenic hyperaccumulation strategies: an overview. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 5:1-8.

Souri, Z., Khanna, K., Karimi, N. and Ahmad, P. (2021). Silicon and plants: current knowledge and future prospects. Journal of Plant Growth Regulation. 40: 906-925.

Stone, J. R. and Yang, S. (2006). Hydrogen peroxide: a signaling messenger. Antioxidants & Redox Signaling. 8(3-4): 243-270.

Tripathi, P., Tripathi, R. D., Pratap, S. R., Dwivedi, S., Goutam, D., Shri, M., Trivedi, P. K. and Chakrabarty, D. (2013). Silicon mediates arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) through lowering of arsenic uptake and improved antioxidant defence system. Ecological Engineering. 52: 96–103.

Vaculík, M., Lux, A., Luxová, M., Tanimoto, E. and Lichtscheidl, I. (2009). Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants. Environmental and Experimental Botany. 67(1): 52-58.

Vatehova, Z., Kollarová, K., Zelko, I., Richterova-Kucerova, D., Bujdos, M. and Liskova, D. (2012). Interaction of silicon and cadmium in *Brassica juncea* and *Brassica napus*. Biologia. 67: 498-504.

Verma, S. and Dubey, R. S. (2001). Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biologia Plantarum. 44: 117-123.

Wu, J., Mock, H. P., Giehl, R. F., Pitann, B. and Mühling, K. H. (2019). Silicon decreases cadmium concentrations by modulating root endodermal suberin development in wheat plants. Journal of Hazardous Materials. 364: 581-590.

Zhao, F. Y., Liu, W. and Zhang, S. Y. (2009). Different responses of plant growth and antioxidant system to combination of cadmium and heat stress in transgenic and non-transgenic rice. Journal of Integrative Plant Biology. 51(10): 942-950.