

تأثیر کمپوست چای و پتاسیم هیومات بر مقاومت گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) به سمیت سرب

نجمه افتخار^۱، سیفاله فلاح^{۲*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه شهرکرد

۲. عضو هیئت علمی دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۲۶

چکیده

سرب یک عنصر غیرضروری است که علاوه بر سمیت زیادی که برای انسان دارد اثرات سوئی نیز بر گیاهان می‌گذارد. به منظور بررسی اثر چای کمپوست و پتاسیم هیومات بر تحمل گیاهچه‌های آفتابگردان به غلظت‌های سمی سرب، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل شاهد، پتاسیم هیومات و چای کمپوست و چهار غلظت سرب (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک) بودند. غلظت چای کمپوست (۱:۵) و پتاسیم هیومات ۳۰۰ میلی‌مول بر لیتر بود. نتایج نشان داد که به‌طور کلی وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه، وزن خشک برگ، کلروفیل a و کلروفیل b در پاسخ به افزایش غلظت سرب در خاک کاهش و میزان کارتنوئید، پرولین و نشت الکترولیتی افزایش نشان دادند. پرایمینگ بذر با پتاسیم هیومات و چای کمپوست اثر منفی آلودگی خاک با سرب بر پارامترهای مذکور را تعدیل می‌کند. تحت تنش سرب، پتاسیم هیومات باعث افزایش وزن خشک ریشه به میزان ۷۲۳ میلی‌گرم، وزن خشک برگ به میزان ۷۲ میلی‌گرم، کلروفیل a، کلروفیل b، غلظت سرب ریشه و اندام هوایی شد؛ اما چای کمپوست موجب افزایش پرولین (به میزان ۲۷ میکرومول بر گرم) و کارتنوئید (به میزان ۰/۷ میلی‌مول بر گرم وزن تازه برگ) و کاهش نشت الکترولیتی (به میزان ۵/۴۵ درصد) نسبت به تیمار شاهد گردید. به‌طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که کاربرد پتاسیم هیومات و چای کمپوست با افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و پرولین و کاهش میزان نشت الکترولیتی بردباری آفتابگردان را در خاک‌های آلوده به سرب افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: تنش فلز سنگین، پرولین، کارتنوئید، نشت الکترولیتی

مقدمه

غشا می‌گردند (Davey et al., 2005). سرب یک عنصر غیرضروری 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 بر بذر در حضور سرب گزارش شده است. سرب مانع جوانه‌زنی، طویل شدن ریشه‌چه، توسعه گیاهچه، ایجاد اختلال در جذب عناصر ضروری مثل منیزیم و آهن، کاهش میزان کربن دی‌اکسید به دلیل بسته شدن روزنه‌ها می‌شود. فلز سرب موجب اکسید

فلزات سنگین در اکوسیستم‌های کشاورزی سبب ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Groppa et al., 2007). فلزات سنگین با ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن^۱ که محصول متابولیسم هوازی‌اند و شامل ترکیباتی مانند سوپراکسیدها، رادیکال اکسیژن، پراکسیدها و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشند در طی واکنش‌های انتقال الکترون در میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها و پروکسی زوم‌ها تولید می‌گردند، در صورت عدم تنظیم غلظت آن‌ها سبب آسیب به پروتئین‌ها، DNA و

* Reactive oxygen species - 1

پیش‌اندازی یا پرایمینگ بذر یکی از روش‌های مهم توانمندسازی بذر، قبل از کاشت است که در آن بذر، به‌طور محدود و کنترل‌شده داخل آب یا محلول اسمزی قرار می‌گیرند و تا مرحله‌ای پیش می‌رود که بذر خیس‌خورده، 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 آنتی‌اکسیدانی شده و این آنزیم‌ها باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید در طی جوانه‌زنی می‌شوند (Farooq et al., 2007). اشرفی و رزمجو (Ashrafi and Razmjoo, 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.

برای پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین و دیگر آلاینده‌ها، گیاه‌پالایی به‌عنوان روشی کم‌هزینه، دوستدار محیط‌زیست 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 زیست‌توده بالا، گیاهی مناسب جهت جذب فلزات سنگین از خاک مناطقی که شدیداً 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 پیش‌بینی می‌شود و در نتیجه موجب کاهش کارایی فناوری گیاه‌پالایی می‌شود. یکی از روش‌های غلبه بر مشکل کاهش جوانه‌زنی و شاخص‌های آن، استفاده از پیش‌تیمار بذرها قبل از جوانه‌زدن است.

میزان آلودگی مناطق مختلف به سرب متفاوت است اما مبنای آلودگی خاک‌ها به سرب، وجود بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم 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 یک راه‌حل ممکن پیشنهادی است؛ اما با توجه به سمیت بالا در این مناطق احتمال استقرار ضعیف گیاهان کاشته شده پیش‌بینی

شدن ریشه‌ها و در کل باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز‌کننده کربوهیدرات مثل آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز، اسید انورتاز و اسید فسفاتاز و همچنین تغییرات ژنومی DNA می‌شود (Kumar and Shyamasree, 2013). فرایندهای فتوسنتزی گیاه در اثر وجود سرب در محیط به‌شدت 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 است (Sharma and Dubey, 2005). قربانعلی و همکاران (Ghorbanali et al., 2006) پیوند قوی سرب با N-پروتئین را دلیل کاهش سنتز کلروفیل می‌دانند. در آزمایش کریمی و همکاران (Karimi et al., 2013) غلظت‌های ۲۰۰ تا ۱۵۰۰ میکرومولار سرب باعث ایجاد یک روند کاهشی تدریجی در مقادیر انواع کلروفیل شد به‌طوری‌که کمترین میزان آن در گیاهان تحت تیمار ۱۵۰۰ میکرومولار مشاهده شد. 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 فعال‌سازی سیستم تدافعی آنتی‌اکسیدانی مربوط می‌شود (Sharma and Dubey, 2005). 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 دنا توره شدن و تثبیت سنتز پروتئین، می‌افزاید (Verbruggen and Hermans, 2008). گونه‌های فعال اکسیژن با القای پراکسیداسیون لیپیدی موجب آسیب غشائی می‌شوند که اختلال در فرآیند سلولی و تجزیه DNA و نشت الکتروولیت (Krystofova et al., 2009) را به همراه دارد. 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 که نشان‌دهنده غشاء آسیب‌دیده و یا ناقص است (Agrawal and Mishra, 2009).

می‌شود که این نکته موجب کاهش کارایی گیاه‌پالایی می‌گردد. 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 گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۴-۱۳۹۵ انجام شد. بذر آفتابگردان (رقم رکورد) از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. به منظور بررسی اثر چای کمپوست (جدول ۲) و پتاسیم هیومات بر تحمل گیاهچه‌های آفتابگردان به غلظت‌های سمی سرب آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل شاهد، پتاسیم هیومات و چای کمپوست و چهار غلظت سرب (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک) بودند. غلظت چای کمپوست (۱:۵) و پتاسیم هیومات ۳۰۰ میلی‌مول بر لیتر بود. از بذر بدون تیمار با سرب و پرایمینگ نیز به عنوان 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 باهم مخلوط شده بود توزین و به گلدان‌ها انتقال داده شد (جدول ۱). در کف گلدان‌ها یک عدد زیرگلدانی جهت جلوگیری از انتقال و خروج خاک از کف گلدان‌ها قرار داده شد. سرب مصرفی از منبع نترات سرب $Pb(NO_3)_2$ بود. برای تهیه خاک‌های آلوده به سرب با غلظت‌های ذکر شده ابتدا مقادیر مورد نیاز از فلز سرب توسط ترازوی ۰/۰۰۱ توزین شد. سپس با ۰/۵ لیتر آب مقطر محلول گردید و 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 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 بهمن‌ماه 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. Characteristics of studied soil

بافت Texture	EC dS/m	pH	فسفر		پتاسیم		نیتروژن		مس Cu mg/kg
			کربن آلی OC %	قابل استفاده Available P mg/kg	قابل استفاده Available K mg/kg	کل Total N %	آهن Fe mg/kg	منیزیم Mg mg/kg	
Clay loam	0.794	7.94	0.811	7.3	185	0.075	3.41	8.15	0.51

جدول ۲. خصوصیات چای کمپوست مورد استفاده.

Table 2. Characteristics of compost tea

pH	EC dS/m	نیتروژن N %	اکسید		سدیم Na %	کلسیم Ca %	منیزیم Mg %	روی Zn mg/kg	آهن Fe mg/kg	منگنز Mn mg/kg	مس Cu mg/kg
			فسفر P ₂ O ₅ %	پتاسیم K ₂ O %							
7.97	2.38	1.93	0.51	1.71	1.12	1.69	0.39	98.23	428.01	104.35	16.97

آن جدا شد. برای اندازه‌گیری پرولین، میزان ۲ میلی‌لیتر از عصاره فوق جدا و داخل لوله‌آزمایش ریخته شد. ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به هر یک از نمونه‌ها اضافه و به هم زده شد. سپس به هر نمونه ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و سپس، ۲ میلی-لیتر اسید استیک اضافه گردید. پس از طی مراحل فوق، نمونه‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در داخل بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خنک کردن نمونه‌ها در آب یخ، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شدند و نهایتاً میزان جذب نور فاز بالایی نمونه‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر Varian، مدل CARY-100 در طول موج ۵۲۵ نانومتر و با استفاده از تولوئن به‌عنوان نمونه شاهد تعیین گردید. برای تعیین میزان پرولین، از منحنی استاندارد پرولین استفاده شد. میزان پرولین نمونه‌های برگ برحسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

اندازه‌گیری نشت الکترولیتی

به‌منظور اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیتی سلول‌های برگ، پس از نمونه‌گیری برگ‌ها به‌سرعت با استفاده از یخچال صحرایی از گلخانه به آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس از قسمت میانی پهنک‌برگ دیسک‌هایی یکنواخت تهیه شد و درون فالكون‌هایی با محتوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس با استفاده از دستگاه EC متر، EC اولیه (EC₁) نمونه‌ها قرائت شد. پس‌از آن نمونه‌های مذکور به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۱۵ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو قرار گرفتند و پس از سرد شدن EC ثانویه آن‌ها (EC₂) قرائت شد (Dionisio-Sese and Tobita, 1998). میزان نشت الکترولیتی از رابطه زیر محاسبه گردید:

[۴]

$$\text{نشت الکترولیتی} = \left(\frac{EC_1}{EC_2} \right) \times 100$$

اندازه‌گیری غلظت سرب در اندام‌های گیاهی

اندازه‌گیری غلظت سرب در اندام‌های گیاهی به روش هضم تر انجام شد (Emami, 1996). در این روش از اسید نیتریک ۶۵٪، اسید پرکلریک ۷۰٪ و اسیدسولفوریک ۹۶٪ استفاده گردید. بدین منظور ابتدا ۴۰۰CC اسید نیتریک، ۴۰ CC

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

به‌منظور ارزیابی غلظت کلروفیل و کاروتنوئید برگ ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگ توزین و به قطعات کوچکی خرد شد و با مقداری استن ۸۰ درصد در یک هاون چینی به‌طور کامل هم‌وزنیزه گردید. سپس محلول حاصل به‌وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف شد و حجم آن با استن ۸۰ درصد به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب نوری عصاره برگ با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۶۴/۸ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد (Wellburn, 1994) و غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها موجود در برگ با استفاده از روابط زیر محاسبه شد:

[۱]

$$\text{Chlorophyll a} = 12.25 A_{663.2} - 2.798 A_{646.8}$$

[۲]

$$\text{Chlorophyll b} = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$$

[۳]

$$\text{Carotenoids} = [1000 (A_{470}) - 1.82 (\text{mg Chlorophyll a}) - 85.02 (\text{mg Chlorophyll b})] / 198$$

در روابط فوق Chl_a و Chl_b به ترتیب میزان کلروفیل a و b و A_{663.2}، A_{646.8} و A₄₇₀ به ترتیب جذب نوری عصاره در طول‌موج‌های ۶۳۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر است.

اندازه‌گیری پرولین

تهیه عصاره و اندازه‌گیری پرولین آزاد برگ به روش بتز و همکاران (Bates et al., 1973) انجام شد. ابتدا ۰/۳ گرم از بافت برگ تازه را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد ساییده و مخلوط یکنواختی تهیه شد. عصاره‌های تهیه‌شده را درون فالكون ریخته و به مدت ۲ دقیقه به‌شدت تکان داده شدند. بدین ترتیب، دو فاز جامد و مایع نمونه‌ها به‌دقت تفکیک گردید. فاز مایع با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بخش بالایی

بذر در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند (شکل ۱B).

وزن خشک برگ

وزن برگ گیاه آفتابگردان تحت تأثیر غلظت سرب، پرایمینگ بذر و برهمکنش غلظت سرب با پرایمینگ بذر در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت ($P < 0.01$) (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد (شکل ۱C) با افزایش سمیت سرب از وزن خشک برگ‌ها کاسته شد ولی اعمال تیمارهای پرایمینگ توانست از افت شدید این پارامتر جلوگیری کند. در هر سه غلظت سرب، تیمار پتاسیم هیومات به‌عنوان بهترین تیمار پرایمینگ بذر شناخته شد و موجب افزایش وزن خشک برگ گردید.

از علائم قابل‌رؤیت سمیت سرب می‌توان به جلوگیری از رشد ریشه‌ها (Sharma and Dubey, 2005)، اکسید شدن ریشه‌ها و در کل کاهش وزن آن‌ها اشاره کرد. سرب باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده کربوهیدرات مثل آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز، اسید انورتاز و اسید فسفاتاز و همچنین تغییرات ژنومی DNA می‌شود (Kumar and Shyamasree, 2013). هنگامی 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). به‌طور کلی می‌توان گفت کاهش در وزن گیاهچه می‌تواند به دلیل کاهش جذب عناصر غذایی ضروری مانند پتاسیم، کلسیم، منیزیم و آهن (et al., 2002) و کاهش تولید زیست‌توده به دلیل اختلال در فرآیندهای فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن (Balestrasse et al., 2001) در اثر غلظت‌های سمی سرب باشد. در تحقیق حاضر تیمار پتاسیم هیومات مانع از کاهش وزن خشک ریشه و برگ گردید که دلیل آن را می‌توان به یون پتاسیم موجود در آن نسبت داد چراکه یون پتاسیم قابلیت نفوذ دیواره سلولی را افزایش می‌دهد (Preece and Read, 1993) که موجب سهولت و انتقال 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.

اسید پرکلریک و ۱۰ CC اسیدسولفوریک با هم مخلوط شدند. پس از آن ۰/۳ گرم از بافت گیاه جدا شد و ۳ CC از محلول اسیدهای تهیه‌شده به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت رها شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، به مدت ۲ ساعت در حرارت ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از آن محتویات بالن هضم را به بالن ژوژه انتقال و به حجم رسیده شدند. بعد از آن محلول حاصله از کاغذ صافی با قطر ریز عبور داده شد. برای اندازه‌گیری عناصر سنگین از دستگاه جذب اتمی مدل پرکین ۴۰۰AA ساخت آمریکا استفاده شد.

تجزیه آماری

کلیه داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS V 9.1 مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. پس از معنی‌داری اثر هر عامل آزمایشی، مقایسه میانگین‌ها به‌صورت برش‌دهی با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک ریشه

اثر غلظت سرب، پرایمینگ بذر و برهمکنش غلظت سرب با پرایمینگ بذر بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P < 0.01$) (جدول ۳). وزن خشک ریشه با افزایش غلظت سرب کاهش یافت. به‌طوری که کمترین وزن خشک ریشه مربوط به غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک و تیمار بدون پرایم (۳۴۹ میلی‌گرم) بود (شکل ۱A). در شرایط بدون سرب، استفاده از تکنیک پرایمینگ موجب افزایش وزن خشک ریشه شد. علاوه بر این، در هر سه غلظت سرب، پتاسیم هیومات توانست به‌طور معنی‌داری وزن خشک ریشه را افزایش دهد.

وزن خشک ساقه

اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و غلظت‌های مختلف سرب و برهمکنش آن‌ها بر وزن خشک ساقه معنی‌دار بود ($P < 0.01$) (جدول ۳). به‌طور کلی وزن خشک ساقه آفتابگردان با افزایش آلودگی خاک به عنصر سرب کاهش نشان داد. پرایمینگ بذر با چای کمپوست در هر دو سطح از غلظت سرب (۲۰۰ و ۴۰۰) منجر به رشد بهتر ساقه آفتابگردان نسبت به پتاسیم هیومات شد. تیمارهای پرایمینگ

جدول ۳. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات پرایمینگ بذر بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهچه گیاه آفتابگردان تحت تنش سرب.

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

S.O.V	منبع تغییرات	درجه		وزن خشک ساقه Shoot dry weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b
		آزادی	وزن خشک ریشه Root dry weight				
Seed priming (SP)	پرایمینگ بذر	2	201099**	10814**	9992**	0.92**	7.03**
Lead concentration (Pb)	غلظت سرب	3	260544**	17192**	31550**	4.86**	5.89**
SP × Pb	پرایمینگ × غلظت سرب	6	17445**	1024**	2784**	0.64**	0.78**
Error	خطا	24	682.9	176.1	52.2	0.0009	0.003
CV (%)	ضریب تغییرات		3.64	4.94	2.19	0.97	2.91

جدول ۳. ادامه

Table 3. Continued

S.O.V	منبع تغییرات	کاروتنوئید Carotenoids	پرولین Proline	نش الکترولیتی Electrolyte leakage	غلظت سرب ریشه Root lead concentration	غلظت سرب
						اندام هوایی Shoot lead concentration
Seed priming (SP)	پرایمینگ بذر	0.90**	602.7**	51.7**	0.46**	0.56**
Lead concentration (Pb)	غلظت سرب	2.87**	13535**	127.9**	10.2**	73.9**
SP × Pb	پرایمینگ × غلظت سرب	0.06**	167.7**	6.65**	0.05**	0.19**
Error	خطا	0.001	3.05	0.55	0.002	0.01
CV (%)	ضریب تغییرات	2.70	2.24	3.70	1.99	2.50

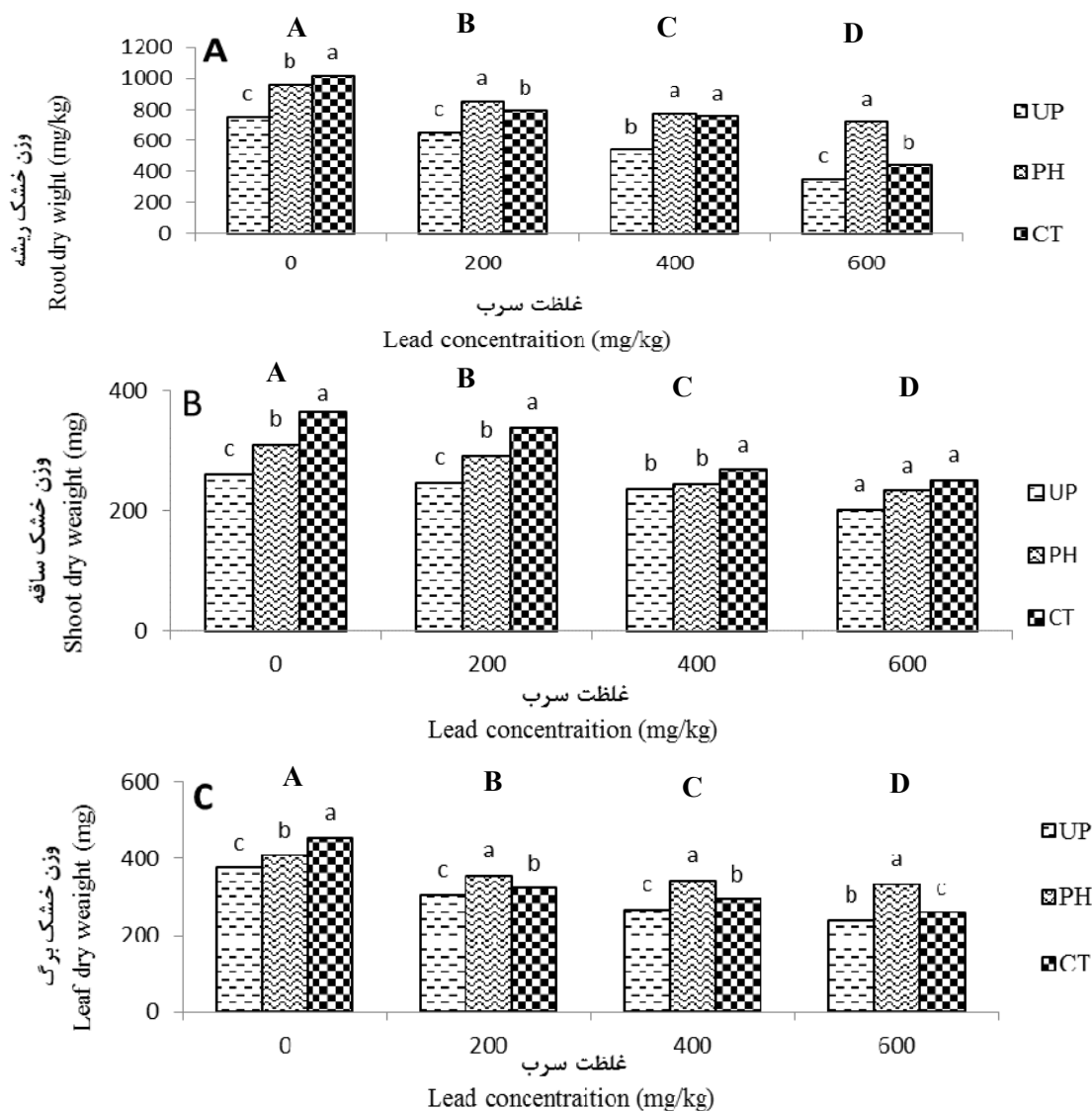
** significant at 1% level.

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

کلروفیل a

اثر غلظت‌های مختلف سرب، پرایمینگ بذر و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی-دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۳). افزایش غلظت سرب موجب کاهش معنی‌دار کلروفیل a شد ولی کاربرد تیمارهای پرایمینگ بذر از افت معنی‌دار این پارامتر جلوگیری نمود. تیمار پتاسیم هیومات در سمی‌ترین غلظت سرب، در مقایسه با تیمار چای کمیوست تأثیر بیشتری بر افزایش کلروفیل a داشت (شکل ۲A)

وزن خشک ساقه نیز توسط چای کمیوست افزایش یافت. چای کمیوست حاوی اکثر عناصر غذایی قابل‌دسترس مثل نیترات، فسفر، کلسیم و پتاسیم است. همچنین وجود عناصر کم‌مصرف مانند آهن، روی، مس و منگنز از دیگر مزایای ورمی‌کمیوست است (Atiyeh et al., 2000). احتمالاً خواص موجود در ورمی‌کمیوست، از طریق افزایش عناصر غذایی، افزایش هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد و فعالیت ریز موجودات، باعث تجمع نیتروژن و در نتیجه سبب افزایش وزن گیاه می‌شود (Atiyeh et al., 2002).



شکل ۱. اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر وزن خشک ریشه (A)، وزن خشک ساقه (B) و وزن خشک برگ (C) آفتابگردان در خاک‌های آلوده به سرب. UP، CT و PH به ترتیب تیمار بدون پرایمینگ، چای کمپوست (۵:۱) و پتاسیم هیومات (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشند. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین غلظت‌های سرب است و حروف کوچک متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای پرایمینگ بذر در هر غلظت سرب است (LSD $\alpha=0.05$).

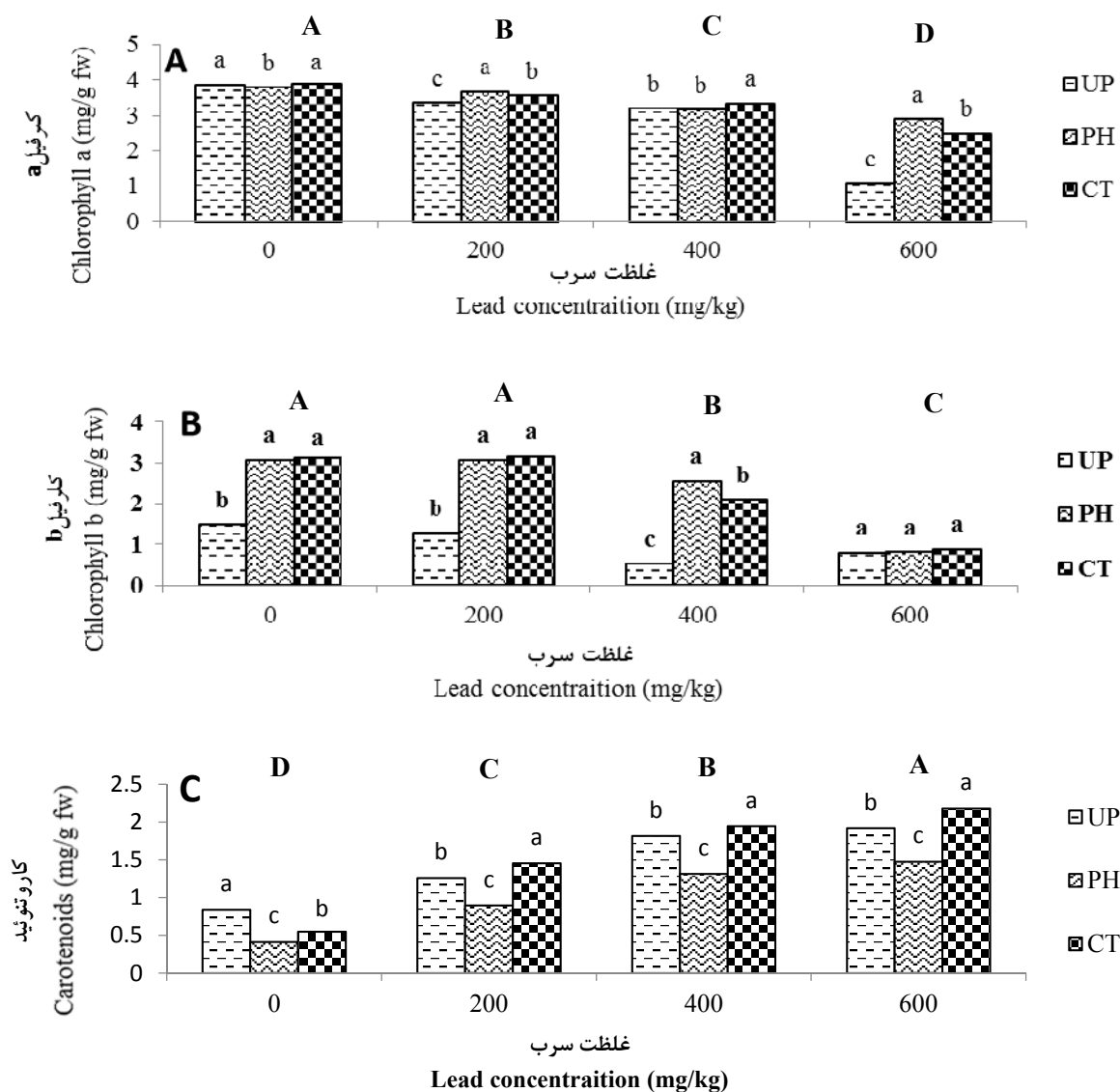
Fig. 1. Effect of seed priming treatments on root dry weight (A), shoot dry weight (B) and leaf dry weight (C) of sunflower plants in soils contaminated with lead. UP, CT and PH are no priming, compost tea (5:1) and potassium humate (300 mg/L) priming treatments, respectively. Different capital letters represent significant differences between lead concentrations and different lowercase letters represent significant differences amongst seed priming treatments at each lead concentration (LSD $\alpha=0.05$).

هیومات موجب افزایش این پارامتر در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک گردید اما در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان ندادند (شکل ۲B). فتوسنتز یکی از حساس‌ترین فرآیندهای متابولیکی نسبت به سمیت سرب

کلروفیل b

اثر غلظت‌های مختلف سرب، پرایمینگ بذر و برهمکنش آن‌ها بر میزان کلروفیل b معنی‌داری شد ($P < 0.01$) (جدول ۳). میزان کلروفیل b در پاسخ به افزایش غلظت سرب روند کاهشی نشان داد. پرایمینگ بذر با چای کمپوست و پتاسیم

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. به‌طور کلی با جایگزینی سرب به‌جای منیزیم موجود در حلقه پورفیرینی، کلروفیل تخریب می‌گردد (Reddy et al., 2005).



شکل ۲. اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی (A, B و C) گیاه آفتابگردان در خاک‌های آلوده به سرب. UP, CT و PH به ترتیب تیمار بدون پرایمینگ، چای کمپوست (۵:۱) و پتاسیم هیومات (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشند. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین غلظت‌های سرب است و حروف کوچک متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای پرایمینگ بذر در هر غلظت سرب است (LSD $\alpha=0.05$).

Fig. 2. Effect of seed priming treatments on photosynthetic pigments (A, B and C) of sunflower plants in soils contaminated with lead. UP, CT and PH are no priming, compost tea (5:1) and potassium humate (300 mg/L) priming treatments, respectively. Different capital letters represent significant differences between lead concentrations and different lowercase letters represent significant differences amongst seed priming treatments at each lead concentration (LSD $\alpha=0.05$).

می‌شود (Ramos et al., 2002). چای کمپوست حاوی اکثر عناصر غذایی قابل دسترس مانند نیترات، فسفر، کلسیم و پتاسیم است. همچنین وجود عناصر کم مصرف مانند آهن، روی، مس و منگنز از دیگر مزایای چای کمپوست است (Atiyeh et al., 2000) در نتیجه احتمالاً افزایش جذب مواد و عناصر غذایی سبب افزایش سنتز کاروتنوئیدها شده است.

نشت الکترولیتی

اثر غلظت‌های مختلف سرب، پرایمینگ بذر و برهمکنش آن‌ها بر میزان نشت الکترولیتی معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۳). در غلظت صفر سرب تفاوت معنی‌داری میان بذرها بدون پرایم و پرایم شده از نظر میزان نشت الکترولیتی وجود نداشت. (شکل ۳). در خاک‌های آلوده به سرب، هر دو تیمار پرایمینگ به‌طور معنی‌داری موجب کاهش میزان نشت الکترولیت گردید اما تیمار چای کمپوست اثر بیشتری بر این پارامتر داشت.

نشت املاح از اجزاء گیاهی، منعکس‌کننده وضعیت غشاء سلولی است. مشخص‌شده است که اثرات زیان‌بار ناشی از آسیب اکسیداتیو فلزات سنگین مانند سرب می‌تواند ساختار غشاء را به علت پراکسیداسیون لیپیدی تخریب کند و در نتیجه، باعث نشت املاح گردد (Agrawal and Mishra, 2009). پرایمینگ فعالیت آنزیمی را افزایش داده و اثرهای پراکسیداسیون را خنثی می‌کند (Yeh et al., 2005). همچنین از طریق سنتز و فعال‌سازی آنزیم‌ها، سنتز DNA، RNA، ATP موجب بهبود غشای سیتوپلاسمی (Copeland and McDonald, 2001) و کاهش نشت الکترولیتی می‌گردد.

غلظت سرب ریشه

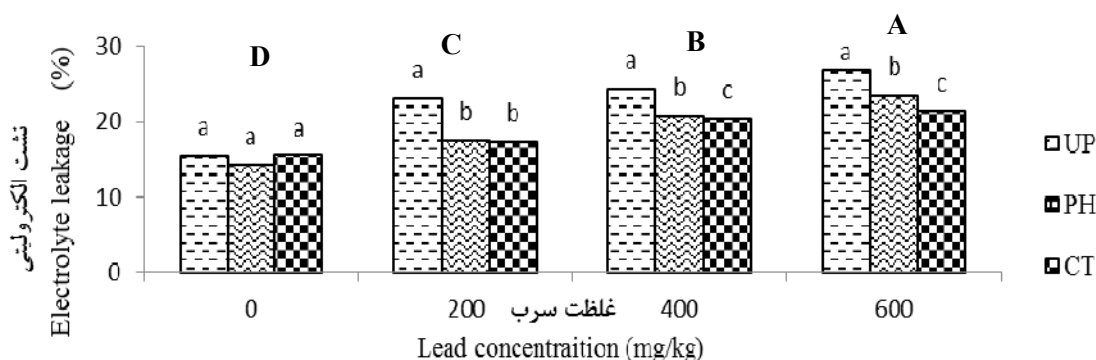
اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و غلظت‌های مختلف سرب و برهمکنش آن‌ها بر غلظت سرب ریشه معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۳). با افزایش غلظت سرب، میزان این پارامتر نیز افزایش یافت. پرایمینگ بذر توانست موجب افزایش غلظت سرب در گیاهچه‌ها شود و در این میان تیمار پتاسیم هیومات نسبت به تیمار چای کمپوست تأثیر بیشتری در افزایش این پارامتر داشته و به‌عنوان تیمار برتر شناخته شد.

افزایش غلظت کلروفیل a و b در حضور سرب توسط تیمار پتاسیم هیومات را می‌توان به نقش پتاسیم موجود در آن نسبت داد. پتاسیم غلظت کلروفیل را افزایش می‌دهد و عمل کربن‌گیری را بیشتر می‌نماید (Mohammadi et al., 2010). کومار و کومار (Kumar and Kumar, 2008) گزارش کردند که با افزایش مصرف سولفات پتاسیم افزایش در محتوی نسبی کلروفیل دیده شد. این محققان اعلام نمودند بالا رفتن فعالیت‌های فتوسنتزی ناشی از افزایش محتوی نسبی کلروفیل در برگ‌ها می‌تواند به‌واسطه نقش پتاسیم در سنتز پیش ماده رنگدانه‌های کلروفیل باشد و افزایش محتوی نسبی کلروفیل در برگ‌ها انتقال انرژی تابشی را به داخل انرژی شیمیایی اولیه در شکل ATP و NADPH در کلروپلاست‌ها بهبود می‌بخشد.

کاروتنوئیدها

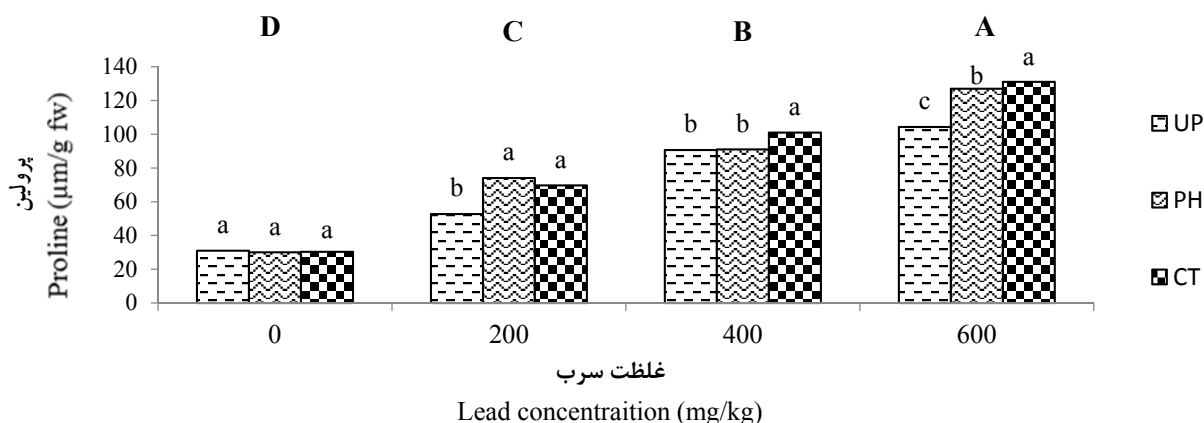
همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود اثر غلظت‌های مختلف سرب، پرایمینگ بذر و برهمکنش آن‌ها بر میزان کاروتنوئیدها، در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار شد ($P < 0.01$). شکل (۲C) که اثرات غلظت سرب بر میزان کاروتنوئید را نشان می‌دهد، بیانگر این است که با افزایش غلظت سرب، میزان کاروتنوئید نیز افزایش یافت. در هر دو سه سرب، تیمار چای کمپوست توانست موجب افزایش میزان کاروتنوئید نسبت به تیمار شاهد گردد.

افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند کاروتنوئید یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر فلزات سنگین است (Smeet et al., 2005). در این تحقیق نیز به‌موازات افزایش سمیت سرب، بر میزان کاروتنوئید افزوده شد. پرایمینگ بذر با چای کمپوست نیز باعث شد که میزان این پارامتر افزایش یابد. افزایش غلظت سرب در محیط خاک موجب برهم خوردن توازن عناصر غذایی مؤثر در رشد گیاهان می‌شود. تغییرات معنی‌دار در مقدار عناصر، باعث برهم 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 سیستم ریشه‌ای ممانعت می‌کند. که این به‌نوبه خود قادر به ایجاد تغییرات دیگر در متابولیسم گیاه



شکل ۳. اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر میزان نشت الکترولیتی گیاه آفتابگردان در خاک‌های آلوده به سرب. UP، CT و PH به ترتیب تیمار بدون پرایمینگ، چای کمپوست (۵:۱) و پتاسیم هیومات (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشند. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین غلظت‌های سرب است و حروف کوچک متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای پرایمینگ بذر در هر غلظت سرب است (LSD $\alpha=0.05$).

Fig. 3. Effect of seed priming treatments on electrolyte leakage of sunflower plants in soils contaminated with lead. UP, CT and PH are no priming, compost tea (5:1) and potassium humate (300 mg/L) priming treatments, respectively. Different capital letters represent significant differences between lead concentrations and different lowercase letters represent significant differences amongst seed priming treatments at each lead concentration (LSD $\alpha=0.05$).



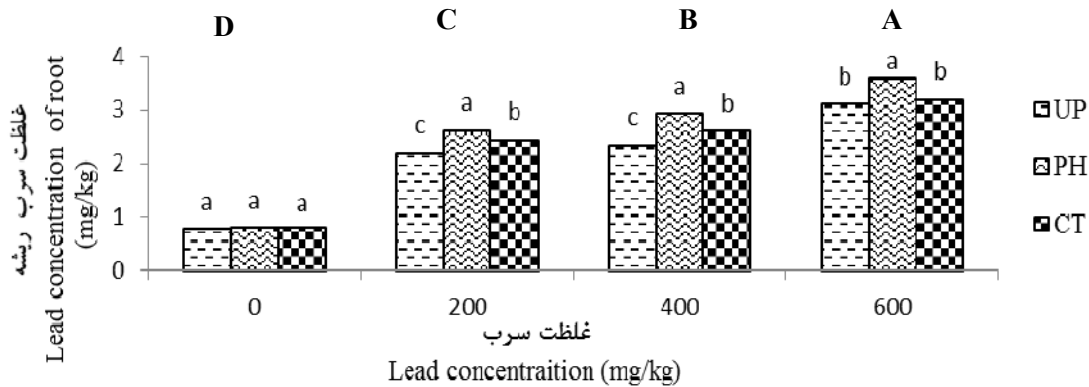
شکل ۴. اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر میزان پرولین گیاه آفتابگردان در خاک‌های آلوده به سرب. UP، CT و PH به ترتیب تیمار بدون پرایمینگ، چای کمپوست (۵:۱) و پتاسیم هیومات (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشند. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین غلظت‌های سرب است و حروف کوچک متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای پرایمینگ بذر در هر غلظت سرب است (LSD $\alpha=0.05$).

Fig. 4. Effect of seed priming treatments on proline content of sunflower plants in soils contaminated with lead. UP, CT and PH are no priming, compost tea (5:1) and potassium humate (300 mg/L) priming treatments, respectively. Different capital letters represent significant differences between lead concentrations and different lowercase letters represent significant differences amongst seed priming treatments at each lead concentration (LSD $\alpha=0.05$).

یک درصد معنی‌دار شد ($P < 0.01$). غلظت سرب اندام هوایی به موازات افزایش میزان سرب در خاک افزایش یافت. گیاهانی که بذر آن‌ها با پتاسیم هیومات و چای کمپوست تیمار شده بودند غلظت بیشتری از این فلز را در خود تجمع دادند (شکل ۴).

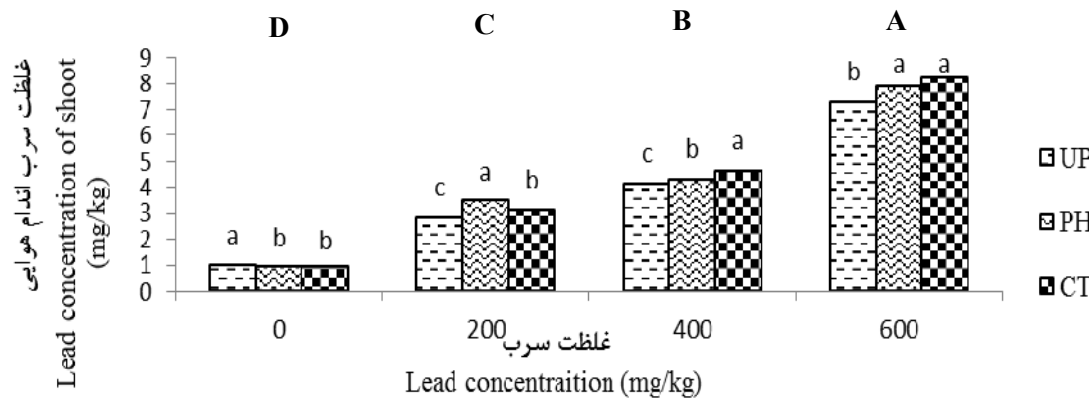
غلظت سرب اندام هوایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۳) که اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و غلظت‌های مختلف سرب و برهمکنش آن‌ها بر غلظت سرب اندام هوایی در سطح احتمال



شکل ۵. اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر غلظت سرب ریشه گیاه آفتابگردان در خاک‌های آلوده به سرب. UP، CT و PH به ترتیب تیمار بدون پرایمینگ، چای کمپوست (۵:۱) و پتاسیم هیومات (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشند. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین غلظت‌های سرب است و حروف کوچک متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای پرایمینگ بذر در هر غلظت سرب است (LSD $\alpha=0.05$).

Fig. 5. Effect of seed priming treatments on lead concentration of sunflower roots in soils contaminated with lead. In each concentrations of lead, means with same letters haven't significant difference based on LSD test (P=0.05). UP, CT and PH are no priming, compost tea (5:1) and potassium humate (300 mg/L) priming treatments, respectively. Different capital letters represent significant differences between lead concentrations and different lowercase letters represent significant differences amongst seed priming treatments at each lead concentration (LSD $\alpha=0.05$).



شکل ۶. اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر غلظت سرب اندام هوایی گیاه آفتابگردان در خاک‌های آلوده به سرب. UP، CT و PH به ترتیب تیمار بدون پرایمینگ، چای کمپوست (۵:۱) و پتاسیم هیومات (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشند. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین غلظت‌های سرب است و حروف کوچک متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای پرایمینگ بذر در هر غلظت سرب است (LSD $\alpha=0.05$).

Fig. 6. Effect of seed priming treatments on lead concentration of sunflower shoots in soils contaminated with lead. UP, CT and PH are no priming, compost tea (5:1) and potassium humate (300 mg/L) priming treatments, respectively. Different capital letters represent significant differences between lead concentrations and different lowercase letters represent significant differences amongst seed priming treatments at each lead concentration (LSD $\alpha=0.05$).

(Cakmak, 2005) در نتیجه باوجود شرایط سمی مقاومت گیاه به سرب توسط پتاسیم افزایش یافته و گیاه قادر به تجمع بیشتر سرب شده است.

نتیجه‌گیری

پتاسیم هیومات به صورت مشترک موجب افزایش غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی گردید که این افزایش را می‌توان 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

پتاسیم هیومات و چای کمپوست بر کاهش سمیت سرب در خاک‌های آلوده و به تبع آن افزایش بردباری گیاه آفتابگردان، می‌توان از این تکنیک به‌عنوان فناوری‌ای سودمند جهت افزایش کارایی گیاه‌پالایی استفاده نمود. چراکه افزایش بردباری گیاهان در مرحله گیاهچه‌ای تضمین‌کننده رشد بهتر و بیشتر گیاه در مراحل بعدی رشد است. رشد بیشتر نیز موجب افزایش جذب فلزات سنگین از خاک شده و به این صورت موجب بالا بردن کارایی فناوری گیاه‌پالایی می‌شود.

به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که سرب موجب کاهش پارامترهای جوانه‌زنی و رنگدانه‌های مهم فتوسنتزی شد با این حال اعمال پتاسیم هیومات و چای کمپوست از کاهش شدید این پارامترها جلوگیری نمود. علاوه بر این به‌موازات افزایش سمیت سرب، میزان کاروتنوئید، پرولین و نشت الکترولیتی افزایش یافت و تیمارهای پرایمینگ بذر موجب بهبود کاروتنوئید و پرولین شد و از افزایش میزان نشت الکترولیتی جلوگیری کرد که نتیجه آن رشد بهتر گیاهچه‌ها در شرایط سمی بود؛ بنابراین، با توجه به اثرات سودمند

منابع

- Agrawal, S.B., Mishra, S., 2009. Effects of supplemental ultraviolet-B and cadmium on growth, antioxidants and yield of *Pisum sativum* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72, 610-618.
- Ashrafi, E., Razmju, J., 2010. The effect of physiological and biochemical characteristics of safflower under drought stress hydropriming. *Journal of Crop Ecophysiology*. 1, 34-43. [In Persian with English Summary].
- Atiyeh, R.M., Subler, S., Edwards, C.A., Bachman, G., Metzger, J.D., Shuster, W., 2000. Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. *Pedo Biologia*. 44, 579-590.
- Atiyeh, R.M., Arancon, N., Edwards, C.A., Metzger, J.D., 2002. Incorporation of earthworm processed organic wastes into greenhouse container media for production of marigolds. *Bioresour Technology*. 81, 103-108.
- Balestrasse, K.B., Gardey, L., Gallego, S.M., Tomaro, M.L., 2001. Response of antioxidant defense system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. *Australian Journal of Plant Physiology*. 28, 497-504.
- Bates, L.S., Waldern, R.P., Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39, 205-207.
- Cakmak, I., 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 168, 521-530.
- Copeland, L., McDonald, M., 2001. *Principles of Seed Science and Technology*. Springer US Boston MA.
- Davey, M.W.E., Stals, B., Panis, J., Keulemans, R.L., 2005. High throughput determination of malon dialdehyde in plant tissues. *Analytical Biochemistry*. 347, 201-207.
- Dionisio-Sese, M.L., Tobita, S., 1998. Antioxidant responses of rice seedling to salinity stress. *Plant Science*. 135, 1-9.
- Emami, A., 1996. *Methods of Plant Analysis*. Soil & Water Research Institute Press. 400p. [In Persian].
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Rehman, H., Ahmad, N., Saleem, B.A., 2007. Osmopriming improve the germination and early seedling growth of melons (*Cucumis melon* L.). *Pakistan Journal of Agricultural Science*. 44, 29-536.
- Ghorbanli, M., Khanlryan, M., Haj Hussein, R., Zali, H., 2006. Reviews accumulation of lead and its effect on Klrfl content, iron and calcium in two cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Pajohesh va Sazandegi*. 71, 34-40 [In Persian with English Summary].
- Gogorcena, Y., Lucena, J.J., Abadia, J., 2002. Effects of Cd and Pb in sugar beets plants grown in nutrient solution: Induced Fe deficiency and growth inhibition. *Journal of Functional Plant Biology*. 29, 1453-1464.
- Groppa, M.D., Tomaro, M.L., Benarides, M.P., 2007. Polyamines and heavy metal stress, the antioxidant behavior of spermine in cadmium and copper treated wheat leaves. *Biometals*. 20, 185-195.
- Halmer, P., 2004. Methods to improve seed performance in the field. p. 125-166. In: R.L. Benech-Arnold and R.A. Sánchez (eds.), *Handbook of Seed Physiology, Applications to Agriculture*, Haworth Press, Inc, New York,.

- Jadia, C.H., Fulekar, M.H., 2008. The application of vermicompost to remove zinc, cadmium, copper, nickel and lead by sunflower Plant. *Environmental Engineering and Management Journal*. 7, 547-558.
- Kabatta-Pendias, A., Pendias, H., 2001. *Trace Elements in Soils and Plants*, 3rd ed. CRC Press LLC. 403p.
- Kabir, M., Iqbal, M.Z., Shafiqh, M., Farooqi, Z.R., 2008. Reduction in germination and seedling growth of *Thespesia populnea* L. caused by lead and cadmium treatments. *Pakistan Journal of Botany*. 40, 2419-2426.
- Karimi, n., Khan Ahmadi, D., Moradi, B., 2013. The effects of lead on some physiological parameters of Artichoke. *Journal of Plant Production*. 1, 49-62. [In Persian with English Summary].
- Kaur, S.A., Gupte, K., Kaur, N., 2000. Seed priming increases crop yield possibly by modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 191, 81-87.
- Kehstegar, M., Afshar, S.A., Nematpour, S.F., 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*). *Journal of Crop Ecophysiology*. 3, 363-374.
- Krystofova, O., Shestivska, V., Galiova, M., Novotny, K., Kaiser, J., Zehnalek, J., Babula, P., Opatrilova, R., Adam, V., Kizek, R., 2009. Sunflower plants as bioindicators of environmental pollution with lead (II) ions. *Sensors*. 9, 5040-5058.
- Kumar, A.R., Kumar, M., 2008. Studies on the efficacy of sulphate of potash on physiological, yield and quality parameters of Banana cv. Robusta (Cavendish- AAA). *EurAsian Journal of BioSciences*. 2, 102-109.
- Kumar, S., Shyamasree, G., 2013. Effect of heavy metals on germination of seeds. *Journal of Natural Science Biology and Medicine*. 2, 272-275.
- Lin, C.J., Liu, L., Liu, T., Zhu, L., Sheng, D., Wang, D., 2009. Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. *Environmental and Experimental Botany*. 65, 410-416.
- Lombi, E., Zhao, F., Dunham, S., McGrath, P., 2001. Phytoremediation of heavy metal-contaminated. *Journal of Environmental Quality*. 30, 1919-1926.
- Mohammadi, M.D., Habibi, M.R., Ardakani, W., Asgharzadieh, A., 2010. Effects of biological fertilizers, super absorbent polymer and humic acid on chlorophyll content, membrane lipid and enzyme activity of superoxide dismutase and catalase activity in annual medic (*Medicago scutellata*) under cadmium toxicity. *Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding*. 6, 65-79. [In Persian with English Summary].
- Preece, J.E., Read, P.E., 1993. *The Biology of Horticulture: An Introductory Textbook*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc. 528p.
- Ramos, I., Esteban, E., Lucena, J.J., Garate, A., 2002. Cd uptake and Sub cellular distribution in plants of (*lactuca sp*) Cd – Mn interaction. *Plant Science*. 162, 761-767.
- Reddy, A.M., Kumar, S.G., Jyonthsnakumari, G., Thimmanaik, S., Sudhakar, C., 2005. Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) and bengalgram (*Cicer arietinum*L.). *Chemosphere*. 60, 97-104.
- Sharma, P., Dubey, R., 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17, 35-52.
- Smeets, K., Cuypers, A., Lambrechts, A., Semane, B., Hoet, P., Laere, A.V., Vangronsveld, J., 2005. Induction of oxidative stress and antioxidativ mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. *Plant Physiology and Biochemistry*. 43, 437-444.
- Tiriki, I., Kizilmsek, M., Kaplan, M., 2009. Rapid and enhanced germination at low temperature of alfalfa and white clover seeds following osmotic priming. *Tropical Grasslands*. 43, 171-177.
- Umair, A., Ali, S., Bashir, K., Hussain, S., 2010. Evaluation of different seed priming techniques in mung bean (*Vigna radiate*). *Plant, Soil and Environment*. 29, 181-186.
- Verbruggen, N., Hermans, C., 2008. Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*. 35, 753-759.
- Wellburn, A.R., 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoid, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*. 144, 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 African Journal of Botany*. 76, 167–179.
- Yeh, Y.M., Chiu, K.Y., Chen, C.L., Sung, J.M., 2005. Partial vacuum extends the longevity of primed bitter gourd seeds by enhancing their anti-oxidative activities during storage. *Scientia Horticulturae*. 104, 101–112.