

## تأثیر نانو سیلیکون بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) تحت تنش کادمیوم

شهرزاد حسینی<sup>۱</sup>، ناصر زارع<sup>۲\*</sup>، پریسا شیخ زاده مصدق<sup>۲</sup>، شهربانو ابوطالبی<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۲. هیئت علمی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۳. دانشجوی دکتری رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

مشخصات مقاله	چکیده
<i>واژه‌های کلیدی:</i> آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان فلزات سنگین رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) گاوزبان اروپایی	فلزات سنگین به‌عنوان یکی از مشکلات زیست‌محیطی مهم است که منجر به کاهش رشد، عملکرد و کیفیت محصولات گیاهی می‌شود. سیلیکون به دلیل نقش فیزیولوژیکی و ساختاری برای رشد گیاهان مفید بوده و در سازگاری گیاه به تنش‌های محیطی می‌تواند مؤثر باشد. در این پژوهش تأثیر کادمیوم (صفر، ۸۱ و ۲۴۳ میکرومولار) و نانوسیلیکون (صفر و ۱/۵ میلی‌مولار) در سه بازه زمانی ۲۴ ساعت، یک هفته و دو هفته پس از اعمال تیمار بر گیاه گاوزبان اروپایی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد با افزایش غلظت کادمیوم از ۸۱ به ۲۴۳ میکرومولار میزان پروتئین کل کاهش و میزان پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدنید افزایش یافت. حضور ۱/۵ میلی‌مولار نانوسیلیکون باعث کاهش اثرات تخریبی کادمیوم شده به‌گونه‌ای که میزان تجمع کادمیوم در تیمار کادمیوم ۲۴۳ میکرومولار + نانوسیلیکون ۱/۵ میلی‌مولار و میزان پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدنید در هر دو غلظت، ۸۱ و ۲۴۳ میکرومولار به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار بدون نانوسیلیکون کاهش یافته است؛ بنابراین، نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد نانوسیلیکون در خاک‌های آلوده به کادمیوم می‌تواند به‌عنوان ایده‌ای در جهت افزایش کیفیت و تولید گیاه گاوزبان اروپایی باشد و اثرات نامطلوب تنش کادمیوم را بهبود بخشد.
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۰۶	
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۱	
تاریخ انتشار: پائیز ۱۴۰۱	
۸۲۹-۸۱۷: (۳) ۱۵	

### مقدمه

مسیرهای آپوپلاستی یا سیمپلاستی وارد گیاه شده و پس از آن بافت‌های آلوده به کادمیوم دچار تغییرات در ساختارهای سلولی، فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی و در نهایت مهار رشد و نمو می‌شوند (Sheikhzadeh et al., 2020). حضور کادمیوم در سلول منجر به تحریک تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن<sup>۱</sup> (ROS) شامل پراکسید هیدروژن، اکسیژن یگانه، هیدروکسیل و رادیکال سوپراکسیدها در سلول‌ها می‌شود که می‌توانند با لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و

تهدیدهای ناشی از تجمع بیش از حد فلزات سنگین به مشکلی جدی و گسترده در سطح جهان تبدیل شده است. این آلودگی‌ها عمدتاً از فعالیت‌های شهری و صنعتی حاصل می‌شود (Zhu et al., 2017). فلز کادمیوم (cd) به‌عنوان یکی از فلزات سنگین مهم در مقایسه با سایر فلزات به‌سرعت در بافت‌های گیاهی جذب و تجمع می‌یابد و انتقال آن به زنجیره غذایی نتیجه آلودگی گسترده خاک به کادمیوم است (Clemens et al., 2013). کادمیوم موجود در خاک از طریق

<sup>1</sup>- Reactive Oxygen Species

گزارش است (Hussain et al., 2015). در پژوهشی روی *Lemna polyrhiza* L. جان و همکاران (John et al., 2008) گزارش کردند که تنش کادمیوم باعث کاهش میزان کلروفیل، پروتئین و قند محلول و افزایش میزان پرولین در سلول‌ها و بافت‌های گیاهی می‌شود. علاوه بر این، ایشان نشان دادند که میزان جذب و تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی بسته به شدت تنش کادمیوم و مدت‌زمان تنش بوده و با افزایش غلظت کادمیوم در محیط و مدت‌زمان تیمار، میزان جذب کادمیوم توسط *Lemna polyrhiza* L. نیز افزایش می‌یابد (John et al., 2008). افزایش پلی‌فنل‌اکسیداز تحت تنش کادمیوم و شوری در اندام هوایی و ریشه گیاه سویا Glycin max نیز گزارش شده است (Aksoy et al., 2012). در مطالعه‌ای روی گیاه ذرت نشان داده شده است که استفاده از سیلیکون به صورت  $(\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O})$  باعث کاهش جذب کادمیوم، میزان پرولین و قندهای محلول و همچنین پراکسیداسیون لیپیدها در گیاهچه‌های ذرت تحت تنش کادمیوم شده است. علاوه بر این، تیمار سیلیکون باعث افزایش میزان کلروفیل در گیاهچه‌های ذرت در شرایط تنش کادمیوم شده و در نتیجه رشد ریشه و ساقه گیاهچه‌ها را افزایش می‌دهد (Mohsenzadeh et al., 2011). با توجه به اینکه سهم بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گاوزبان اروپایی و محصولات آن در بازارهای دارویی جهان مصرف می‌شود، بنابراین تولید این گیاه نیازمند توجه ویژه‌ای جهت بالا بردن کیفیت کشت، کارایی تولید و سلامت آن است. این توجه مستلزم افزایش شناخت نسبت به سازوکارهای فیزیولوژیکی تأثیرپذیر این گیاه از عوامل محیطی از جمله تنش کادمیوم با استفاده از بررسی متابولیت‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و سایر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه است.

هدف از انجام این تحقیق بررسی نقش نانوسیلیکون در کاهش اثرات صدمه‌زننده تنش کادمیوم بر خصوصیات فیزیولوژیکی از قبیل مقدار پروتئین‌ها، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه گل‌گاوزبان اروپایی بود.

#### مواد و روش‌ها

به منظور جوانه‌زنی، بذور تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان در ظروف پتری یک‌بارمصرف استریل همراه با کاغذ صافی کشت شد و در ژرمیناتور (مدل IK-RH 200، ساخت شرکت ایران خودساز، ایران) با دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد به

رنگ‌دانه‌ها واکنش و باعث ایجاد اثرات سمیت و انفجار اکسیداتیو در گیاه شود (Hussain et al., 2012). همچنین، کادمیوم با ایجاد تنش اکسیداتیو می‌تواند باعث اختلال در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت گیاهی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز) و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها و اسید اسکوربیک) شود (Ashraf et al., 2009).

سیلیکون (Si) دومین عنصر فراوان در پوسته زمین است. سیلیکون در محیط کشت سبب کاهش اثر تنش‌های مختلف از قبیل خشکی، شوری و سمیت کادمیوم می‌شود (Rizwan et al., 2018). همچنین سیلیکون می‌تواند اثرات سمیت کادمیوم از جمله عقب‌ماندگی رشد گیاه، غیرفعال شدن فعالیت‌های آنزیمی و انباشت رادیکال‌های آزاد اکسیژنی (ROS) را کاهش دهد (Shi et al., 2010). علاوه بر این، سیلیکون باعث بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و رشدی و افزایش استحکام دیواره‌ی سلولی گیاهان شده که این امر سبب افزایش مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌ها می‌گردد. این عنصر در افزایش فتوسنتز و استقامت اندام‌های گیاهی، افزایش رشد و توسعه ریشه، کاهش نرخ تبخیر و تعرق، افزایش کارایی مصرف آب و بهبود تحمل گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش دارد (Brecht et al., 2004).

گیاهان دارویی، یکی از منابع مهم تولید دارو هستند؛ که اهمیت آن‌ها روزبه‌روز در حال گسترش است. گاوزبان اروپایی با نام انگلیسی Borage از خانواده‌ی Boraginaceae با نام علمی *Borago officinalis* L. یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین گیاهان دارویی مورد استفاده است که به دلیل ترکیبات ثانویه منحصربه‌فردی که دارد به‌طور گسترده در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bienert et al., 2008). گل‌گاوزبان حاوی بالاترین درصد از گامالینولینیک اسید و بهترین انتخاب برای اهداف تجاری است (Spurvey and Shahidi 2000).

مطالعات نشان داده‌اند که سیلیکون می‌تواند به‌طور چشمگیری تحمل گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند فلزات سنگین، نمک، خشکی و سرما را بهبود داده و اثرات مفیدی بر رشد و تولید گیاهان داشته باشد. اثرات تحریکی سیلیکون بر سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها و گیاهان تحت تنش کادمیوم در گیاهان ذرت، گندم و پنبه

**اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی****اندازه‌گیری مقدار پراکسید هیدروژن**

برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن از روش ولیکا و همکاران (Velikova et al., 2000) استفاده و مقدار آن بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

**اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید**

مقدار مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان فراورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا به روش (Heath and Packer, 1968) و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر اندازه‌گیری محاسبه شد.

**سنجش مقدار پرولین**

اندازه‌گیری غلظت پرولین برگ گیاه نیز مطابق روش باتس (Bates, 1973) انجام گرفت. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (BIORAD, Smartspec™) plus ساخت کشور آمریکا) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید؛ و با رسم منحنی استاندارد میزان این آمینواسید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

**عصاره‌گیری برای سنجش مقدار پروتئین و فعالیت آنزیمی**  
برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی، عصاره‌ی پروتئینی به روش چانگ و کاو (Chang and Koa, 1988) تهیه شد.

**تعیین مقدار پروتئین محلول برگ گاوزبان اروپایی**

برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل در برگ‌ها از روش بردفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. همچنین برای کمی‌سازی مقدار پروتئین نمونه‌ها از منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف سرم آلبومین گاوی (BSA) استفاده و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

**اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز**

فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز به روش کار و میشر (Kar and Mishra, 1976) بررسی شد. جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

**اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز**

مدت دو هفته نگهداری گردید. گیاهچه‌های ۵-۶ سانتی‌متری، به ظرف‌های هیدروپونیک حاوی نیم غلظت محلول غذایی هوگلند (Hoagland and Arnon, 1950) همراه با هوادهی مداوم، در اتاقک کشت با دوره روشنایی ۱۶ ساعت و دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد انتقال یافت (Zofan et al., 2019). به‌منظور ثابت نگه‌داشتن شرایط رشد، حجم محلول و pH آن دائماً بازبینی و در محدوده ۵/۸-۶/۵ حفظ شد (Zofan et al., 2019).

**اعمال تیمار کادمیوم و نمونه‌برداری**

این پژوهش در اتاقک رشد آزمایشگاه بیوتکنولوژی و کشت بافت گیاهی دانشگاه محقق اردبیلی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل کادمیوم در سه سطح (شامل صفر، ۸۱ و ۲۴۳ میکرومولار) (John et al., 2008) و نانو سیلیکون در دو سطح مختلف (شامل صفر و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. اعمال تیمار با اضافه کردن کادمیوم به‌صورت نیترات کادمیوم ( $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ) (شرکت سیگما-آلدریج) و نیز نانو سیلیکون (شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان-مشهد-ایران) در ظروف حاوی محیط غذایی هیدروپونیک انجام گرفت. ۲۴ ساعت، یک هفته و دو هفته پس از اعمال تیمار، نمونه‌برداری از برگ‌های بالایی گیاهان به‌منظور اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژی انجام شد. گیاهان تحت تیمار غلظت ۲۴۳ میکرومولار کادمیوم قبل از هفته دوم بر اثر شدت تنش از بین رفت و امکان نمونه‌گیری در این زمان فراهم نشد. نمونه‌ها پس از انجماد با ازت مایع بلافاصله به فریزر (-۷۰) درجه سانتی‌گراد منتقل و تا زمان اندازه‌گیری صفات در این شرایط نگهداری شدند.

**اندازه‌گیری غلظت کادمیوم در برگ گاوزبان اروپایی**

با هدف بررسی میزان تجمع کادمیوم در بازه زمانی یک هفته، تیمارهای صفر، ۸۱ و ۲۴۳ میکرومولار کادمیوم و نیز در ترکیب با نانو سیلیکون نمونه‌برداری انجام شد و پس از خشک کردن نمونه‌های گیاهی در ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، یک گرم نمونه خشک به بالن هضم منتقل و عصاره آن به روش هضم اسیدی تهیه شد (Matejovic and Durackova, 1994). در نهایت غلظت کادمیوم موجود در عصاره با استفاده از دستگاه جذب اتمی (GBC ۹۳۲) ساخت کشور استرالیا) اندازه‌گیری شد.

گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver. 22 انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRTs) در سطح احتمال ۵٪ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده گردید.

## نتایج و بحث

### صفات بیوشیمیایی

#### میزان پراکسید هیدروژن

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر تیمارهای کادمیوم، نانوسیلیکون و اثر متقابل کادمیوم × نانوسیلیکون در مدت‌زمان یک روز و یک هفته بعد از اعمال تنش بر میزان پراکسید هیدروژن سلول‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱ و ۲).

اثر متقابل کادمیوم × نانوسیلیکون بر میزان پراکسید هیدروژن در بازه زمانی دو هفته پس از تیمار در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نبود (جدول ۳). تیمار کادمیوم موجب افزایش میزان پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار شاهد شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز از روش کار و میشر (Kar and Mishra, 1976) استفاده گردید. جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت و فعالیت آنزیم برحسب میکرومول  $H_2O_2$  تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش کار و میشر (Kar and Mishra, 1976) استفاده گردید. تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ nm با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم برحسب میکرومول  $H_2O_2$  تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. قبل از انجام تجزیه و تحلیل داده‌ها، آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون تک نمونه‌ای کولموگروف-اسمیرنوف (نرم‌افزار SPSS ver. 22) انجام

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی تحت تنش کادمیوم و نانوسیلیکون یک روز بعد از اعمال تنش

Table 1. Analysis of variance of biochemical traits under cadmium stress and nano-silicon treatment one day after stress application

S.O.V	درجه آزادی df	پلی فنل اکسیداز						
		پراکسید هیدروژن $H_2O_2^\dagger$	مالون دی‌آلدئید MDA <sup>†</sup>	پرولین Proline	پروتئین Protein	Polyphenol oxidase	پراکسیداز Peroxidas	کاتالاز Catalase
کادمیوم Cadmium(C)	2	0.005**	117.863**	0.548**	0.362**	1.395**	0.004**	0.053**
نانوسیلیکون Nanosilicon(N)	1	0.001**	36.652**	0.038**	0.564**	0.098**	0.004**	0.092**
کادمیوم × نانوسیلیکون C × N	2	0.001**	14.672**	0.042**	0.193**	0.039*	0.002**	0.034**
خطا Error	12	$3.26010^{-5}$	0.560	0.003	0.004	0.006	$4.20919^{-5}$	0.001
ضریب تغییرات C.V%	-	14.190	16.043	27.351	13.566	12.615	15.457	26.429

ns, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

ns, \* and \*\* are non-significant, significant at the probability level of 0.05 and 0.01, respectively

<sup>†</sup> MDA: Malondialdehyde,  $H_2O_2$ : Hydrogen peroxide

هیدروژن در تیمار کادمیوم ۲۴۳ میکرومولار و کم‌ترین میزان آن متعلق به تیمار شاهد بود (جدول ۴). در زمان یک و دو هفته بعد از اعمال تیمار نیز استفاده از نانوسیلیکون باعث کاهش معنی‌دار پراکسید هیدروژن در شرایط تنش کادمیوم

در زمان یک روز بعد از اعمال تیمار، میزان پراکسید هیدروژن در تیمارهای نانوسیلیکون + سطوح مختلف کادمیوم اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشته و به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار فاقد نانوسیلیکون بود. بیش‌ترین میزان پراکسید

شد. همچنین تیمار نانوسیلیکون + کادمیوم ۸۱ میکرومولار تفاوت معنی داری با تیمار نانوسیلیکون ۱/۵ میلی مولار نشان نداد. دو هفته بعد از اعمال تیمار نیز بیشترین میزان پراکسید

جدول ۲. تجزیه واریانس غلظت کادمیوم و صفات بیوشیمیایی تحت تنش کادمیوم و نانوسیلیکون یک هفته بعد از اعمال تنش  
Table 2. Analysis of variance of biochemical traits and cadmium concentration under cadmium stress and nano-silicon treatment one week after stress

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	غلظت کادمیوم Cadmium Concentration	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide	مالون دی آلدئید Malondialdehyde	پرولین Proline
Cadmium (C)	کادمیوم	2	21.853**	0.001**	174.594**	2.010**
Nanosilicon (N)	نانوسیلیکون	1	2.494**	0.006**	93.321 <sup>ns</sup>	0.050*
C × N	کادمیوم × نانوسیلیکون	2	6.677**	0.001**	5.709**	0.124**
Error	خطا	12	0.178	6.5901 <sup>-5</sup>	1.036	0.010
C.V%	ضریب تغییرات %	-	17.37	17.004	19.616	28.245

Table 2. Continued

جدول ۲. ادامه

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	پروتئین Protein	پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase	پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase
Cadmium (C)	کادمیوم	2	0.636**	1.955**	0.044**	0.089**
Nanosilicon (N)	نانوسیلیکون	1	0.226**	0.195**	0.041**	0.099**
C × N	کادمیوم × نانوسیلیکون	2	0.259**	0.065**	0.035**	0.068**
Error	خطا	12	0.004	0.009	6.82710 <sup>-5</sup>	0.001
C.V%	ضریب تغییرات %	-	13.171	16.555	16.232	20.553

ns, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

ns, \* and \*\* are non-significant, significant at the probability level of 0.05 and 0.01, respectively

با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تنش اکسیداتیو ناشی از کادمیوم شده و در نتیجه خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی بهبود می‌دهد.

میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی یا مالون دی آلدئید (MDA)

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان مالون دی آلدئید (پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی) در برگ‌های گاوزبان اروپایی در هر سه زمان نمونه‌برداری به‌طور معنی داری تحت تاثیر تنش کادمیوم و اثر متقابل کادمیوم × نانوسیلیکون

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش کادمیوم میزان تولید و تجمع پراکسید هیدروژن که یکی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن است را به‌طور معنی داری افزایش می‌دهد. این امر نشان می‌دهد که بخش زیادی از صدمات ناشی از تنش کادمیوم ناشی از تنش اکسیداتیو است. رادیکال‌های آزاد تولید شده سبب اکسیداسیون و تخریب ماکرومولکول‌هایی از قبیل پروتئین، DNA، آسیب به غشای سلولی و نشت یونی می‌گردد (Khan and Panda, 2008). در این بررسی در تیمار نانوسیلیکون میزان پراکسید هیدروژن کاهش یافت، که این امر نشانگر این است که نانوسیلیکون از یک طرف با کاهش تجمع کادمیوم در سلول‌ها و بافت‌های گیاهی و از طرف دیگر

مالون‌دی‌آلدئید و نفوذپذیری غشا می‌شود (Gallego et al., 2012). افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید تحت تنش کادمیوم توسط هدیگوس و همکاران (Hegedus et al., 2001) در برگ و ریشه گیاه جو نیز گزارش شده که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. در زمان یک هفته بعد از اعمال تیمار، میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار نانوسیلیکون کاهش یافت و کم‌ترین میزان آن مربوط به تیمار نانوسیلیکون با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار بود. بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمار نانوسیلیکون با غلظت ۲۴۳ میکرومولار به دست آمد و بین تیمارهای کادمیوم ۲۴۳ میکرومولار و تیمار نانوسیلیکون+کادمیوم ۲۴۳ میکرومولار تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. در زمان دو هفته بعد از اعمال تیمار، تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار نانوسیلیکون وجود نداشت و بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در تنش کادمیوم مشاهده شد (جدول ۴).

قرارگرفته، ولی تأثیر نانوسیلیکون بر این صفت فقط در زمان یک روز پس از اعمال تیمار معنی‌دار بود (جدول ۱، ۲ و ۳). تیمار نانوسیلیکون یک روز بعد از اعمال تنش موجب کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمارهای کادمیوم با غلظت‌های ۸۱ و ۲۴۳ میکرومولار شد. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمار کادمیوم با غلظت ۲۴۳ میکرومولار و کم‌ترین میزان آن در تیمار نانوسیلیکون و شاهد مشاهده گردید (جدول ۴). این افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید تحت تنش کادمیوم احتمالاً با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیداسیون اسیدهای چرب مرتبط است. با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، غشای سلول تخریب و نشت غشا اتفاق می‌افتد که سبب افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. کادمیوم از طریق آسیب به سیستم‌های آنتی‌اکسیدان سلول و افزایش تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن یکپارچگی غشا را بر هم زده و منجر به افزایش سطح

جدول ۳. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی تحت تنش کادمیوم و نانوسیلیکون دو هفته بعد از اعمال تنش

Table 3. Analysis of variance of biochemical traits under cadmium stress and nano-silicon treatment two weeks after stress

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	هیدروژن	مالون دی	پلی فنل		پراکسیداز Peroxidas	کاتالاز Catalase	
		پراکسید Hydrogen peroxide	آلدئید Malondial dehyde	پروترین Proline	پروتئین Protein			
کادمیوم Cadmium (C)	1	0.001**	143.59**	2.399**	0.428**	2.072**	0.0001**	0.004**
نانوسیلیکون Nanosilicon (N)	1	0.0003*	1.062 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.82**	0.002 <sup>ns</sup>	7.484 <sup>-5**</sup>	8.071 <sup>-6ns</sup>
کادمیوم × نانوسیلیکون C × N	1	2.212 <sup>-5ns</sup>	8.653**	0.091**	0.003**	0.004 <sup>ns</sup>	0.0001**	0.0002**
خطا Error	8	1.4511 <sup>-5</sup>	0.492	0.002	0.005	0.002	1.36910 <sup>-6</sup>	1.2361 <sup>-5</sup>
ضریب تغییرات % C.V%	-	16.985	15.850	28.079	11.686	15.211	17.858	23.688

ns, \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

ns, \* and \*\* are non-significant, significant at the probability level of 0.05 and 0.01, respectively

آنزیمی و غیرآنزیمی و در نتیجه کاهش تولید ROS، کاهش پراکسیداسیون لیپید و تشکیل مالون‌دی‌آلدئید است (Song et al., 2009).

در مطالعه حاضر میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نانوسیلیکون کاهش یافت که این کاهش احتمالاً از طریق کاهش میزان تجمع کادمیوم در سلول‌ها و بافت‌های گیاهی و افزایش کارایی سیستم‌های آنتی‌اکسیدان‌های

جدول ۴. مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی گاوزبان اروپایی مربوط به تأثیر نانو سیلیکون و کادمیوم در سه بازه زمانی

Table 4. Average comparison of the biochemical traits of European borage related to the effect of nano silicon and cadmium in three time periods

تیمار Treatment	غلظت Concentration	زمان <sup>†</sup> Time <sup>†</sup>	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide $\mu\text{ mol g}^{-1}\text{ F. Wt}$	مالون دی آلدئید Malondialdehyde $\mu\text{ mol g}^{-1}\text{ F. Wt}$	پروترین Proline $\mu\text{ mol g}^{-1}\text{ F. Wt}$	پروتئین Protein $\text{mg g}^{-1}$	پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase $\text{U mg}^{-1}\text{ Protein}$
شاهد Control	0	24 h	0.0250 <sup>e</sup>	3.2030 <sup>e</sup>	0.0414 <sup>d</sup>	1.131 <sup>a</sup>	0.0672 <sup>d</sup>
کادمیوم Cadmium(C)	81 $\mu\text{M}$	24 h	0.0929 <sup>b</sup>	6.5467 <sup>c</sup>	0.3592 <sup>c</sup>	0.653 <sup>c</sup>	0.5680 <sup>c</sup>
کادمیوم Cadmium	243 $\mu\text{M}$	24 h	0.1036 <sup>a</sup>	14.828 <sup>a</sup>	0.7990 <sup>a</sup>	0.286 <sup>d</sup>	1.1844 <sup>a</sup>
نانوسیلیکون Nanosilicon(N)	1.5 mM	24 h	0.0405 <sup>d</sup>	2.686 <sup>e</sup>	0.0636 <sup>d</sup>	1.128 <sup>a</sup>	0.0424 <sup>d</sup>
کادمیوم + نانو سیلیکون C + N	81 $\mu\text{M}$ + 1.5 mM	24 h	0.0643 <sup>c</sup>	4.9083 <sup>d</sup>	0.3456 <sup>c</sup>	1.004 <sup>b</sup>	0.4800 <sup>c</sup>
کادمیوم + نانو سیلیکون C + N	243 $\mu\text{M}$ + 1.5 mM	24 h	0.0714 <sup>c</sup>	8.42 <sup>b</sup>	0.5144 <sup>b</sup>	0.999 <sup>b</sup>	0.8535 <sup>b</sup>
شاهد Control	0	1 W	0.0286 <sup>c</sup>	3.957 <sup>d</sup>	0.0562 <sup>d</sup>	1.461 <sup>a</sup>	0.0733 <sup>d</sup>
کادمیوم Cadmium	81 $\mu\text{M}$	1 W	0.0643 <sup>b</sup>	11.682 <sup>b</sup>	1.0871 <sup>b</sup>	1.000 <sup>c</sup>	0.8602 <sup>b</sup>
کادمیوم Cadmium	243 $\mu\text{M}$	1 W	0.1179 <sup>a</sup>	16.368 <sup>a</sup>	1.4383 <sup>a</sup>	0.407 <sup>d</sup>	1.4159 <sup>a</sup>
نانوسیلیکون Nanosilicon	1.5	1 W	0.0131 <sup>d</sup>	3.203 <sup>e</sup>	0.2483 <sup>c</sup>	1.248 <sup>b</sup>	0.0889 <sup>d</sup>
کادمیوم + نانو سیلیکون C + Nn	81 $\mu\text{M}$ + 1.5 mM	1 W	0.0226 <sup>cd</sup>	5.918 <sup>c</sup>	0.9604 <sup>b</sup>	1.272 <sup>b</sup>	0.6151 <sup>c</sup>
کادمیوم + نانو سیلیکون C + N	243 $\mu\text{M}$ + 1.5 mM	1 W	0.0619 <sup>b</sup>	10.773 <sup>b</sup>	1.0573 <sup>b</sup>	1.021 <sup>c</sup>	1.0208 <sup>b</sup>
شاهد Control	0	2 W	0.0254 <sup>bc</sup>	3.9633 <sup>c</sup>	0.0783 <sup>d</sup>	1.447 <sup>b</sup>	0.0759 <sup>b</sup>
کادمیوم Cadmium	81 $\mu\text{M}$	2 W	0.401 <sup>a</sup>	12.580 <sup>a</sup>	1.1463 <sup>a</sup>	1.037 <sup>d</sup>	0.9425 <sup>a</sup>
نانوسیلیکون Nanosilicon	1.5	2 W	0.0222 <sup>c</sup>	5.067 <sup>c</sup>	0.2742 <sup>c</sup>	1.579 <sup>a</sup>	0.0887 <sup>b</sup>
کادمیوم + نانو سیلیکون C + N	81 $\mu\text{M}$ + 1.5 mM	2 W	0.0315 <sup>b</sup>	10.287 <sup>b</sup>	0.9948 <sup>b</sup>	1.234 <sup>c</sup>	0.8845 <sup>a</sup>

میانگین هایی با حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی داری با هم ندارند.

<sup>†</sup> برحسب ساعت (h) یا هفته (W)

The means with common letters in each column are not significantly different based on Duncan's multiple range tests at the 5% probability level.

<sup>†</sup> In units of hour (h) or week (W)

کادمیوم از ۸۱ به ۲۴۳ میکرومولار میزان پروترین یک روز بعد از اعمال تیمار به طور معنی داری افزایش یافت. یکی از راه های مقابله با تنش های محیطی سنتز ترکیبات سازگار و محافظ اسمزی در سلول ها است. تجمع پروترین در گیاهان شاید به عنوان نشانگر زیستی تنش کادمیوم مطرح باشد، زیرا پروترین می تواند رادیکال های آزاد را جاروب و سلول را از اثرات مخرب آن ها حفظ نماید. در پژوهشی محسن زاده و همکاران

### میزان پروترین

طبق نتایج تجزیه واریانس، تاثیر تمام سطوح تیماری (کادمیوم، نانو سیلیکون و اثر متقابل کادمیوم × نانو سیلیکون) بر میزان پروترین در مدت زمان یک روز و یک هفته بعد از اعمال تنش معنی دار بود. اما در زمان دو هفته بعد از اعمال تیمار، میزان پروترین در گاوزبان اروپایی تحت تاثیر تیمار نانو سیلیکون قرار نگرفت (جدول ۱، ۲ و ۳). با افزایش غلظت

معنی‌دار میزان پروتئین محلول برگ‌های گاوزبان اروپایی نسبت به عدم استفاده از آن گردید. به صورتی که تیمار نانوسیلیکون+۲۴۳ میکرومولار کادمیوم و تیمار نانوسیلیکون+۸۱ میکرومولار کادمیوم به ترتیب به‌طور معنی داری بیشتر از تیمار ۲۴۳ و ۸۱ میکرومولار کادمیوم یک روز و یک هفته پس از تیمار بود. علاوه بر این، در مدت‌زمان دو هفته بعد از اعمال تیمار، میزان پروتئین در تیمار نانوسیلیکون+۸۱ میکرومولار کادمیوم تفاوت معنی‌داری با تیمار ۸۱ میکرومولار کادمیوم داشت (جدول ۴). کادمیوم با اختلال در متابولیسم نیتروژن از طریق مهار فعالیت آنزیم‌هایی مانند گلوتامین سینتاز، گلوتامات سینتاز و نیترات ردوکتاز و فرآیند احیاء نیترات نیز سبب کاهش تولید پروتئین شده و رشد گیاه را متوقف می‌کند (Wang et al., 2008). در پژوهشی جان و همکاران (John et al., 2008) گزارش کردند که تحت تنش کادمیوم محتوای پروتئین محلول در گیاه *Lemna polyrhiza* L. کاهش می‌یابد که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. با این حال، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد نانوسیلیکون باعث کاهش اثرات نامطلوب تنش کادمیوم بر این صفت شده و با افزایش تولید پروتئین‌ها، در بهبود رشد گیاه نسبت به تیمارهای فاقد نانوسیلیکون در شرایط حضور کادمیوم مؤثر بوده است.

#### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱ و ۲) نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (پلی‌فنل‌اکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز) در زمان یک روز و یک هفته بعد از اعمال تنش، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کادمیوم، نانوسیلیکون و اثرمتقابل کادمیوم×نانوسیلیکون قرار گرفته است. فعالیت هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدان در دو هفته پس از اعمال تنش نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کادمیوم قرار گرفت، ولی تأثیر نانوسیلیکون در این زمان نمونه‌برداری فقط بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، و اثرمتقابل کادمیوم×نانوسیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصل، در زمان ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش با افزایش کادمیوم میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز افزایش یافت. به‌علاوه با افزودن نانوسیلیکون از فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در گیاهان تحت تنش کادمیوم کاسته شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز به ترتیب در تیمار کادمیوم با غلظت ۲۴۳ میکرومولار و تیمار

(Mohsenzadeh et al., 2011) گزارش کردند که کادمیوم سبب افزایش میزان پرولین در گیاهچه ذرت شد که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. تیمار نانوسیلیکون موجب کاهش میزان پرولین در گاوزبان اروپایی تحت تنش کادمیوم شد. در نتیجه، بیش‌ترین مقدار پرولین در تیمار کادمیوم با غلظت ۲۴۳ میکرومولار و کم‌ترین میزان آن در تیمار نانوسیلیکون بود که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. در زمان یک هفته بعد از اعمال تیمار، بین تیمار ۸۱ میکرومولار کادمیوم و تیمارهای نانوسیلیکون ۸۱+ میکرومولار کادمیوم و نانوسیلیکون + ۲۴۳ میکرومولار کادمیوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در زمان دو هفته بعد از اعمال تیمار، بین تمامی سطوح تیماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴). کاربرد خارجی سیلیکون سنتز اسمولیت‌های خاص از قبیل پرولین را تحریک کرده که الفاکندنه تحمل گیاهان علیه تنش‌های غیر زیستی است (Pei et al., 2010). در چندین پژوهش، کاهش میزان پرولین در گیاهان تحت تنش مانند *Nicotiana rustica* L. (Hajiboland and Cheraghvareh, 2014) و برنج (Lutts et al., 1999) در اثر تیمار سیلیکون گزارش شده است که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر در گاوزبان اروپایی مطابقت دارد.

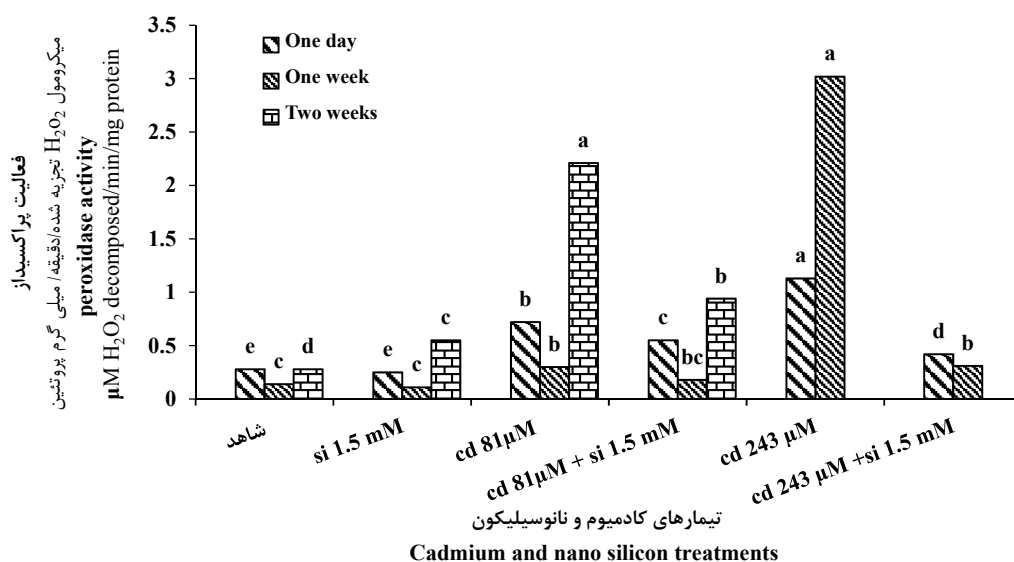
#### میزان پروتئین محلول برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که یک روز و یک هفته بعد از اعمال تنش میزان پروتئین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار کادمیوم، تیمار نانوسیلیکون و اثر متقابل کادمیوم×نانوسیلیکون قرار گرفت (جدول ۱ و ۲). همچنین نتایج تجزیه واریانس دو هفته بعد از اعمال تنش نشان داد که اثر تیمار کادمیوم و تیمار نانوسیلیکون در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل کادمیوم×نانوسیلیکون بر میزان پروتئین معنی‌دار نبود (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین، با افزایش غلظت کادمیوم، میزان پروتئین محلول گیاه گاوزبان اروپایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان پروتئین محلول مربوط به تیمار شاهد و کم‌ترین میزان آن در تیمار کادمیوم با غلظت ۲۴۳ میکرومولار کادمیوم مشاهده شد (جدول ۴). تیمار نانوسیلیکون اثرات مخرب کادمیوم بر میزان پروتئین محلول را کاهش داد. به‌طوری‌که در هر سه زمان نمونه‌برداری پس از اعمال تیمار و در هر دو غلظت کادمیوم، استفاده از تیمار نانوسیلیکون باعث افزایش



در مدت زمان ۲۴ ساعت و یک هفته بعد از اعمال تیمار، با افزایش میزان غلظت کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزوده شد، به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار ۲۴۳ میکرومولار کادمیوم و کمترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به تیمار نانو سیلیکون و شاهد بود. در مدت زمان دو هفته بعد از اعمال تیمار نیز کمترین و بیشترین میزان آن به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار کادمیوم با غلظت ۸۱ میکرومولار بود (شکل ۱).

نانو سیلیکون مشاهده شد. در زمان یک هفته بعد از اعمال تنش به دلیل نقش سیلیکون در پاسخ به تنش فلزات سنگین، میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز در تیمار نانو سیلیکون + ۲۴۳ میکرومولار کادمیوم به طور معنی داری در مقایسه با تیمار کادمیوم در غلظت ۲۴۳ میکرومولار کاهش داشت. در زمان دو هفته بعد از اعمال تیمار، کمترین میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز مربوط به شاهد و نانو سیلیکون و بیشترین فعالیت آن مربوط به تیمار کادمیوم بود (جدول ۴).



شکل ۱. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز اندام هوایی گاوزبان اروپایی تحت تأثیر نانو سیلیکون و کادمیوم  
**Fig. 1. Comparison of activity of peroxidase enzyme in European borage under the influence of nano-silicon and cadmium**

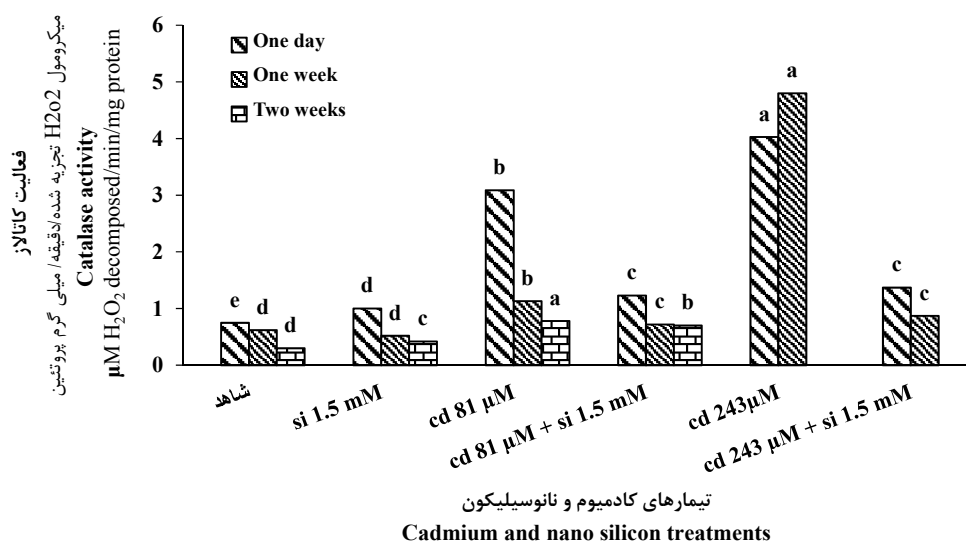
سطوح تیماری اختلاف معنی دار بود و با توجه به افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش کادمیوم بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب در تیمار کادمیوم و شاهد ثبت شد (شکل ۲).

افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در پاسخ به تنش‌های محیطی در گیاهان مختلفی گزارش شده است (Gallego et al., 2012; Hussain et al., 2012; Sheikhzadeh et al., 2020). افزایش سطح فعالیت آنتی-اکسیدان‌ها می‌تواند ROS تولید شده توسط فلزات سنگین را جاروب کرده و سبب حفاظت سلول از اثرات مخرب تنش اکسیداتیو شود که این امر تحمل گیاه به تنش‌های محیطی از جمله فلزات سنگین را افزایش می‌دهد (Ashraf et al.,

نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز نیز نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم فعالیت این آنزیم افزایش می‌یابد، به طوری که در مدت زمان ۲۴ ساعت بعد از اعمال تیمار، بیشترین فعالیت این آنزیم مربوط به تیمار کادمیوم در غلظت ۲۴۳ میکرومولار و کمترین میزان فعالیت آن در شاهد ثبت شد. در زمان یک هفته بعد از اعمال تیمار نیز بیشترین مقدار فعالیت این آنزیم در تیمار کادمیوم با غلظت ۲۴۳ میکرومولار و کمترین آن در تیمار نانو سیلیکون و شاهد مشاهده گردید. علاوه بر این بین تیمارهای تلفیقی نانو سیلیکون با تیمار کادمیوم در غلظت‌های ۸۱ و ۲۴۳ میکرومولار در هر دو زمان یک روز و یک هفته پس از اعمال تنش اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در مدت زمان دو هفته بعد از اعمال تیمار بین

نشان‌دهنده کاهش میزان تولید رادیکال‌های آزاد و بنابراین کاهش تخریب ناشی از تنش اکسیداتیو است؛ به عبارت دیگر، نتایج تحقیق حاضر در گیاه گاوزبان اروپایی پیشنهاد می‌کند که کاربرد نانوسیلیکون در این گیاه در معرض تنش کادمیوم، از طریق کاهش تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی و در نتیجه کاهش اثر تنش کادمیوم و کاهش تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد (مانند پراکسید هیدروژن) (جدول ۴)، احتمالاً به دلیل عدم نیاز سلول به فعالیت بیش‌ازحد این آنزیم‌ها، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را کاهش می‌دهد. در مطالعه مقدم‌علی و همکاران (Moghadam Ali et al., 2013) روی گیاه آفتابگردان نیز با کاربرد سیلیکون میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاه‌های تحت تنش کاهش یافته است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه گاوزبان اروپایی تحت تنش کادمیوم، سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرده و در حفاظت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تنش فلزات سنگین نقش ایفا می‌کنند. این نتایج با نتایج حاصل از گیاه *Solanum nigrum* L. (Liu et al., 2003) مطابقت دارد. در هر سه زمان نمونه‌برداری تیمار نانوسیلیکون باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش میزان فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه گاوزبان اروپایی شده است. گزارش شده که افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر به افزایش تولید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شوند (Hussain et al., 2012)؛ بنابراین، کاهش میزان فعالیت این آنزیم‌ها احتمالاً



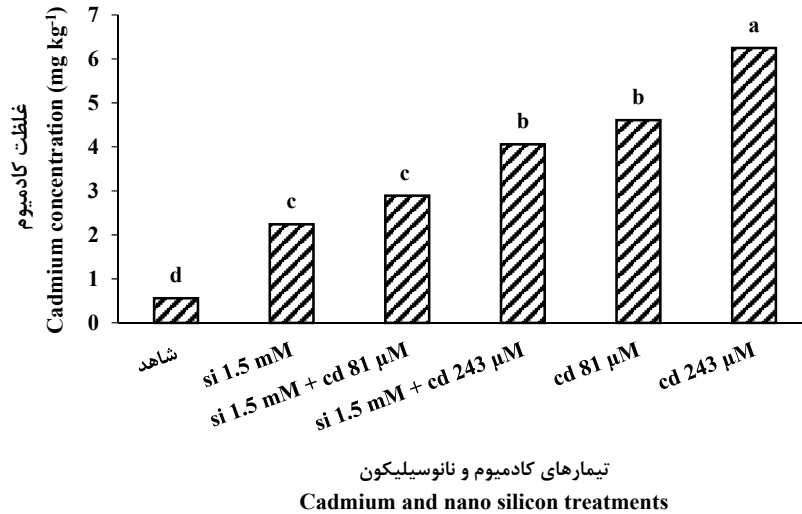
شکل ۲. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز اندام هوایی گاوزبان اروپایی تحت تأثیر نانوسیلیکون و کادمیوم

Fig. 2. Comparison of activity of catalase enzyme in European borage under the influence of nano silicon and cadmium.

معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش مقدار کادمیوم در محیط از ۸۱ به ۲۴۳ میکرومولار در یک هفته بعد از اعمال تنش، میزان تجمع کادمیوم در برگ گاوزبان اروپایی نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳).

#### میزان کادمیوم در گیاه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش کادمیوم، نانوسیلیکون و اثر متقابل بین آن‌ها بر میزان جذب و تجمع کادمیوم در برگ گاوزبان اروپایی در سطح احتمال یک درصد



شکل ۳. مقایسه میانگین غلظت کادمیوم برگ گاوزبان اروپایی تحت تأثیر نانوسیلیکون و کادمیوم در یک هفته بعد از اعمال تنش  
**Fig. 3. Comparison of the concentration mean of cadmium in borage leaves under the influence of nano-silicon and cadmium in one week after application of stress.**

(شکل ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان کادمیوم تجمع یافته در برگ گاوزبان اروپایی مربوط به غلظت ۲۴۳ میکرومولار کادمیوم و کمترین میزان آن در شاهد (بدون تنش کادمیوم) است (شکل ۳).

#### نتیجه‌گیری نهایی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در اثر کاربرد نانوسیلیکون تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاه گاوزبان اروپایی کاهش یافته و این امر باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه تنش اکسیداتیو می‌شود. به عبارت دیگر، استفاده از نانوسیلیکون از طریق کاهش جذب کادمیوم و تجمع آن در بافت‌های گیاه گاوزبان اروپایی باعث بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شده و اثرات مخرب تنش کادمیوم را کاهش می‌دهد. این عوامل در نهایت باعث بهبود رشد و بقای بهتر گیاه تحت شرایط تنش کادمیوم می‌شود. این کاهش در جذب و تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی از نظر سلامت محصولات کشاورزی و سلامت جوامع بشری نیز از اهمیت بالایی برخوردار است.

درواقع یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر میزان تجمع کادمیوم در گیاهان فتوسنتز است. سیلیکون می‌تواند باعث افزایش میزان فتوسنتز گیاهان مخصوصاً تحت تنش‌های مختلف شود. تجمع کادمیوم در گیاهان ارتباط مستقیمی با میزان کربوهیدرات‌های گیاه دارد که در طی فرایند فتوسنتز تولید می‌شود (Bain et al., 2016). باین‌حال استفاده از نانوسیلیکون در شرایط تنش کادمیوم از طریق حفظ ظرفیت فتوسنتزی و تنظیم جذب و انتقال کادمیوم به‌طور مثبتی باعث کاهش کادمیوم در گیاه می‌شود. در این پژوهش نانوسیلیکون میزان جذب و تجمع این فلز سنگین در بافت‌های هوایی گاوزبان اروپایی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. کاهش رشد از مهم‌ترین آثار سمیت کادمیوم به‌ویژه در غلظت‌های بالا در مورد گیاه مورد مطالعه محسوب می‌شود. افزایش معنی‌دار سطح غلظت کادمیوم ریشه با کاربرد غلظت بالای کادمیوم (Alizadeh Oskooi et al., 2009) با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

میزان تجمع کادمیوم در گیاهان رشد یافته در تیمارهای حاوی نانوسیلیکون نسبت به تیمار بدون کاربرد نانوسیلیکون + کادمیوم ۸۱ و ۲۴۳ به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است

#### منابع

Aksoy, M., Ssechln Dlnler, B., 2012. Changes in physiological parameters and some antioxidant enzymes activities of soybean (*Glycine max* L.

Merr.) leaves under cadmium and salt stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 8, 179-190.

- Alizadeh Oskooi, P., Ali Asgharzad, N., Shariatmedari, H., Asgharzadeh, S., 2009. The effect of two species of mycorrhizal fungi on reducing cadmium toxicity in tomato plants with different levels of phosphorus. *Journal of Soil Research (Soil and Water Sciences)*. 23, 15-29. [In Persian with English summary].
- Ashraf, M., 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*. 27, 84-93.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare. I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39, 205-207.
- Bian, Z.H., Cheng, R.F., Yang, Q.C., Wang, J., Lu. C.G., 2016. Continuous light from red, blue, and green light- emitting diodes reduces nitrate content and enhances phytochemical concentrations and antioxidant capacity in lettuce. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 141, 186-195.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254.
- Brecht, M., Krauss, A., Muhammad, S., Sinai Esfahani, L., Bellanca, S., Margrie, T.W., 2004. Organization of rat vibrissa motor cortex and adjacent areas according to cytoarchitectonics, microstimulation, and intracellular stimulation of identified cells. *Journal of Comparative Neurology*. 479, 360-373.
- Bienert, G.P., Schüssler, M.D., Jahn, T.P., 2008. Metalloids: essential, beneficial or toxic? Major intrinsic proteins sort it out. *Trends in Biochemical Sciences*, 33, 20-26.
- Chang, C.J., Koa, C.H., 1988. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism during senescence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regulation*. 25, 11-15.
- Clemens, S., Aarts, M.G., Thomine, S., Verbruggen, N., 2013. Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. *Trends in Plant Science*. 18, 92-99.
- Gallego, S.M., Pena, L.B., Barcia, R.A., Azpilicueta, C.E., Iannone, M.F., Rosales, E.P., Benavides. M.P., 2012. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*. 83, 33-46.
- Hajiboland, R., Cheraghvareh, L., 2014. Influence of Si supplementation on growth and some physiological and biochemical parameters in salt- stressed tobacco (*Nicotiana rustica* L.) plants. *Journal of Sciences*. 25, 205-217.
- Heath, R.L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Biochemistry Biophysics*. 125, 189-198.
- Hegedus, A.S., Horvath, G., 2001. Comparative studies of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress. *Plant Science*. 160, 1085- 1093.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station. 347p.
- Hossain, M.A., Piyatida, P., da Silva, J.A.T., Fujita, M., 2012. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. *Journal of Botany*. 32, 1-37.
- Hussain, I., Ashraf, M.A., Rasheed, R., Asghar, A. Sajid, M.A., Iqbal, M., 2015. Exogenous application of silicon at the boot stage decreases accumulation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. *Brazilian Journal of Botany* 38, 223-234.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S., 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. *Plant, Soil and Environment*. 54, 262-270.
- Kar, M., Mishra, D., 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*. 57, 315-319.
- Khan, M.H., Panda, S.K., 2008. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Plant Physiology*. 30, 81-89.
- Liu, D., Jiang, W., Gao, X., 2003. Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. *Biologia Plantarum*. 47, 79-83.

- Lutts, S., Majerus, V., Kinet, J.M., 1999. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. *Physiologia Plantarum*. 105, 450–458.
- Matejovic, I., Durackova, A., 1994. Comparison of microwave digestion, wet and dry mineralization, and solubilization of plant sample for determination of calcium, magnesium, potassium, phosphorus, sodium, iron, zinc, copper, and manganese. *Communications in soil science and plant analysis*. 25(9-10), 1277-1288.
- Moghadam Ali, M.A., Ramezani, A., Mansuri Far, S., Aslani, K.S., Moradi-Ghahderijani, M.M., Jamian, S.S., 2013. Application of silicon ameliorates salinity stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 6, 1367-1372.
- Mohsenzadeh, S., Shahrtash, M., Mohabatkar, H., 2011. Interactive effects of salicylic acid and silicon on some physiological responses of cadmium-stressed maize seedlings. *Iranian Journal of Science and Technology Transaction A- Science*. 201, 57-60.
- Pei, Z.F., Ming, D.F., Liu, D., Wan, G.L., Geng, X.X., Gong, H.J., Zhou, W.J., 2010. Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling. *Journal Plant Growth Regulation*. 29, 106-115.
- Rizwan, M., Ali, S., Rehman, M.Z., Rinklebe, J., Tsang, D.C., Bashir, A., Maqbool, A., Tack, F.M., Ok, Y.S., 2018. Cadmium phytoremediation potential of Brassica crop species: a review. *Science of the Total Environment*. 631, 1175–1191.
- Sheikhzadeh, P., Zare, N., Mahmoudi, F., 2020. The synergistic effects of hydro and hormone priming on seed germination, antioxidant activity and cadmium tolerance in borage. *Acta Botanica Croatica*. 80, <https://doi.org/10.37427/botcro-2021-007>
- Shi, G.R., Cai, Q.S., Liu, C.F., 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.
- Song, A., Li, Z., Zhang, J., Xue, G., Fan, F., Liang, Y., 2009. Silicon-enhanced resistance to cadmium toxicity in *Brassica chinensis* L. is attributed to Si-suppressed cadmium uptake and transport and Si enhanced antioxidant defense capacity. *Journal of Hazardous Materials*. 172, 74-83.
- Spurvey, S. A., Shahidi, F., 2000. Concentration of gamma linolenic acid (GLA) from borage oil by urea complexation: optimization of reaction conditions. *Journal of Food Lipids*, 7, 163-174.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 151, 59-66.
- Wang, L., Zhou, Q., Ding, L., Sun, Y., 2008. Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of *Solanum nigrum* L. *Journal of Hazard Mater*. 154, 818-825.
- Zofan, P., Nissi, E., Rastgarzade, S., 2019. Assessment of some growth indices and Cd accumulation in shoots and roots of *Malva parviflora* L. under hydroponic system. *Journal of Plant Research*, 31, 316-331.
- Zhu, G.X., Guo, Q.J., Xiao, H.Y., Chen, T.B., Yang, J., 2017. Multivariate statistical and lead isotopic analyses approach to identify heavy metal sources in topsoil from the industrial zone of Beijing capital iron and steel factory. *Environmental Science and Pollution Research*. 24, 14877–14888.