

نقش بیوجار و اسید سالیسیلیک بر کاهش تنش سرب در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)

آناهیتا تیموری^۱، علی اشرف امیری نژاد^{۱*} و مختار قبادی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۳۱)

چکیده

اصلاح خاک با بیوجار و کاربرد برگ‌گی اسید سالیسیلیک دو روش نوین کاهش اثرات فلزات سنگین بر رشد گیاهان هستند. به منظور بررسی آثار بیوجار بقایای کلزا و اسید سالیسیلیک بر کاهش تنش سرب در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه رازی انجام گرفت. فاکتورها شامل تیمارهای تنش سرب در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت نترات سرب)، بیوجار در سه سطح (۰، ۱ و ۳ درصد وزنی) و اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار) استفاده شد. نتایج نشان داد که تنش سرب اثر کاهنده‌ای بر تمام ویژگی‌های رشدی مریم گلی داشته است. برهم کنش تیمارها بر صفات پرولین، قندهای محلول و سرب اندام هوایی و ویژگی‌های رشدی گیاه مانند سطح برگ و حجم ریشه معنی‌دار بود ($p < 0/01$). بیش‌ترین مقدار پرولین (۲۵/۷ میلی‌مول بر گرم) و سرب (۴/۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوجار و اسید سالیسیلیک به دست آمد. همچنین بیش‌ترین غلظت قندهای محلول (۰/۴۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و شاهد بیوجار به دست آمد. به طور کلی اگرچه تنش سرب بر بیش‌تر ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاه تأثیر کاهشی داشت، اما کاربرد هم‌زمان بیوجار و اسید سالیسیلیک به عنوان یک راهکار ساده و کم هزینه توانست با افزایش غلظت پرولین و قندهای محلول، آثار منفی سرب بر گیاه مریم گلی را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، سرب، مریم گلی، ویژگی‌های رشدی.

مقدمه

آثار نامطلوب فیزیولوژیک و بیوشیمیایی سرب در گیاهان، ایجاد اختلال در فعالیت‌های آنزیمی، بهم زدن تعادل آبی و هورمونی، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و خسارت اکسیداتیو به غشاء است (۲۵). سرب همچنین از سنتز کلروفیل و فرایند فتوسنتز جلوگیری کرده و با کاهش تقسیم سلولی، موجب کاهش رشد طولی ریشه و ساقه می‌شود (۲۴).

آلودگی خاک با فلزات سنگین از مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی بوده که ضمن کاهش کیفیت خاک، خطر جدی برای امنیت غذایی و سلامت انسان است (۲۱). در بین این فلزات، سرب به دلیل دوام و پایداری در محیط زیست، بیش‌تر مورد توجه بوده و از نظر سمیت دومین فلز سنگین پس از آرسنیک است (۱۹). از مهم‌ترین

۱- گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه رازی

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه رازی

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: aliamirinejad@yahoo.co.uk

متنوع و امکان کشت در گستره وسیعی از خاک‌ها مورد توجه زارعین قرار گرفته است. بیوچار تهیه شده از بقایای کلزا ضمن اینکه پتاسیم قابل توجهی در اندام‌های هوایی خود دارد، به دلیل ساختار متخلخل، گروه‌های عاملی فعال و گنجایش تبادل کاتیونی زیاد، پتانسیل زیادی برای تثبیت فلزات سنگین در خاک دارد.

مریم گلی با نام علمی *Salvia officinalis* L با ارزش‌ترین گونه دارویی تیره نعنائیان (Lamiaceae) با ویژگی‌های درمانی قابل توجه است. مریم گلی در آب و هوای گرم و خشک و خاک‌های رسی حاصلخیز با نفوذپذیری مناسب به خوبی رشد می‌کند (۴۴). این گیاه ضد اسپاسم، آرام‌بخش، محرک کبد و عامل بهبود عملکرد دستگاه گوارش بوده و به‌عنوان یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی بی‌خطر دارای اهمیت اقتصادی و صنعتی است (۱۸).

مریم گلی به‌عنوان گیاه بومی ایران، در مناطق مختلف و از جمله حاشیه جاده‌ها و مراکز صنعتی، در سطح وسیعی از کشور کشت می‌شود. بنابراین، احتمال آلودگی خاک و تجمع سرب در بافت گیاهی آن وجود دارد. در این راستا، هدف از پژوهش حاضر، بررسی آثار برهمکنش بیوچار و اسید سالیسیلیک در کاهش آثار تنش سرب بر ویژگی‌های رشدی گیاه مریم گلی بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری خاک از لایه رویی (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر) زمین‌های کشاورزی دشت ماهیدشت کرمانشاه صورت گرفت. اندازه‌گیری ویژگی‌های خاک شامل تعیین بافت با روش هیدرومتر (۱۳)، pH و رسانایی الکتریکی (EC) به وسیله دستگاه pH متر و رسانایی‌سنج الکتریکی (۲۷)، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک (۶)، گنجایش تبادل کاتیونی (CEC) به روش استات آمونیوم (۲۷) و کربن آلی به روش اصلاح‌شده واکلی و بلاک (۴۹) صورت گرفت (۲۷). جدول (۱) ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده را نشان می‌دهد.

یکی از روش‌های مقابله با تنش فلزات سنگین، استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی است. اسید سالیسیلیک (ارتو هیدروکسی بنزوئیک اسید) یک ترکیب فنولی شبه‌هورمونی است که با اثرگذاری بر پارامترهای فیزیولوژیک، سازگاری گیاه در برابر تنش محیطی را افزایش می‌دهد (۴۶). به عقیده عباسی (۱) نقش اسید سالیسیلیک در کاهش آثار منفی فلزات سنگین بر رشد گیاهان، از طریق تأثیر بر بیوسنتز اتیلن است. این اسید از طریق افزایش پایداری غشاء سلولی (۳۲)، تغییر تعادل هورمونی (۴۱) و بی‌حرکی یون‌های فلزی (۳۱) نقش حفاظتی در برابر فلزات سنگین ایجاد می‌کند. علاوه بر این، اسید سالیسیلیک با افزایش فتوسنتز، کاهش تعرق و افزایش محتوای نسبی آب برگ موجب تقویت سیستم دفاعی و افزایش عملکرد گیاه (ریحان) شده است (۳).

یک راهکار نسبتاً نوین دیگر برای اصلاح خاک‌های آلوده با فلزات سنگین، کاربرد بیوچار است. بیوچار یک زیست‌توده کربنی است که از راه گرم‌ماکافت مواد آلی تولید می‌شود (۴۰). بیوچار به دلیل داشتن ساختار آروماتیک می‌تواند همانند یک جاذب قوی، آلاینده‌های خاک را جذب کند. به عبارتی، به دلیل حضور گروه‌های عاملی کربوکسیل، فنولیک و هیدروکسیل، بیوچار بر قابلیت جذب فلزات سنگین تأثیرگذار بوده و موجب تثبیت آن‌ها در خاک می‌شود (۲۰)؛ همچنین، اثر مثبت بیوچار بر پارامترهای رشدی گیاهان دارویی و از جمله وزن خشک بخش هوایی و ریشه زنیان (*Trachyspermum ammi*) گزارش شده است (۲۶). افزون بر این، بیوچار با اصلاح ویژگی‌های فیزیکی مانند خاکدانه‌ها، در بهبود کیفیت خاک برای رشد گیاهان مؤثر است (۲).

در چند دهه اخیر، مدیریت بقایای گیاهی و تبدیل آنها به بیوچار، به‌عنوان راهی پایدار و سازگار با محیط زیست، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. در این خصوص، یکی از گیاهان روغنی با بقایای مناسب کلزا (*Brassica napus*) است که توسعه و ترویج کشت آن در کشور به دلایل مختلف مانند مقاومت در برابر خشکی، سازگاری با شرایط آب و هوایی

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد بررسی.

Table 1. Some physical and chemical properties of the studied soil.

رس	سیلت	پ هاش	رسانایی الکتریکی	آهک	ماده آلی	گنجایش تبادل کاتیونی	سرب
Clay	Silt	pH	EC	CaCO ₃	SOC	CEC	Pb
(%)	(%)		(dS m ⁻¹)	(%)	(%)	(cmol _e kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)
41.0	42.6	7.7	0.5	26.5	0.39	11.5	0.17

جدول ۲. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بیوجار.

Table 2. The biochar physical and chemical properties.

26.4	(m ² g ⁻¹)	سطح ویژه	Surface area
8.9		پ هاش	pH
5.5	(dS m ⁻¹)	رسانایی الکتریکی	EC
3.91	(cmol _e kg ⁻¹)	سدیم	Na
2.34	(cmol _e kg ⁻¹)	پتاسیم	K
63.6	(cmol _e kg ⁻¹)	کلسیم	Ca
7.5	(cmol _e kg ⁻¹)	منیزیم	Mg
29.3	(%)	کربن آلی	OC
82.8	(cmol _e kg ⁻¹)	گنجایش تبادل کاتیونی	CEC

(کربنات‌های پتاسیم، کلسیم، منیزیم و سدیم) طی فرآیند گرماکافت بود (۷). رسانایی الکتریکی (EC) بیوجار تولیدی نیز ۵/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. دلیل زیادبودن EC، آزادشدن یون‌های معدنی در حین فرآیند گرماکافت است (۴)، به‌گونه‌ای که بر اساس نتایج، مقادیر سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم تبدلی به‌ترتیب برابر ۳/۹۱، ۲/۳۴، ۶۳/۶ و ۷/۵۱ cmol kg⁻¹ بود (جدول ۲). همچنین، دمای زیاد فرایند گرماکافت (۳۵۰ درجه سلسیوس) با ایجاد تعداد زیادی منافذ، موجب افزایش سطح ویژه (۲۶/۴ m² g⁻¹) و CEC (۸۲/۸ cmol kg⁻¹) بیوجار تولیدی نسبت به مواد آلی خام اولیه شد (۷).

خاک مورد نیاز گلدان‌ها به میزان ۸ کیلوگرم در گلدان‌هایی با گنجایش ۱۰ کیلوگرم (ابعاد ۳۰ سانتی‌متر ارتفاع، ۲۳ سانتی‌متر قطر دهانه و ۱۸ سانتی‌متر قطر کف) ریخته شد. برای سهولت زهکشی، مقداری پرلیت و پوکه معدنی در کف هر گلدان قرار داده شد. اعمال تیمار سرب یک ماه (۴ هفته) پیش از کاشت به‌صورت پاشیدن روی خاک هر گلدان و مخلوط‌کردن کامل آن با خاک انجام شد (۳۴). طی این مدت، ضمن بهم‌زدن مرتب و دائم

آزمایش به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه رازی (محیط بسته) انجام شد. فاکتورها شامل آلودگی سرب در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نمک نترات سرب)، اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) و بیوجار در سه سطح (۰، ۱ و ۳ درصد وزنی) بودند. مبنای انتخاب سطوح غلظتی در تیمارهای مختلف، نتایج پژوهش‌های مشابه بوده است.

ویژگی‌های بیوجار تولیدی

تولید بیوجار با استفاده از فرایند گرماکافت بقایای محصول کلزا در یک کوره با دمای نهایی ۳۵۰ درجه سلسیوس در شرایط کم‌هوازی صورت گرفت (۵۰). برای ایجاد شرایط کم‌هوازی در فرایند تولید بیوجار، نمونه‌ها در فویل‌های آلومینیومی قرار داده شد تا تامین اکسیژن به آن محدود شود. pH بیوجار تولیدی ۸/۹ و حالت قلیایی داشت. افزایش دمای گرماکافت به بیش از ۳۵۰ درجه سلسیوس سبب افزایش معنی‌دار pH بیوجار می‌شود. ماهیت قلیایی بیوجار به دلیل آزادشدن نمک‌های قلیایی

نمونه‌های خاک، آن‌ها را به حالت مرطوب نگه داشته و سپس تیمارهای بیوچار کاملاً با خاک‌ها مخلوط شد (۹). در هر گلدان پنج نشاء مریم گلی با فواصل یکسان به صورت دایره‌ای کاشته شد. پس از استقرار کامل گیاهان، در هر گلدان سه بوته را باقی گذاشته و بقیه تنک شدند. در مرحله ۴-۵ برگی، تیمار اسید سالیسیلیک به صورت اسپری برگی تا خیس شدن کامل سطح برگ‌ها صورت گرفت. تیمار شاهد با آب مقطر اسپری شد. برای جلوگیری از تبخیر محلول، تیمار اسید سالیسیلیک در هنگام غروب آفتاب انجام گرفت. این عملیات در سه مرحله با فاصله ده روز یک‌بار انجام شد.

در پایان مرحله رویشی گیاه (پیش از گلدهی، حدود ۲ ماه پس از شروع آزمایش)، غلظت قندهای محلول (۱۷)، پرولین (۱۱) و سرب اندام هوایی (۲۷) و نیز وزن خشک اندام هوایی و ریشه (خشک‌شده در آن با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت)، سطح برگ (با استفاده از کاغذ شطرنجی)، قطر ساقه هر بوته (توسط کولیس دیجیتالی) و حجم ریشه (با تغییر حجم آب در یک استوانه مدرج) تعیین شده و بر مبنای میانگین هر گلدان محاسبه شد (۱۰).

برای تعیین غلظت سرب، ۰/۵ گرم پودر خشک گیاهی را (با یک کروزه چینی) در کوره الکتریکی قرار داده و دمای کوره به تدریج به ۵۵۰ درجه سلسیوس رسانده شد. پس از ۶ ساعت، ۲/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ مولار به خاکستر حاصل افزوده و سپس محتویات را در یک بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری شده و با آب مقطر به حجم رسانیده شد (۲۷). غلظت سرب عصاره توسط دستگاه جذب اتمی (مدل AA220 شرکت Varian استرالیا) تعیین شد.

نتایج و بحث

برای اندازه‌گیری مقدار پرولین، در یک لوله آزمایش ۰/۵ گرم پودر خشک و ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک سه درصد افزوده شد. محتویات را ۴۸ ساعت در دمای محیط نگهداری کرده و سپس صاف شد. به یک میلی‌لیتر از محلول حاصل، یک میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک افزوده شد و برای مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه

مقدار پرولین اندام هوایی گیاه

بر اساس نتایج مقایسه میانگین، بیش‌ترین مقدار پرولین (۲۵/۷ میکرومول بر گرم) در تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، بدون بیوچار و اسید سالیسیلیک به‌دست آمد (شکل ۱). به عبارتی، تنش سرب موجب افزایش معنی‌دار پرولین در اندام‌های هوایی گیاه

برای تعیین غلظت قندهای محلول، به ۰/۵ گرم نمونه خشک گیاهی، ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد افزوده شد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. فاز مایع را به یک لوله آزمایش منتقل کرده تا اتانول آن تبخیر شود. ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به هر نمونه افزوده شد و به‌شدت تکان داده شد. ۱۰ میکرولیتر از نمونه را در یک فالتکون ریخته و به آن ۲۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۵ درصد فنول و ۱۲۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد افزوده شد. پس از تعادل دمایی، میزان جذب نوری در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شده و از روی منحنی استاندارد، غلظت قندهای محلول تعیین شد (۱۷).

تجزیه و تحلیل داده‌ها و آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن (در سطح پنج درصد) صورت گرفت.

آثار برهمکنش اسید سالیسیلیک، سرب و بیوچار بر صفات بیوشیمیایی و مرفولوژیک بخش هوایی مریم گلی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهم‌کنش اسید سالیسیلیک، سرب و بیوچار بر صفات بیوشیمیایی (پرولین، قندهای محلول و سرب) و نیز وزن تازه و خشک اندام هوایی ($p < 0/01$) و سطح برگ گیاه ($p < 0/05$) معنی‌دار بوده است (جدول ۳).

برای تعیین غلظت سرب، ۰/۵ گرم پودر خشک گیاهی را (با یک کروزه چینی) در کوره الکتریکی قرار داده و دمای کوره به تدریج به ۵۵۰ درجه سلسیوس رسانده شد. پس از ۶ ساعت، ۲/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ مولار به خاکستر حاصل افزوده و سپس محتویات را در یک بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری شده و با آب مقطر به حجم رسانیده شد (۲۷). غلظت سرب عصاره توسط دستگاه جذب اتمی (مدل AA220 شرکت Varian استرالیا) تعیین شد.

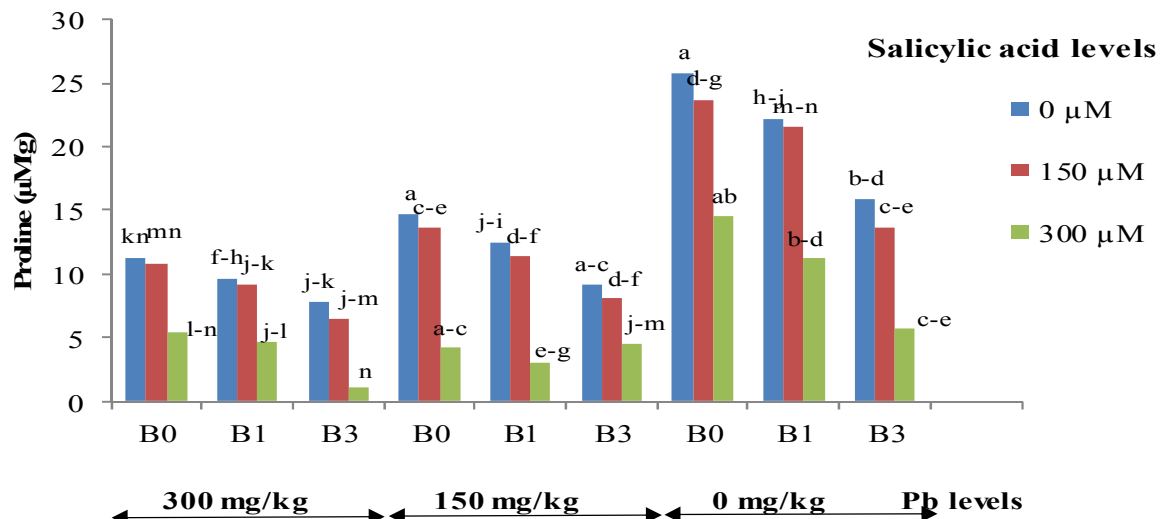
برای اندازه‌گیری مقدار پرولین، در یک لوله آزمایش ۰/۵ گرم پودر خشک و ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک سه درصد افزوده شد. محتویات را ۴۸ ساعت در دمای محیط نگهداری کرده و سپس صاف شد. به یک میلی‌لیتر از محلول حاصل، یک میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک افزوده شد و برای مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس آثار اسید سالیسیلیک (SA)، سرب (Pb) و بیوجار (BC) بر صفات بخش هوایی مریم گلی.

Table 3. Analysis of variance for the effects of salicylic acid (SA), lead (Pb) and biochar (BC) on characteristics of aerial parts of salvia.

منبع تغییرات	درجه آزادی	پروлін	قندهای محلول	غلظت سرب	وزن خشک برگ	سطح برگ
Source of variation (SOV)	df	Proline	Soluble sugars	Pb concentration	Leaf dry weight	Leaf area
SA (A)	2	1313.7**	0.99 ^{ns}	3.11**	5.93*	3368.2*
Pb (B)	2	267.8**	1.38*	3.56**	5.01*	3723.1*
BC (C)	2	79.7**	6.95**	30.6**	6.35*	3551.2*
A × B	4	38.6**	1.42**	3.94**	7.16*	1718.5 ^{ns}
A × C	4	57.7**	1.41**	2.83**	6.82**	3795.3**
B × C	4	8.99**	^{ns} 0.44	2.49**	7.69*	2197.4*
A × B × C	8	8.31**	2.90**	6.22**	6.01**	1943.2*
Error	54	1.04	0.32	0.16	1.56	778.8
CV	-	15.6	14.32	11.21	12.5	10.13

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی دار بودن و معنی داری در سطح پنج و یک درصد را نشان می دهد. ns, **, * represent non-significant and significant at the probability levels of 1 and 5%, respectively.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر برهمکنش سرب (Pb)، بیوجار (BC) و اسید سالیسیلیک (SA) بر مقدار پرولین مریم گلی؛ B1، B2 و B3 به ترتیب بیانگر کاربرد بیوجار در سطوح ۰، ۱ و ۳ درصد وزنی است. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

Fig. 1. Mean comparisons of interaction effect of lead (Pb), biochar (BC) and salicylic acid (SA) on proline content in salvia; B1, B2 and B3 represent BC application at 0, 1 and 3% by weight. Columns with similar letters are not significantly different (Duncan's test, $p < 0.05$)

به عبارتی، اهمیت این ماده در تحمل گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین، به دلیل نقش آن در محافظت از غشاءهای زیستی، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، تنظیم اسمزی و حفظ خودتعادلی اکسیداسیون و احیای سلول و نیز پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد است (۳۸).

مریم گلی شد. اشرف و فولاد (۸) نیز معتقدند که پرولین یکی از ترکیبات مهم سیستم دفاعی گیاهان است که در شرایط تنش فلزات سنگین به مقدار بیشتری تولید می‌شود. به گزارش مهدویان و همکاران (۲۹)، پرولین از طریق تنظیم اسمزی سلول و محافظت از پروتئین‌ها، نقش بسزایی در متابولیسم گیاهان تحت تنش سرب دارد.

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس آثار اسید سالیسیلیک (SA)، بیوچار (BC) و سرب (Pb) بر ویژگی‌های ریشه مریم گلی

Table 5. Analysis of variance for the effects of salicylic acid (SA), biochar (BC) and lead (Pb) on root characteristics of salvia

طول ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ریشه	درجه آزادی	منبع تغییرات
Root length	Root volume	Root dry weight	df	Sources of variation (SOV)
351.1**	1532.1**	1.24**	2	SA (A)
25.6*	1047.4*	5.31*	2	Pb (B)
30.7*	307.1*	5.13*	2	BC (C)
11.9 ^{ns}	253.0*	4.09*	4	A × B
20.3*	324.8**	5.32**	4	A × C
14.1 ^{ns}	211.6*	4.47*	4	B × C
16.1*	392.9**	5.29**	8	A × B × C
6.28	76.58	1.43	54	Error
9.46	11.10	7.32	-	CV

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌دار بودن و معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد را نشان می‌دهد.
ns, **, * represent non-significant and significant at the probability levels of 1 and 5%, respectively.

تحت تنش کمک می‌کند (۳۰). به عبارت دیگر، کاربرد بیوچار می‌تواند به‌عنوان یک روش مناسب برای کاهش آثار تنش فلزات سنگین و از جمله سرب در گیاهان باشد.

غلظت سرب اندام هوایی گیاه

بیش‌ترین غلظت سرب اندام هوایی گیاه مریم گلی (۴/۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و اسید سالیسیلیک به‌دست آمد (جدول ۴). مشابه این نتیجه، پاداش و همکاران (۳۴) گزارش کرده‌اند که افزایش سطوح سرب در خاک موجب زیاد شدن غلظت سرب اندام‌های هوایی کلزا شده است. مهم‌ترین اثر تخریبی سرب در گیاهان، القاء تنش‌های اکسیداتیو است که باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید می‌شود. این رادیکال‌ها به سرعت با DNA، چربی و پروتئین‌ها واکنش داده و موجب تخریب سلول می‌شوند. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد، از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند سوپراکسید دسموتاز و غیرآنزیمی مانند پرولین استفاده می‌کنند. آنتی‌اکسیدان پرولین با اتصال به سرب و تشکیل کمپلکس سرب-پرولین، موجب کاهش سمیت سرب در گیاه می‌شود (۲۵). کم‌ترین غلظت سرب (۰/۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیز در تیمار

کم‌ترین مقدار پرولین (۱/۱۳ میکرومول بر گرم) نیز در تیمار ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک، ۳ درصد بیوچار و شاهد سرب به‌دست آمد. به عبارتی، کاربرد اسید سالیسیلیک و بیوچار در خاک موجب کاهش مقدار پرولین اندام هوایی مریم گلی شد. مشابه این نتیجه، گزارش شده که کاربرد اسید سالیسیلیک با بهبود شرایط و از جمله تغذیه عناصر معدنی و یا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، به‌طور قابل توجهی موجب برطرف شدن آثار سمی سرب در گیاه کلزا شده است (۳۴). از طرف دیگر، نامگی و همکاران (۳۳) گزارش کرده‌اند که کاربرد بیوچار در خاک، از طریق برخی واکنش‌های فیزیولوژیک، آثار جانبی تنش سرب در گیاه ذرت را کاهش داده و تولید پرولین در گیاه کم شده است. همچنین، گزارش شده است که تیمار خاک با بیوچار، با بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک، تأثیر سمیت سرب بر گیاه تاج خروس را کاهش داده و در مجموع منجر به تقویت گیاه در شرایط تنش این عنصر شده است (۲۳). به‌نظر می‌رسد که تأثیر بیوچار بر غیرمتحرک کردن عناصر سنگین در خاک، به‌دلیل تشکیل کمپلکس این عناصر با کربنات، سولفات و فسفات موجود در بیوچار باشد (۳۵). علاوه بر این، بیوچار با جلوگیری از هدررفت مواد مغذی و حفظ رطوبت خاک به رشد گیاهان

روش سازگاری گیاه است که باعث تنظیم پتانسیل آب سلول در بخش سیتوزول برای مقابله با غلظت زیاد یون‌های تجمع یافته در واکوئل می‌شود. به عبارت دیگر، گیاه با تجمع قندهای محلول، ذخیره کربوهیدراتی خود برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط تنش را در حد مطلوب نگه می‌دارد (۲۸).

از طرف دیگر، در پژوهش حاضر، افزایش قندهای محلول در اثر تنش سرب و با حضور اسید سالیسیلیک مشاهده شد که نشان‌دهنده نقش این هورمون در کاهش آسیب‌های اکسایشی و افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش سرب است. به عبارتی، اسید سالیسیلیک نقش مؤثری در تعدیل شرایط تحملی تنش سرب داشت. گزارش شده که اسید سالیسیلیک با تعدیل و کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش، باعث افزایش غلظت قندهای محلول می‌شود (۳۶). به عبارتی، اسید سالیسیلیک بر اکثر واکنش‌های متابولسمی گیاه تأثیر گذاشته و موجب تغییر در آنها می‌شود. این تغییرات اغلب تحمل و سازگاری گیاهان را در برابر عوامل محیطی افزایش می‌دهد (۳۱).

کم‌ترین غلظت قندهای محلول (۰/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیز در تیمار ۳ درصد بیوجار و شاهد اسید سالیسیلیک و سرب به‌دست آمد (جدول ۴). به عبارتی، در پژوهش حاضر کاربرد بیوجار با بهبود وضعیت آبی گیاه، بر میزان قندهای محلول تأثیر منفی داشت. به عبارت دیگر، با توجه به اینکه در شرایط کم‌آبی میزان قندهای محلول در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد (۲۲)، بیوجار می‌تواند از طریق بهبود شرایط خاک، مانند افزایش رطوبت قابل دسترس و گنجایش نگهداری آب در خاک، به‌طور بالقوه‌ای محتوی نسبی آب برگ را افزایش دهد (۳۹).

سطح برگ گیاه

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین میزان سطح برگ (۲۰۵/۹ سانتی‌متر مربع) در تیمار ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک، ۳ درصد بیوجار و شاهد سرب به‌دست آمد (جدول ۴). بر اساس نتایج پژوهش میشرا و چودوری (۳۲) نیز با کاربرد اسید سالیسیلیک، ضمن کاهش آثار منفی سرب بر

۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک، ۳ درصد بیوجار و شاهد سرب به‌دست آمد. به عبارتی، کاربرد اسید سالیسیلیک و بیوجار در خاک موجب کاهش غلظت سرب اندام هوایی مریم گلی شدند. نقش اسید سالیسیلیک در کاهش غلظت سرب در اندام‌های هوایی کلزا توسط پاداش و همکاران (۳۴) گزارش شده است. به عبارتی، اسید سالیسیلیک یک پادزهر گیاهی است که با مهار فعالیت کاتالاز، سطوح پراکسید هیدروژن (H_2O_2) سلولی را افزایش می‌دهد. H_2O_2 نیز نقش سیگنال را در فرآیندهای انتقال بازی کرده و بسیاری از ژن‌های وابسته به مقاومت را در گیاهان فعال می‌کند (۴۸). به عبارتی می‌توان گفت که اسید سالیسیلیک یک مولکول پیام‌رسان طبیعی درگیر در پاسخ‌های دفاعی گیاه است که می‌تواند آثار سوء تنش سرب را کاهش دهد.

کاربرد بیوجار نیز نقش مؤثری در کاهش تنش سرب در گیاه مریم گلی داشته و دلیل آن می‌تواند تأثیر بیوجار در کاهش سرب قابل دسترس خاک و به تناسب آن کاهش جذب توسط ریشه و به‌دنبال آن کاهش غلظت سرب شاخساره باشد. نامگی و همکاران (۳۳) نیز ضمن بیان تأثیر بیوجار در کاهش فراهمی برخی از فلزات سنگین و از جمله سرب برای ریشه ذرت، علت کاهش غلظت عناصر سنگین در اندام هوایی گیاه با کاربرد بیوجار را تشکیل کلات فلز-ترکیب آلی در خاک می‌دانند.

قندهای محلول

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین غلظت قندهای محلول (۰/۴۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و بدون بیوجار به‌دست آمد (جدول ۴). مشابه این نتیجه، آلدوبی و بلتگ (۵) نیز گزارش کرده‌اند که افزایش سطوح سرب در خاک موجب زیاد شدن غلظت قندهای محلول در لوبیا شده است. به عقیده آن‌ها، حضور فلزات سنگین (مانند سرب) در منطقه ریزوسفر و ورود آن‌ها به گیاه، ضمن کاهش سرعت تنفس، بر متابولیسم سلولی (مانند متابولیسم قندها) اثر می‌گذارد. بنابراین، افزایش قندهای محلول در اغلب تنش‌های فلزات سنگین، یک

مثبت معنی دار داشته است. بی‌ریا و همکاران (۲) نیز نقش بیوچار (باگاس نیشکر) در افزایش پارامترهای رشدی ذرت تحت تنش سرب را به دلیل کاهش جذب سرب و انتقال آن به اندام هوایی گیاه دانسته و بنابراین با کاهش سمیت این عنصر، وزن خشک اندام هوایی گیاه افزایش یافته است. از سوی دیگر، بیوچار با بهبود ویژگی‌های فیزیکی خاک (مانند ساختمان خاک) و به دنبال آن اصلاح شرایط فیزیکی مانند تهویه و گنجایش نگه‌داشت آب، باعث افزایش رشد بخش‌های هوایی گیاهان می‌شود. همچنین، بیوچار کیفیت برخی از ویژگی‌های شیمیایی خاک مانند گنجایش تبادل کاتیونی و دسترسی به عناصر غذایی را افزایش داده تا گیاه رشد بهتری داشته باشد (۱۴).

همچنین، مشابه نتایج فوق، گزارش شده که اسید سالیسیلیک با افزایش فتوسنتز، کاهش تعرق، افزایش محتوای نسبی آب برگ و تقویت سیستم دفاعی، موجب بهبود شرایط رشد اندام هوایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L) شده است (۳).

از طرف دیگر، کم‌ترین وزن خشک اندام هوایی (۵/۰۷ گرم) نیز در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و اسید سالیسیلیک به دست آمد. پژوهش‌ها متعدد بیانگر کاهش رشد اندام‌های هوایی گیاهان تحت تأثیر تنش فلزات سنگین است. به عنوان مثال، دودا و همکاران (۱۵) گزارش کرده‌اند هنگامی که گیاه پنبه در معرض غلظت زیاد فلزات سنگین قرار گیرد، وزن اندام هوایی به دلیل آسیب به کلروفیل و کاهش فتوسنتز و یا افزایش پراکسیداسیون لیپیدها کاهش می‌یابد. به عقیده پوترز و همکاران (۳۷)، کاهش رشد گیاهان در اثر تنش فلزات سنگین، به دلیل اختلال در تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین است.

تأثیر بر همکنش اسید سالیسیلیک، سرب و بیوچار بر ویژگی-

های ریشه مریم گلی

نتایج تجزیه وایانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تیمارها (سرب × اسید سالیسیلیک × بیوچار) بر وزن تازه و خشک، حجم ($p < 0/01$) و طول ریشه ($p < 0/05$) معنی دار بوده است (جدول ۵).

ویژگی‌های مختلف رشدی گیاه برنج، میزان کلروفیل و سطح برگ گیاه تحت تنش افزایش پیدا کرد. مشابه همین نتایج، پاداش و همکاران (۳۴) نیز گزارش کرده‌اند که محلول‌پاشی ریحان با اسید سالیسیلیک باعث افزایش سطح برگ در شرایط تنش سرب می‌شود. به عبارتی، اسید سالیسیلیک با تنظیم درجه بازشدگی روزنه‌ها، موجب بهبود فتوسنتز، سرعت رشد گیاه و افزایش سطح برگ می‌شود (۱).

از طرف دیگر، بیوچار با ایجاد زمینه کاهش جذب و انتقال عناصر سنگین به بخش‌های مختلف گیاه، موجب افزایش پارامترهای رشدی و از جمله سطح برگ گیاه شد. به عبارتی، سطح ویژه و فضای درونی زیاد و نیز وجود سطوح قطبی و غیرقطبی باعث می‌شود تا بیوچار توانایی بیشتری برای جذب مولکول‌های آلی و عناصر سنگین داشته باشد (۴۵). همچنین توماس و همکاران (۴۷) نشان دادند که کاربرد بیوچار غلظت عناصر سنگین و از جمله سرب را در گیاهان مورد بررسی کاهش داده و در نتیجه آن، صفات مورفولوژیک مانند سطح برگ نسبت به تیمار شاهد (بدون بیوچار) افزایش یافت. بر اساس گزارش دونگ و همکاران (۱۶) نیز بیوچار با تثبیت عناصر سنگین در خاک، موجب کاهش قابلیت جذب و مقدار آنها در بافت‌های گیاهی می‌شود.

همچنین، کم‌ترین میزان سطح برگ نیز (۱۲۰/۲ سانتی‌متر مربع) مربوط به تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و اسید سالیسیلیک بود. مشابه این نتیجه، آلدوبی و بلنگ (۵) نیز گزارش کرده‌اند که افزایش سطوح سرب در خاک موجب کاهش سطح برگ در لوبیا شده است.

وزن خشک اندام هوایی

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی (۷/۱۲ گرم) در تیمار ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک، ۳ درصد بیوچار و شاهد سرب به دست آمد (جدول ۴). مشابه این نتایج، کارتر و همکاران (۱۴) نیز گزارش کرده‌اند که کاربرد بیوچار بر وزن خشک اندام هوایی کاهو اثر

جدول ۵. مقایسه اثر برهمکنش اسید سالیسیلیک (SA)، بیوجار (BC) و تنش سرب (Pb) بر ویژگی‌های گیاه مریم گلی

Table 5. Mean comparisons of interaction effects of salicylic acid (SA), biochar (BC) and Pb stress on characteristics of Salvia

وزن خشک ریشه	طول ریشه	حجم ریشه	وزن خشک برگ	سطح برگ	غلظت سرب	قندهای محلول	سطوح سرب	سطوح سالیسیلیک اسید	سطوح بیوجار
Root dry weight (g/pot)	Root length (cm/pot)	Root volume (cm ³ /pot)	Leaf dry weight (g/pot)	Leaf area (cm ² /pot)	Pb concentration (mg/kg)	Soluble sugars (mg/kg)	Pb level (mg/kg)	SA level (μmol/l)	BC level (%)
3.64 ^{ab}	22.3 ^{h-k}	28.8 ^{d-f}	5.46 ^{bcd}	158.9 ^{abc}	1.1 ^{i-m}	0.27 ^{a-d}	0		
3.47 ^b	19.5 ^k	18.6 ^{mn}	5.18 ^{cd}	145.1 ^{bc}	3.23 ^{bc}	0.31 ^{abc}	150	0	
3.32 ^b	12.8 ^l	11.4 ⁿ	5.07 ^d	120.2 ^c	4.36 ^a	0.35 ^{abc}	300		
3.87 ^{ab}	25.8 ^{e-i}	41.1 ^{e-k}	5.67 ^{a-d}	160.8 ^{abc}	0.93 ^{j-m}	0.31 ^{abc}	0		0
3.64 ^{ab}	20.6 ^{jk}	38.6 ^{l-k}	5.35 ^{bcd}	151.2 ^{abc}	2.72 ^{cd}	0.33 ^{abc}	150	150	
3.51 ^{ab}	19.4 ^k	30.4 ^{l-m}	5.13 ^d	136.0 ^{bc}	3.67 ^b	0.39 ^{ab}	300		
4.12 ^{ab}	29.5 ^{c-e}	58.6 ^{a-d}	6.32 ^{a-d}	174.6 ^{abc}	0.76 ^{klm}	0.32 ^{abc}	0		
3.71 ^{ab}	22.3 ^{h-k}	44.3 ^{d-k}	6.11 ^{a-d}	161.4 ^{abc}	2.16 ^{d-g}	0.38 ^{ab}	150	300	
3.62 ^{ab}	20.5 ^{jk}	33.1 ^{h-m}	5.65 ^{a-d}	150.3 ^{abc}	3.21 ^{bc}	0.41 ^a	300		
3.74 ^{ab}	24 ^{l-j}	37 ^{g-l}	5.66 ^{a-d}	159.6 ^{abc}	0.86 ^{j-m}	0.15 ^{bcd}	0		
3.57 ^{ab}	21.2 ^{ijk}	31.1 ^{l-m}	5.48 ^{bcd}	141.6 ^{bc}	2.74 ^{cd}	0.22 ^{a-d}	150	0	
3.41 ^b	19.8 ^k	21.6 ^{lmn}	5.34 ^{bcd}	134.7 ^{bc}	3.81 ^{ab}	0.30 ^{abc}	300		
4.27 ^{ab}	25.6 ^{e-i}	61.6 ^{abc}	6.36 ^{a-d}	167.6 ^{abc}	0.62 ^{lm}	0.23 ^{a-d}	0		
3.94 ^{ab}	22.3 ^{h-k}	49.8 ^{c-h}	5.98 ^{a-d}	154.1 ^{abc}	1.93 ^{e-h}	0.28 ^{a-d}	150	150	1
3.64 ^{ab}	20.4 ^k	36 ^{g-l}	5.74 ^{a-d}	146.5 ^{bc}	2.43 ^{de}	0.36 ^{abc}	300		
4.62 ^{ab}	31.1 ^c	68 ^{ab}	6.47 ^{a-d}	184 ^{ab}	0.36 ^m	0.22 ^{a-d}	0		
4.18 ^{ab}	30.8 ^{cd}	51.3 ^{c-g}	6.15 ^{a-d}	166.2 ^{abc}	1.56 ^{f-j}	0.28 ^{a-d}	150	300	
3.82 ^{ab}	27.3 ^{c-g}	46 ^{c-j}	5.81 ^{a-d}	158.6 ^{abc}	2.1 ^{d-g}	0.39 ^{ab}	300		
4.54 ^{ab}	25.1 ^{e-i}	54.6 ^{b-f}	6.42 ^{a-d}	164.4 ^{abc}	0.76 ^{klm}	0.04 ^d	0		0
4.27 ^{ab}	23.6 ^{g-k}	41.5 ^{e-k}	6.13 ^{a-d}	155.7 ^{abc}	2.16 ^{d-g}	0.19 ^{a-d}	150		
3.96 ^{ab}	21.8 ^{ijk}	32.6 ^{h-m}	5.85 ^{a-d}	141.4 ^{bc}	2.23 ^{def}	0.29 ^{abc}	300		
4.87 ^{ab}	37.3 ^b	63.2 ^{abc}	6.76 ^{ab}	177.2 ^{ab}	0.63 ^{lm}	0.17 ^{a-d}	0		
3.94 ^{ab}	29 ^{de}	55.3 ^{a-e}	6.48 ^{a-d}	162.6 ^{abc}	1.26 ^{h-l}	0.28 ^{a-d}	150	150	3
3.74 ^{ab}	26.3 ^{d-h}	36.4 ^{g-l}	6.14 ^{a-d}	146.2 ^{bc}	1.76 ^{e-i}	0.34 ^{abc}	300		
5.32 ^a	46.3 ^a	71.6 ^a	7.12 ^a	205.9 ^a	0.43 ^{g-k}	0.13 ^{a-d}	0		
4.88 ^{ab}	31.8 ^c	60.1 ^{a-d}	6.65 ^{abc}	180.3 ^{ab}	1.4 ^{g-k}	0.18 ^{a-d}	150	300	
4.22 ^{ab}	28.7 ^{c-f}	48.6 ^{c-i}	6.13 ^{a-d}	168.4 ^{abc}	2.16 ^{d-g}	0.27 ^{a-d}	300		

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

In each column, numbers with similar letters are not significantly different (Duncan's test, $p < 0.05$).

حجم و طول ریشه

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین حجم و طول ریشه (به ترتیب ۷۱/۶ سانتی‌متر مکعب و ۴۶/۳ سانتی‌متر) در تیمار ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک، ۳ درصد بیوجار و شاهد سرب به دست آمد (جدول ۴). به عبارتی، کاربرد اسید سالیسیلیک و بیوجار در خاک موجب افزایش حجم و طول ریشه مریم گلی شدند. مشابه این نتیجه در مورد تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بر افزایش رشد حجم و طول ریشه خیار توسط عباسی و همکاران (۱) گزارش شده است. به عقیده آن‌ها، اسید سالیسیلیک به عنوان یک هورمون گیاهی می‌تواند ضمن تحریک رشد ریشه، نقش مهمی در کاهش آثار منفی فلزات سنگین بر

حجم و طول ریشه داشته باشد. همچنین گزارش شده که بیوجار

نیز با تثبیت سرب یا اصلاح ویژگی‌های فیزیکی و حاصلخیزی خاک، موجب افزایش رشد پارامترهای ریشه ذرت می‌شود (۲). کم‌ترین حجم و طول ریشه (به ترتیب ۱۱/۴ سانتی‌متر مکعب و ۱۲/۸ سانتی‌متر) در تیمار شاهد بیوجار و اسید سالیسیلیک و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب به دست آمد. از آنجا که ریشه اولین اندامی است که در معرض تنش عناصر سنگین قرار می‌گیرد، غلظت زیاد این عناصر در خاک سبب می‌شود ریشه‌ها کوتاه، ضعیف و کم حجم شوند. حسین و همکاران (۲۴) نیز ضمن بیان تأثیر سرب بر کاهش حجم و طول ریشه گیاه بامیه (*Abelmos chusesculentus* L.)، گزارش

میلی گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و اسید سالیسیلیک به دست آمد. به عبارتی، وجود سرب در محیط ریشه، سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های ضروری و به دنبال آن کاهش فتوسنتز و رشد بخش‌های مختلف گیاهان و از جمله وزن خشک ریشه می‌شود (۴۲).

نتیجه گیری

بررسی نتایج بیانگر آثار منفی تنش سرب بر کلیه صفات رویشی گیاه مریم گلی و افزایش مقادیر پرولین و قندهای محلول بخش‌های هوایی گیاه بود. در برابر، کاربرد سطوح مختلف بیوچار و اسید سالیسیلیک توانست با افزایش پارامترهای رشدی اندام‌های هوایی و ریشه و نیز کاهش غلظت سرب و مقدار پرولین، آثار منفی سرب بر گیاه را کاهش دهد. به طور کلی می‌توان گفت که کاربرد همزمان بیوچار، به عنوان یک ماده آلی با قابلیت ماندگاری زیاد در خاک و اسید سالیسیلیک، به عنوان محرک و تنظیم کننده رشد گیاه، یک استراتژی ساده و کم هزینه در راستای کاهش آثار منفی سرب بر رشد گیاه دارویی مریم گلی و بهبود مقاومت این گیاه در برابر تنش سرب است.

کرده‌اند که با تجمع سرب در دیواره سلول‌های ریشه، انعطاف پذیری دیواره سلولی و رشد ریشه کاهش می‌یابد. به عبارتی، در فرایند و چرخه تقسیم سلولی در گیاهان، عناصر سنگین از انتقال مرحله اینترفاز به مرحله سنتز جلوگیری کرده و از این رو تقسیم سلولی و رشد گیاه متوقف می‌شود (۴۳).

وزن خشک ریشه

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین وزن خشک ریشه (۵/۳۲ گرم) در تیمار شاهد سرب، ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و ۳ درصد بیوچار به دست آمد (جدول ۴). به عبارتی، کاربرد اسید سالیسیلیک و بیوچار در خاک موجب افزایش وزن خشک ریشه مریم گلی شدند. مشابه این نتیجه، تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بر افزایش وزن خشک ریشه خیار (*Cucumis sativus* L.) توسط عباسی و همکاران (۱) گزارش شده است. همچنین گزارش شده که با کاربرد بیوچار در خاک، به دلیل کاهش اثر سمیت فلزات سنگین (مانند سرب)، از طریق تثبیت این عناصر و نیز عرضه بهتر عناصر غذایی، وزن زیست توده بخش هوایی و ریشه گیاهان افزایش می‌یابد (۳۵). کمترین وزن خشک ریشه (۳/۳۲ گرم) نیز در تیمار ۳۰۰

منابع مورد استفاده

1. Abbasi, F., Khaleghi, A., Khadivi, A., 2020. The effect of salicylic acid on physiological and morphological traits of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Gesunde Pflanzen* 72: 155–162.
2. Abdulwahhab, Q.R., Şeker, C., 2019. Effect of biochar applications on soil aggregation status. *International Soil Congress*, 17–19 June, Ankara, Turkey.
3. Aghlmand, S., Esmailpour, B., Jalilvand P., Heidari H., 2017. Effect of salicylic acid and paclobutrazole on growth and physiological traits of basil under stress conditions. *Process and Plant Function* 9: 35–44.
4. Ahmad, M., Lee, S.S., Dou, X., Mohan, D., Sung, J.K., Yang, J.E., Ok, Y.S., 2012. Effects of pyrolysis temperature on soybean stover-and peanut shell-derived biochar properties and TCE adsorption in water. *Bioresource Technology* 118: 536–544.
5. Aldoobie, N.F., Beltagi, M.S. 2013. Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. *African Journal of Biotechnology* 12(29): 4614–4622.
6. Allison, L.E., Moodie, C.D. 1965. Carbonate In: *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy Monograph 9.2. SSSA/ASA, Madison, WI, USA, pp. 907–1014.
7. Al-Wabel, M.I., Al-Omran, A., El-Naggar, A.H., Nadeem, M., Usman, A.R. 2013. Pyrolysis temperature induced changes in characteristics and chemical composition of biochar produced from conocarpus wastes. *Bioresource Technology* 131: 374–379.
8. Ashraf, M., Foolad M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206–216.

9. Baghaie, A., 2018. Interaction effect of municipal waste compost and pistachio residues biochar on decreasing cadmium stress in shallot. *Journal of Health and Hygiene* 9(3): 277–290. (in Persian with English abstract)
10. Balli, Z., Amirinejad, A.A., Ghobadi M., 2019. Salicylic acid and superabsorbent polymer interaction effects on yield and yield components in Mung bean (*Vigna radiata* Wilczek) under different water regimes. *Iranian Journal of Soil and Water Research* 50(5): 1193–1205. (in Persian with English abstract)
11. Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I. D., 1973 Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 29: 205–207.
12. Biria, M., Moezzi, A., Ameri Khah, H., 2016. Effect of sugarcane bagasse biochar on maize plant growth, grown in lead and cadmium contaminated soils. *Journal of Water and Soil* 31(2): 609–626.
13. Bouyoucos, C.J., 1962. Hydrometer method improved for making particle-size analysis of soil. *Agronomy Journal* 54(5): 464–465.
14. Carter, S., Shackley, S., Sohi, S., Suy, T., Haefele, S., 2013. The impact of biochar application on soil properties and plant growth of pot grown lettuce (*Lactuca sativa*) and cabbage (*Brassica chinensis*). *Agronomy* 3(2): 404–418.
15. Dauda, M.K., Variatha, M.K., Shafaqat, A., Najeeba, U., Jamilb, M., Hayat, Y., Dawooda, M., Khand, M.I., Zaffar, M., Cheemad, S.A., Tonga, X.H., Zhua, S., 2009. Cadmium-induced ultramorphological and physiological changes in leaves of two transgenic cotton cultivars. *Journal of Hazardous Materials* 168: 614–625.
16. Dong, X., Ma, L.Q., Zhu, Y., Li, Y., Gu, B., 2013. Mechanistic investigation of mercury sorption by Brazilian pepper biochars of different pyrolytic temperatures based on x-ray photoelectron spectroscopy and flow calorimetry. *Environmental Science and Technology* 47(21): 12156–12164.
17. Dubois, D., Gilleres, K.A., Hamilton, J.K., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350–356.
18. Eidi, M., Eidi, A., Zamanizadeh, H., 2005. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 310–313.
19. Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdorran, F., Xie, Y., 2015. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *The Scientific World Journal* 215: 1–18.
20. Enaime, G., Baçaoui, A., Yaacoubi, A., Lübken, M., 2020. Biochar for wastewater treatment conversion technologies and applications. *Applied Sciences* 10(10): 3492–3501.
21. Ferronato, N., Torretta, V., 2019. Waste mismanagement in developing countries: a review of global issues. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(6): 1060.
22. Fifaei, R., Fotouhi Ghazvini, R., Golein, B., Hamidoghli, Y., 2015. Effect of drought stress on proline, soluble sugars, malondialdehyde and pigments content in northern commercial Citrus rootstocks. *Journal of Crops Improvement* 17(4): 932–952. (in Persian with English abstract)
23. Habibi, H., Motesharezadeh, B., Alikhani, H., 2017. Effect of biochar and biological treatments on nutrient elements content (P, K, Ca, Mg, Fe and Mn) of Amaranthus in a polluted soil. *Iranian Journal of Soil and Water Research* 48(2): 369–384. (in Persian with English abstract)
24. Hussain, I., Siddique, A., Ashraf, M., Rasheed, R., Ibrahim, M., Iqbal, M., Akbar, S., Imran, M., 2017. Does exogenous application of ascorbic acid modulate growth, photosynthetic pigments and oxidative defense in okra (*Abelmos chusesculentus* L.) under lead stress? *Acta Physiologiae Plantarum* 39: 144–151.
25. Khan, I., Iqbal, M., Ashraf, M.Y., Ashraf, M.A., Ali, S., 2016. Organic chelates-mediated enhanced lead (Pb) uptake and accumulation is associated with higher activity of enzymatic antioxidants in spinach (*Spinace aoleracea* L.). *Journal of Hazardous Materials* 317: 352–361.
26. Khashei, A., Shahidi, A., Yaghoobzadeh, M., Dastourani, M., 2019. Effect of biochar application and water tension levels on yield and yield components of medicinal plant (*Trachyspermum ammi*.). *Iranian Journal of Irrigation and Drainage* 2(13): 319–328. (in Persian with English abstract)
27. Klute, A., 1986. Methods of Soil Analysis: Part 1, Physical and Mineralogical Methods,, Second Edition, SSSA/ASA, Madison, WI.
28. Kocal, N., Sonnewald, U., Sonnewald, S., 2018. Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction in tomato. *Plant Physiology* 148: 1523–36.
29. Mahdavian, K., Ghaderian, S.M., Schat, H., 2016. Pb accumulation, tolerance, antioxidants, thiols, and organic acids in metalicolous and non-metalicolous *Peganum harmala* L. under Pb exposure. *Environmental and Experimental Botany* 126: 21–31.
30. Major, J., Rondon, M., Molina, D., Riha, S.J., Lehmann, J., 2010. Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna Oxisol. *Plant and Soil* 333(1-2): 117–128.
31. Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., Dietz, K.J., 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley

- seedling. *Plant Physiology* 132: 272–281.
32. Mishra, A., Choudhuri, M., 1999. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane degradation mediated by lipixygenase in rice. *Biologia Plantarum* 42: 409–415.
33. Namgay, T., Singh, B., Singh, B.P., 2017. Influence of biochar application to soil on the availability of As, Cd, Cu, Pb, and Zn to maize (*Zea mays* L.). *Soil Research* 48(7): 638–647.
34. Padash, A., Ghanbari, A., Asgharipour, M.R., 2016. Effect of salicylic acid on concentration of nutrients, protein and antioxidant enzymes of basil under lead stress. *Iranian Journal of Plant Biology* 8(27): 17–32. (in Persian with English abstract)
35. Park, J.H., Choppala, G., Lee, S.J., Bolan, N., Chung, J.W., Edraki, M., 2013. Comparative sorption of Pb and Cd by biochars and its implication for metal immobilization in soils. *Water, Air and Soil Pollution* 224: 1–12.
36. Popova, L., Ananieva, V., Hristova, K., Christov, K., Georgieva, V., Alexieva, Z., 2003. Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquate oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology Special issue*: 133–152.
37. Potters, G., Pasternak, T.P., Guisez, Y., Palme, K.J., Jansen, M.A., 2007. Stress-induced morphogenic responses growing out of trouble? *Plant Science* 12: 98–105.
38. Rasheed, R., Ashraf, M.A., Hussain, I., Haider, M.Z., Kanwal, U., Iqbal, M., 2014. Exogenous proline and glycine betaine mitigate cadmium stress in two genetically different spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Brazilian Journal of Botany* 37: 399–406.
39. Safahani, A.R., Noora, R., 2018. Effect of different levels of biochar on physiological traits of pumpkin under water shortage stress. *Journal of Plant Environmental Physiology* 13(49): 13–32.
40. Schmit, M.W.L., Noack, A., 2000. Black carbon in soils and sediments: analysis, distribution, implications and current challenges. *Global Biogeochemical Cycles* 14: 777–793.
41. Shakirova, F., Sakhabutdinova, A., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A., Fatkhutdinova, D.R., 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science* 164(3): 317–322.
42. Sharma, P., Dubey, R.S., 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1): 35–52.
43. Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V.P., Prasad, S.M., 2015. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Frontiers in Plant Science* 6: 1143–1152.
44. Skoufogianni, E., Solomou, A., 2017. Ecology, cultivation, composition and utilization of *Salvia officinalis* L.: A review. *Journal of Agricultural Science* 6: 449–455.
45. Steiner, C., Glaser, B., Teixeira, W.G., Lehmann, J., Blum, W.E., Zech, W., 2008. Nitrogen retention and plant uptake on a highly weathered central Amazonian Ferralsol amended with compost and charcoal. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171: 893–899.
46. Taheri, F., Fathi, A., 2016. The impacts of mycorrhiza and phosphorus along with the use of salicylic acid on maize seed yield. *Journal of Crop Ecophysiology* 10(39): 657–668.
47. Thomas, S.C., Frye, S., Gale, N., Garmon, M., Launchbury, R., Machado, N., Winsborough, C., 2013. Biochar mitigates negative effects of lead on two herbaceous plant species. *Journal of Environmental Management* 129: 62–68.
48. Vernooij, B., Friedrich, L., Morse, A., Reist, R., Kolditzjawar, R., Ward, E., Uknes, S., Kessmann, H., Ryals, J., 1994. Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell* 6: 959–965.
49. Walkley, A., Black, I.A., 1934. Examination of the degtjareff method determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37(1): 29–38.
50. Wang, Z., Shen, D., Wu, C., Gu, S., 2018. State-of-the-art on the production and application of carbon nanomaterials from biomass. *Green Chemistry* 20: 5031–5057.



The Effects of Biochar and Salicylic Acid on Alleviation of Pb Stress in *Salvia* (*Salvia officinalis* L.)

A. Teymouri¹, A.A. Amirinejad^{2*} and M. Ghobadi³

(Received: 26 April 2021; Accepted: 21 May 2021)

Abstract

Amending soil with biochar (BC) and foliar application of salicylic acid (SA) are two new methods for reducing the effects of heavy metals on plant growth. To evaluate the effects of SA and BC made from rapeseed wastes on alleviation of lead (Pb) stress in salvia (*Salvia officinalis* L.), a factorial experiment was conducted in a complete randomized design with three replications in the greenhouse. The factors included Pb concentration at three levels (0, 150 and 300 mg/kg as Pb(NO₃)₂), BC at three levels (0, 1 and 3% by weight) and SA at three levels (0, 150, and 300 μM). The results showed that Pb stress reduced all growth characteristics of salvia, but the treatments interactions on the proline content, soluble sugars and Pb concentration and the most growth characteristics such as leaf area and root volume were significant ($p < 0.01$). The highest proline content (25.7 mmol/g) and Pb concentration (4.36 mg/kg) were obtained at 300 μg/kg of Pb, and BC and SA controls. Also, the highest concentration of soluble sugars (0.41 mg/kg) was found at 300 mg/kg of Pb, 300 μM SA and BC control. In general, although Pb stress had a decreasing effect on most morphological characteristics of salvia, but simultaneous application of BC and SA, as a simple and low-cost strategy, could reduce the negative effects of Pb by increasing proline and soluble sugars in the plant.

Keywords: Growth characteristics, Lead, Proline, Salvia.

Background and Objective: Heavy metals can accumulate in the soil because of their non-biodegradable nature. Among them, Pb is easily taken up by plant root and has 10 times more toxic effect than other heavy metals (4). Amending soil with biochar (BC) and plant application of salicylic acid (SA) are two new methods for reducing the deleterious effects of heavy metals on plant growth. They are cost-effective and environmentally friendly methods for removing heavy metals from the soil (2). The SA plays a vital role in increasing the resistance of plants to Pb stress (1). In the present study, the effect of sunflower BC and SA on reducing Pb-induced stress in salvia (*Salvia officinalis* L.) was evaluated.

Methods: The experiment was conducted as a factorial arrangement in completely randomized design with three replications in a greenhouse at Razi University, Iran. The factors included Pb at three levels (0, 150 and 300 mg/kg as Pb(NO₃)₂), BC at three levels (0, 1 and 3% by weight) and SA at three levels (0, 150, and 300 μM). Potting soil was mixed with Pb and BC treatments and salvia seedlings were transplanted into the pots.

1- Department of Soil Science and Engineering, Razi University.

2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Razi University.

* Corresponding Author, Email: aliamirinejad@yshoo.co.uk

At 4-5 leaf stage SA treatments were applied and repeated three times every ten days. Plant shoots and roots were harvested, and some parameters including plant height, shoots and roots dry weights, leaf area, root volume, concentration of soluble sugars and proline content were measured (3). All plant parameters were then averaged for each pot containing three plants. The Pb concentration in plant tissue extracts was determined by Varian AA220 atomic absorption spectrophotometer. The analysis of variance (ANOVA) and comparison of means (Duncan's multiple range test) were performed using SPSS-16 software.

Results: Results showed that the highest plant height, stem diameter, fresh and dry plant weights, leaf area, fresh and dry root weights, and root volume were observed at 300 μ M SA, 3% BC treatment, without Pb. Also, Pb stress reduced all growth characteristics of salvia, but the effects of treatments interactions on the proline content, soluble sugars and Pb concentrations and the most growth characteristics such as leaf area and root volume were significant ($p < 0.01$). The highest proline content (25.7 mmol/g) and Pb concentration (4.36 mg/kg) were obtained at 300 μ g/kg of Pb and BC controls. Besides, the highest concentration of soluble sugars (0.41 mg/kg) was recorded for treatment of 300 mg/kg of Pb, 300 μ M SA and BC control.

Conclusions: In general, although Pb stress had a decreasing effect on most morphological characteristics of the plant, the simultaneous application of BC and SA, as a simple and low-cost strategy, could reduce the negative effects of Pb in salvia by increasing proline and soluble sugars contents.

References:

1. Abbasi, F., Khaleghi, A., Khadivi, A., 2020. The Effect of salicylic acid on physiological and morphological traits of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Gesunde Pflanzen* 72: 155–162.
2. Abdulwahhab, Q.R., Şeker, C., 2019. Effect of biochar applications on soil aggregation status. *International Soil Congress*, 17-19 June, Ankara, Turkey.
3. Bates, L., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205–220.
4. Ferronato, N., Torretta, V., 2019. Waste mismanagement in developing countries: a review of global issues. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(6): 1060. <https://doi.org/10.3390/ijerph16061060>.