



Tolerance Indices, Germination and Transfer Efficiency of Seed Reserves in Foxtail Millet Seedlings (*Setaria italica* L.) as Affected by Cadmium and Polyvinyl Chloride Stresses

S. Nikoumaram¹ and A. Sepehri*

(Received: 5 December 2023; Accepted: 4 February 2024)

Abstract

Recently, with the rapid growth of industry and agriculture, the contamination of agricultural soils with the cadmium (Cd) and microplastic particles has become a serious issue. Simultaneous presence of microplastics and Cd in soil can cause various biological effects, especially in the early stages of plant growth. In this research, the effect of Cd stress in the presence of polyvinyl chloride (PVC) microplastic particles was investigated in the early stages of the growth of foxtail millet (*Setaria italica* L., cv. Bastan). The experiment was arranged in a factorial according to the completely randomized design with three replicates based on five concentrations of Cd (0, 50, 100, 150, and 200 μ M) and PVC microplastic (0, 1, 2, 4, and 6%). The studied traits included percentage and inhibition of germination, rate and mean germination time, seedling vigor index, weight of mobilized seed reserve, seed reserve utilization efficiency, seed reserve depletion percentage, relative seed germination, seedling toxicity level, germination tolerance index and root tolerance index. The results showed that both pollutants led to the decrease of most germination indices, however, certain concentrations of PVC with Cd stress improved the desired indices. So that germination percentage and seed reserve utilization efficiency in 200 μ M Cd concentration with 1% of PVC increased by 43.2 and 206%, respectively, compared to the concentration of 200 μ M Cd alone. The highest inhibition of germination percentage belonged to 200 μ M Cd concentration, which was reduced by 52.4% with the application of 1% microplastic. Although PVC microplastic particles had adverse effects on the germination process of foxtail millet seeds, but in the presence of Cd in the soil, low concentrations of PVC can have some moderating effects on Cd toxicity.

Keywords: Cadmium, Foxtail millet, Germination, Polyvinyl chloride, Seed reserve.

Background and Objective: Simultaneous contamination of soil with microplastics and heavy metals may pose a more severe threat to the soil and plants than the contamination of one of them alone (Wang et al., 2021). Due to their high adsorption capacity and carrier effect, microplastics can change the accessibility and toxicity of co-existing environmental pollutants in soil organisms and plants. Therefore, our objective was to investigate the possible effect of PVC and Cd on Cd toxicity, germination, and growth characteristics of seedlings.

1- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

* Corresponding author, Email: a_sepehri@basu.ac.ir

Methods: The factorial completely randomized design experiment with three replicates was conducted. The seeds disinfected with 5% hypochlorite were placed in a sterile petri dish with 20 ml of 0, 50, 100, 150, 200 μM Cd and 0, 1, 2, 4, and 6% PVC and were kept at 25°C for seven days. The seeds were counted once every 24 hours until the seventh day. Then, the root and shoot lengths were measured in centimeters. Each of the seedling parts was separated from each other, oven-dried at 70°C for 48 hours and weighed. Germination percentage, germination rate, seedling vigor index, mean germination time, weight of mobilized seed reserve, seed reserve utilization efficiency, seed reserve depletion percentage, root tolerance index, relative seed germination, germination tolerance index, seedling toxicity level and germination inhibition percentage were calculated. Data were analyzed through the SAS (v. 9.4) statistical program, and means values were compared by LSD test ($p < 0.05$).

Results: The effect of Cd and PVC on the examined traits was significant at the 1% probability level, except for the germination percentage, which was significant at the 5% probability level. The effect of Cd and PVC on the relative seed germination was not significant. The presence of PVC with Cd improved the percentage of germination, the mean germination time, and the seedling vigor index. The presence of microplastic decreased the adverse conditions of Cd stress and reduced the toxicity level and germination inhibition percentage. Heavy metals can be adsorbed by microplastic particles, which could reduce Cd adverse effects during germination (Yang et al., 2019). However, co-exposure of microplastic and Cd led to a decrease in germination rate. Duan et al. (2018) stated that the simultaneous presence of Cd and microplastic causes the accumulation of pollutants in plant cells and the intensification of oxidative stress, which leads to higher toxicity. The average germination time reduction in the presence of PVC under Cd stress. Due to the increased concentration of pollutants, disturbances were observed in the weight of mobilized seed reserve, seed reserve utilization efficiency, and seed reserve depletion percentage. Under the heavy metals stress, the starch mobility was reduced, and following the reduction of the mobility of seed reserves, the weight of the transferred seed reserves decreased (Seneviratne et al., 2019). Microplastics prevent water and nutrient absorption by the seeds, then delay germination and root growth (Bosker et al., 2019). The presence of microplastics moderated the adverse conditions of Cd stress and reduced the toxicity level, and germination inhibition percentage.

Conclusions: The PVC application moderated the Cd stress and improved the germination tolerance index as a crucial parameter of plant tolerance to stress. Therefore, despite the pollution of microplastic particles in the seed culture environment, our results demonstrated the reducing and balancing effects of PVC on Cd toxicity in foxtail millet seedlings, especially at low concentrations. However, this result needs more research, especially on other plants and in different concentrations of microplastics and Cd in different soils and it should not be considered as a positive effect of microplastics presence in the environment.

References:

1. Bosker, T., Bouwman, L.J., Brun, N.R., Behrens, P., Vijver, M.G., 2019. Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant *Lepidium sativum*. *Chemosphere* 226, 774–781. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.163>
2. Duan, C., Fang, L., Yang, C., Chen, W., Cui, Y., Li, S., 2018. Reveal the response of enzyme activities to heavy metals through in situ zymography. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 156, 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.015>
3. Seneviratne, M., Rajakaruna, N., Rizwan, M., Madawala, H.M.S.P., Ok, Y.S., Vithanage, M., 2019. Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: a critical review. *Environ. Geochem. Health* 41(4), 1813–1831. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0005-8>
4. Wang, F., Wang, X., Song, N., 2021. Polyethylene microplastics increase cadmium uptake in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by altering the soil microenvironment. *Sci. Total Environ.* 784, 147133. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147133>
5. Yang, J., Cang, L., Sun, Q., Dong, G., Ata-Ul-Karim, S.T., Zhou, D., 2019. Effects of soil environmental factors and UV aging on Cu^{2+} adsorption on microplastics. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26(22), 23027–23036. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05643-8>



بررسی شاخص‌های تحمل، جوانه‌زنی و کارایی انتقال ذخایر بذر در گیاهچه‌های ارزن دم روباهی (*Setaria italica* L.) تحت تنش کادمیم و پلی‌وینیل کلرید

سپیده نیکومرام^۱ و علی سپهری*

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۵)

چکیده

اخیراً با رشد سریع صنعت و کشاورزی، آلودگی خاک‌های زراعی به کادمیم (Cd) و ذرات پلاستیک به یک مسئله جدی تبدیل شده است. هم‌زمانی وجود میکروپلاستیک‌ها و Cd در خاک، می‌تواند آثار بیولوژیک متنوعی به‌ویژه در مراحل اولیه رشد گیاهان ایجاد کند. در این پژوهش اثر تنش Cd در حضور ذرات میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلرید (PVC) بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ارزن دم‌روباهی (*Setaria italica* L.) رقم باستان، مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار Cd و میکروپلاستیک PVC با مقادیر ۰، ۱، ۲، ۴ و ۶ درصد انجام شد. صفات درصد و مهار جوانه‌زنی، سرعت و میانگین زمان جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه، وزن ذخایر انتقال‌یافته بذر، کارایی انتقال و کارایی استفاده از ذخایر بذر، جوانه زنی نسبی، سطح سمیت گیاهچه، شاخص تحمل جوانه‌زنی و شاخص تحمل ریشه بررسی شد. نتایج نشان داد که هر دو آلاینده منجر به کاهش اغلب شاخص‌های جوانه‌زنی شدند، با این حال حضور PVC در غلظت‌های خاص همراه با تنش Cd منجر به بهبود شاخص‌های مورد نظر گردید. به‌طوری‌که درصد جوانه‌زنی و کارایی استفاده از ذخایر بذر در غلظت ۲۰۰ میکرومولار Cd به همراه ۱ درصد PVC به ترتیب به میزان ۴۳/۲ و ۲۰۶٪ نسبت به غلظت ۲۰۰ میکرومولار Cd افزایش یافت. بیش‌ترین درصد مهار جوانه‌زنی نیز مربوط به غلظت ۲۰۰ میکرومولار Cd بود که با مصرف ۱ درصد میکروپلاستیک ۵۲/۴٪ کاهش یافت. ذرات میکروپلاستیک PVC گرچه آثار نامطلوبی بر روند جوانه‌زنی بذور ارزن دم‌روباهی داشت ولی در حضور Cd در خاک، غلظت‌های کم PVC می‌تواند تا حدودی اثر تعدیل‌کننده بر سمیت Cd داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ارزن دم‌روباهی، پلی‌وینیل کلرید، جوانه‌زنی، ذخایر بذر، کادمیم.

مقدمه

در خاک می‌شوند (Arfaeina et al., 2019). سمیت این عناصر

به دلیل آثار مخرب بر محیط زیست و انسان مورد توجه ویژه قرار گرفته است (Riaz et al., 2021). برخی عناصر مانند

فلزات سنگین در اثر فعالیت‌های انسانی مانند کشاورزی و تولیدات صنعتی باعث انباشت در مقیاس بزرگ و ایجاد آلودگی

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: a_sepehri@basu.ac.ir

(2023).

ارزن دم‌روباهی (*Setaria italica* L. Beauv) یکی از مهم‌ترین غلات در جنوب اروپا و آسیا است که به‌عنوان گیاه مدل C4 برای پژوهش‌های بیولوژیک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Pant et al., 2016). این گیاه علاوه بر تولید محصول غذایی و علوفه‌ای، از فرسایش خاک جلوگیری کرده و تأثیر مثبتی بر تنوع زیستی دارد (Kolenčik et al., 2019). از این‌رو در این پژوهش اثر کادمیم و میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلرید بر برخی فاکتورهای جوانه‌زنی بذر و مراحل اولیه رشد گیاه ارزن دم‌روباهی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل پنج غلظت کادمیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار) در محدوده تحمل گیاه، با توجه به پیش‌آزمایش انجام‌شده و پژوهش‌های پیشین (Han et al., 2018) و پنج غلظت میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلرید (۰، ۱، ۲، ۴ و ۶ درصد) (Li et al., 2020) با قطر ذرات ۷۵ میکرون، انتخاب شد. بذر اصلاح‌شده ارزن دم‌روباهی (*Setaria italica* L.) رقم باستان از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. درصد رطوبت اولیه بذر بر پایه وزن تر با رابطه (۱) محاسبه شد (Ista, 2009):

$$(M1 - M2) / M2 \times 100 \quad (1)$$

در این رابطه M1 وزن بذر (بر حسب گرم) پیش از خشک‌کردن و M2 وزن بذر (بر حسب گرم) پس از خشک‌کردن است. برای آزمایش جوانه‌زنی، ۱۰۰ بذر ضدعفونی‌شده در پتری-دیش ۱۴ سانتی‌متری بر روی یک لایه کاغذ صافی استریل، قرار داده شده و به هر پتری دیش ۲۰ میلی‌لیتر از تیمارهای مورد نظر افزوده شد. بذرها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۷ روز در ژرمیناتور نگهداری شدند و مقدار رطوبت پتری‌ها

کادمیم بسیار سمّی بوده به‌طوری‌که جذب و تجمع آن‌ها در بافت‌های مختلف گیاهان زراعی، سلامتی انسان را تهدید می‌کنند (Rizwan et al., 2019). سیستم دفاعی گیاهان در معرض کادمیم به دلیل محتوای زیاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن مختل شده (Rizwan et al., 2019)، در نتیجه منجر به خسارات بیوشیمیایی و متابولیکی مانند اختلال در جوانه‌زنی، رشد، زیست‌توده، فتوسنتز و عدم تعادل در جذب آب و مواد غذایی حیاتی گیاه می‌شود (Riaz et al., 2021). جوانه‌زنی بذر به‌عنوان یکی از حساس‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه، بیش‌تر در معرض آلودگی فلزات سنگین قرار دارد؛ زیرا به دلیل عدم وجود مسیرهای دفاعی مناسب، عناصر سنگین مستقیماً با جنین در تماس بوده و در نهایت منجر به ظهور گیاهچه‌های غیرطبیعی می‌شود (Li et al., 2005).

از سوی دیگر میکروپلاستیک‌ها به‌عنوان آلاینده‌های نوظهور به دلیل وجود گسترده در محیط‌های مختلف، نگرانی‌های فزاینده‌ای را در سراسر جهان ایجاد کرده‌اند (de Souza Machado et al., 2018). بیش‌تر پژوهش‌ها درباره تأثیر میکروپلاستیک‌ها بر ویژگی‌های بیوشیمیایی، رشد و عملکرد گیاهان متمرکز شده‌اند، درحالی‌که تأثیر آن‌ها بر جوانه‌زنی بذر و مراحل اولیه رشد گیاه ناشناخته باقی مانده است (Sahasa et al., 2023). پلی‌وینیل کلرید به‌عنوان یکی از پلاستیک‌ها به‌طور گسترده در سراسر جهان استفاده می‌شود (Ye et al., 2017). از آنجایی‌که پلی‌وینیل کلرید به‌آسانی بازیافت نمی‌شود، اغلب پس از مصرف به محیط‌های زراعی وارد شده، و از لحاظ آلودگی خاک اهمیت خاصی دارد (Liu et al., 2020). میکروپلاستیک‌ها معمولاً با فلزات سنگین سمّی برهم‌کنش داشته و در نتیجه باعث آلودگی شدید در شرایط خاک می‌شوند (Cao et al., 2021). برهم‌کنش میکروپلاستیک‌ها با کادمیم ممکن است آثار مضر یا مفیدی بر گیاهان داشته باشد زیرا رفتار محیطی، فراهمی زیستی و سمّیت آن‌ها را تغییر می‌دهد (Wang et al., 2021). بنابراین برخی پژوهشگران به بررسی اثر میکروپلاستیک و کادمیم بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر پرداخته‌اند (Du et al.,

$$(9) \quad 100 \times \frac{\text{میانگین طول ریشه در تیمار}}{\text{میانگین طول ریشه در شاهد}} = \text{شاخص تحمل ریشه}$$

$$(10) \quad 100 \times \frac{\text{بذرهای جوانه‌زده در تیمار}}{\text{بذرهای جوانه‌زده در شاهد}} = \text{جوانه‌زنی نسبی بذر}$$

شاخص تحمل جوانه‌زنی

$$(11) \quad 100 / (\text{شاخص تحمل ریشه} \times \text{جوانه‌زنی نسبی بذر})$$

= سطح سمیت گیاهچه

$$(12) \quad 100 \times \frac{\text{طول ریشه‌چه شاهد} - \text{طول ریشه‌چه تیمار}}{\text{طول ریشه‌چه شاهد}}$$

= درصد مهار جوانه‌زنی

$$(13) \quad 100 \times \frac{\text{بذرهای جوانه‌زده شاهد} - \text{بذرهای جوانه‌زده از هر تیمار}}{\text{بذرهای جوانه زده شاهد}}$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (Ver. 9.4) انجام شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون حداقل اختلاف معنادار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر کادمیم و پلی‌وینیل کلرید بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد و رهم‌کنش آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد معنادار بود (جدول ۱). کاهش درصد جوانه‌زنی با افزایش غلظت کادمیم مشهود بود. کاهش جوانه‌زنی ممکن است به دلیل از دست دادن مواد مغذی ناشی از نشت مواد معدنی به دنبال تنش کادمیم باشد (Wani et al., 2007). میکروپلاستیک‌ها نیز می‌توانند در پوشش بذر تجمع نموده و مانع از جذب آب شده و در نتیجه از جوانه‌زنی بذر جلوگیری کنند (Ge et al., 2021). بیش‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی متعلق به تیمار شاهد با میانگین ۸۸/۱٪ بود و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی بذر متعلق به تیمار ۲۰۰ میکرومولار کادمیم با میانگین ۴۹/۳٪ بود (جدول ۲). برهم‌کنش کادمیم و میکروپلاستیک باعث افزایش درصد

روزانه کنترل گردید. شمارش بذور هر ۲۴ ساعت یک بار تا روز هفتم انجام گرفت. در پایان روز هفتم، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. سپس اندام مورد نظر به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سلسیوس خشک شده و با ترازوی دقیق (۰/۰۰۱ گرم) وزن شد. درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه (Ista, 1999)، میانگین زمان جوانه‌زنی (Ellis and Roberts, 1981)، وزن ذخایر انتقال‌یافته بذر، کارایی استفاده از ذخایر بذر، کارایی انتقال ذخایر بذر (Soltani et al., 2006)، شاخص تحمل ریشه، جوانه‌زنی نسبی بذر، شاخص تحمل جوانه‌زنی، سطح سمیت گیاهچه (Amooaghaie et al., 2015) و درصد مهار جوانه‌زنی (Pignattelli et al., 2020) بر اساس روابط (۲) تا (۱۳) محاسبه شدند:

= درصد جوانه‌زنی

$$(2) \quad 100 \times (\text{تعداد کل بذرها}) / (\text{تعداد بذرها جوانه‌زده})$$

= سرعت جوانه‌زنی

$$(3) \quad \frac{\text{تعداد بذر جوانه‌زده در شمارش اول}}{\text{تعداد روز شمارش اول}} + \dots + \frac{\text{تعداد بذر جوانه‌زده در شمارش آخر}}{\text{تعداد روز شمارش آخر}}$$

= شاخص بنیه گیاهچه

$$(4) \quad \text{میانگین طول گیاهچه (cm)} \times \text{جوانه‌زنی استاندارد (\%)} =$$

$$(5) \quad \text{میانگین زمان جوانه‌زنی بذور} = \frac{\sum NiDi}{N}$$

که در آن Ni تعداد بذر جوانه‌زده در روز i ام، N تعداد کل بذور جوانه‌زده و Di تعداد روز پس از شروع آزمایش است.

= وزن ذخایر انتقال‌یافته بذر

$$(6) \quad \text{وزن خشک بقایای بذر} - \text{وزن خشک اولیه بذر}$$

$$(7) \quad \frac{\text{وزن خشک گیاهچه}}{\text{وزن ذخیره بذر انتقال‌یافته}} = \text{کارایی استفاده از ذخایر بذر}$$

$$(8) \quad \frac{\text{وزن ذخایر انتقال‌یافته بذر}}{\text{وزن خشک اولیه بذر}} = \text{کارایی انتقال ذخایر بذر}$$

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برای صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بیه گیاهچه، میانگین زمان جوانه‌زنی، وزن ذخایر انتقال‌یافته و کارایی استفاده از ذخایر بذر ارزن دم‌روباهی

Table 1. Analysis of variance (mean squares) for the percentage and rate of germination, seedling vigor index, mean germination time, weight of mobilized seed reserve and seed reserve utilization efficiency in foxtail millet seed

کارایی استفاده از ذخایر بذر Seed reserve utilization efficiency	وزن ذخایر انتقال‌یافته بذر Weight of mobilized seed reserve	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	شاخص بیه گیاهچه Seedling vigor index	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه زنی Germination percentage	درجه آزادی df	منبع تغییرات Source of variation
0.34**	0.005**	1.08**	32.8**	3518**	1551**	4	کادمیم Cadmium (Cd)
0.01**	0.0003**	0.17**	5.08**	359**	308**	4	پلی‌وینیل کلرید Polyvinyl chloride (PVC)
0.007**	0.0004**	0.05**	1.01**	25.3**	53.4*	16	کادمیم × پلی‌وینیل کلرید Cd × PVC
0.001	0.0001	0.02	0.11	11.1	26.9	50	خطا Error
10	9.80	8.09	9.13	6.68	6.78	–	ضریب تغییرات CV(%)

* و ** به ترتیب بیانگر اثر معنادار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد است

* and ** indicate significant effect at the 5 and 1 percents of probability level, respectively

(Hemida, 2015).

همچنین بر اساس جدول (۲)، با افزایش غلظت پلی‌وینیل کلرید سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت؛ ولی کاهش سرعت جوانه‌زنی به دنبال افزایش غلظت پلی‌وینیل کلرید نسبت به افزایش غلظت کادمیم ناچیز بود. رسوبات میکروپلاستیک متصل به پوسته بذر می‌تواند جذب آب که اولین مرحله جوانه‌زنی است را به تأخیر بیندازد (Bosker et al., 2019). سرعت جوانه‌زنی بذر در تیمار کادمیم به همراه پلی‌وینیل کلرید کم‌تر از تیمار تنش کادمیم به تنهایی بود. احتمالاً این یافته به دلیل غلظت زیاد کادمیم و برهم‌کنش آن با میکروپلاستیک باشد. دوان و همکاران (Duan et al., 2018) نیز دریافتند حضور همزمان کادمیم و میکروپلاستیک باعث تجمع آلاینده‌ها در سلول‌های گیاه و تشدید تنش اکسیداتیو می‌شود.

جوانه‌زنی نسبت به تیمار کادمیم به تنهایی در تمام غلظت‌های مورد بررسی کادمیم شد. پلی‌وینیل کلرید توان زیادی در جذب کادمیم دارد که این امر می‌تواند مانع از آثار نامطلوب کادمیم بر جوانه‌زنی بذر شود (Guo et al., 2020).

سرعت جوانه‌زنی

نتایج نشان داد که اثر کادمیم، پلی‌وینیل کلرید و برهم‌کنش آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر سرعت جوانه‌زنی بذر معنادار است (جدول ۱). با افزایش غلظت کادمیم، سرعت جوانه‌زنی به صورت معناداری کاهش یافت به‌طوری‌که در غلظت ۲۰۰ میکرومولار کادمیم سرعت جوانه‌زنی به میزان ۳۹/۸٪ کم‌تر از غلظت ۵۰ میکرومولار کادمیم بود (جدول ۲). تنش کادمیم به شدت از تقسیم و رشد سلولی و تجمع زیست‌توده جلوگیری کرده و باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی می‌شود (Rady and

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بیه گیاهچه و میانگین زمان جوانه‌زنی بذری ارزن دهریاهی برای اثر برهم‌کنش کادمیم (Cd) و پلی‌وینیل کلراید (PVC)

میانگین زمان جوانه‌زنی (روز) Mean germination time (day)	شاخص بیه گیاهچه Seedling vigor index	سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذری جوانه زده در روز) Germination rate (N/day)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	پلی‌وینیل کلراید Polyvinyl chloride (PVC) (%)	کادمیم Cadmium (Cd) (μM)
1.47	6.60	80.6	90.6	0	
1.63	6.06	75.4	88.6	1	
1.74	5.65	70.4	87.6	2	0
1.95	5.87	65.9	86.6	4	
1.90	4.88	63.7	86.6	6	
1.97	3.06	66.5	82.0	0	
1.67	5.80	58.1	86.6	1	
1.68	4.67	56.5	84.6	2	50
1.72	4.47	55.2	83.3	4	
1.80	4.01	53.7	82.3	6	
2.18	2.79	52.0	63.6	0	
1.81	3.23	50.3	81.6	1	
1.91	3.32	48.3	80.6	2	100
1.93	2.87	46.7	79.6	4	
1.95	2.97	45.7	78.0	6	
2.28	2.25	43.9	59.6	0	
1.98	3.59	40.3	77.6	1	
2.10	3.48	39.5	74.6	2	150
2.09	3.40	38.2	73.6	4	
2.12	2.20	36.8	72.3	6	
2.74	0.78	40.9	49.3	0	
2.14	3.26	36.6	70.6	1	
2.25	2.49	33.6	66.3	2	200
2.34	2.47	30.6	63.3	4	
2.49	1.01	19.2	61.6	6	
0.26	0.54	5.48	8.50	-	LSD

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, numbers with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$).

شاخص بنیه گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر فلز سنگین کادمیم، پلی‌وینیل کلرید و برهم‌کنش آن‌ها بر شاخص بنیه گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۱). با افزایش غلظت کادمیم و پلی‌وینیل کلرید، شاخص بنیه گیاهچه کاهش یافت (جدول ۲). یکی از علل کاهش بنیه گیاهچه کاهش انرژی لازم بذر برای جوانه‌زنی در حضور عوامل تنش‌زا است (Abdul Baki and Anderson, 1973). به‌طور کلی فلزات سنگین منجر به کاهش شاخص بنیه گیاهچه می‌شوند (Valivand et al., 2019). زیرا در مرحله جذب آب برای جوانه‌زنی، نفوذ فلزات سنگین به درون بذر، از تقسیم سلولی جلوگیری کرده و در نهایت رشد گیاهچه را مختل می‌کند (Kranter and Colville, 2011). همچنین قرار گرفتن بذر در معرض غلظت‌های زیاد میکروپلاستیک سبب کاهش شاخص بنیه می‌شود که در نهایت تأخیر در جوانه‌زنی و کاهش رشد گیاهچه را به دنبال دارد (Sahasa et al., 2023). بذر در حضور غلظت‌های کم کادمیم به همراه پلی‌وینیل کلرید نسبت به حضور کادمیم تنها توان بیش تری برای جوانه‌زنی داشتند، البته با افزایش غلظت عوامل مورد بررسی، شاخص بنیه گیاهچه کاهش یافت. این یافته ممکن است به دلیل ویژگی پلاستیک پلی‌وینیل کلرید نسبت به سایر پلاستیک‌ها در انباشت فلزات سنگین باشد (Imran et al., 2019).

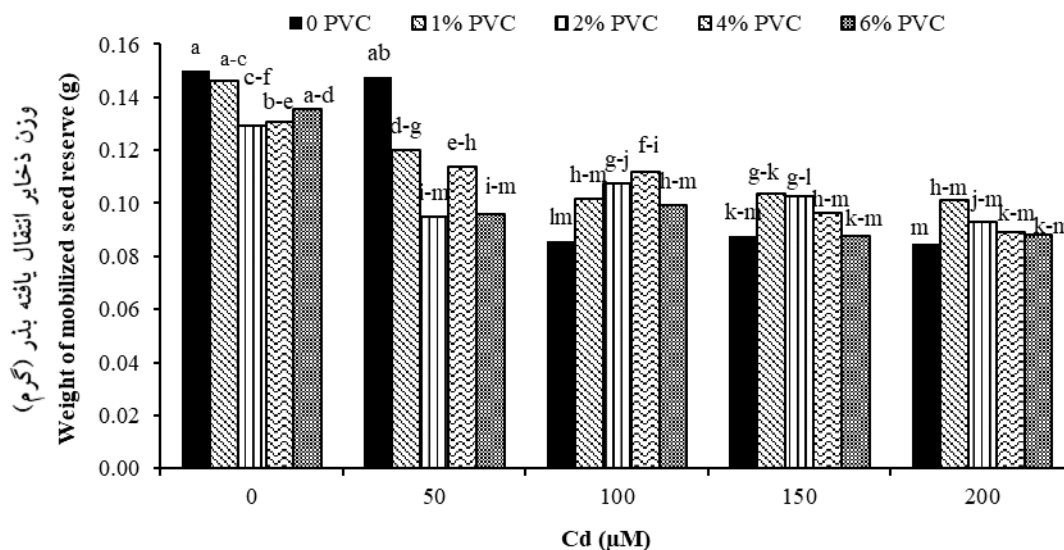
میانگین زمان جوانه‌زنی

میانگین زمان جوانه‌زنی بذر تفاوت معناداری در سطح احتمال یک درصد با قرار گرفتن در معرض پلی‌وینیل کلرید، کادمیم و برهم‌کنش دوگانه آن‌ها نشان داد (جدول ۱). با افزایش غلظت کادمیم و پلی‌وینیل کلرید، میانگین زمان جوانه‌زنی افزایش یافت، به‌طوری‌که بین غلظت‌های مختلف کادمیم و پلی‌وینیل کلرید (به‌غیر از ۱ درصد) با تیمار شاهد تفاوت معناداری وجود داشت (جدول ۲). کاهش سرعت جوانه‌زنی و افزایش زمان لازم برای جوانه‌زنی احتمالاً به دلیل وقفه‌ای است که در شروع

فرآیند جوانه‌زنی بذر تحت تنش ایجاد می‌شود. علت وقفه می‌تواند به دلیل ترمیم خسارت‌های وارد شده به غشاء و دیگر قسمت‌های سلول، همچنین آغاز مجدد فعالیت سیستم آنتی-اکسیدانی و جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو باشد که نیاز به زمان دارد. با وجود این‌که میکروپلاستیک جوانه‌زنی را به تأخیر می‌اندازد ولی می‌تواند آثار نامطلوب فلز سنگین را محدود کند. در منابع گزارش شده است که میکروپلاستیک‌ها فراهمی مواد مغذی را در چنین شرایطی افزایش داده و باعث بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌شوند (de Souza Machado et al., 2019).

وزن ذخایر انتقال یافته بذر

آثار کادمیم، پلی‌وینیل کلرید و برهم‌کنش دوگانه آن‌ها بر وزن ذخایر انتقال یافته بذر در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۱). پوشش بذر می‌تواند از تجمع زیاد آلاینده‌ها در بافت‌های ذخیره‌ای بذر جلوگیری کند، بنابراین پاسخ جوانه‌زنی به تنش فلزات سنگین را نمی‌توان تنها با توجه به میزان آلودگی در محیط جوانه‌زنی بذر در نظر گرفت، بلکه باید به تجمع مواد در بافت‌های ذخیره‌ای بذر توجه نمود (Ernst, 1998). با افزایش غلظت کادمیم و پلی‌وینیل کلرید، وزن ذخایر انتقال یافته بذر کاهش یافت (جدول ۲). بذر برای جوانه‌زدن به انرژی کافی مانند قندها و اسیدهای آمینه نیاز دارد؛ اما تحت تنش فلزات سنگین، از تحرک نشاسته کاسته شده، منابع غذایی محدود شده و وزن ذخایر انتقال یافته در بذر کاهش می‌یابد (Seneviratne et al., 2019). در شروع جوانه‌زنی، فرآیندهای متابولیک با جذب آب شروع شده و باعث افزایش تنفس و فعال شدن و تولید آنزیم‌ها می‌شود که به دنبال آن مواد ذخیره‌ای در بذر هضم شده و به جنین منتقل می‌شود (Bareke, 2018). همان‌طور که در شکل (۱) آمده است، وزن ذخایر انتقال یافته بذر در زمان مصرف پلی‌وینیل کلرید ۲ و ۴ درصد، تفاوت معنادار با شاهد دارد. بر اساس یافته‌های بوتس و همکاران (Boots et al., 2019)، در حضور آلاینده‌هایی مانند میکروپلاستیک‌ها



شکل ۱. وزن ذخایر انتقال یافته بذر در پاسخ به سطوح مختلف کادمیم (Cd) و پلی‌وینیل کلرید (PVC); ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

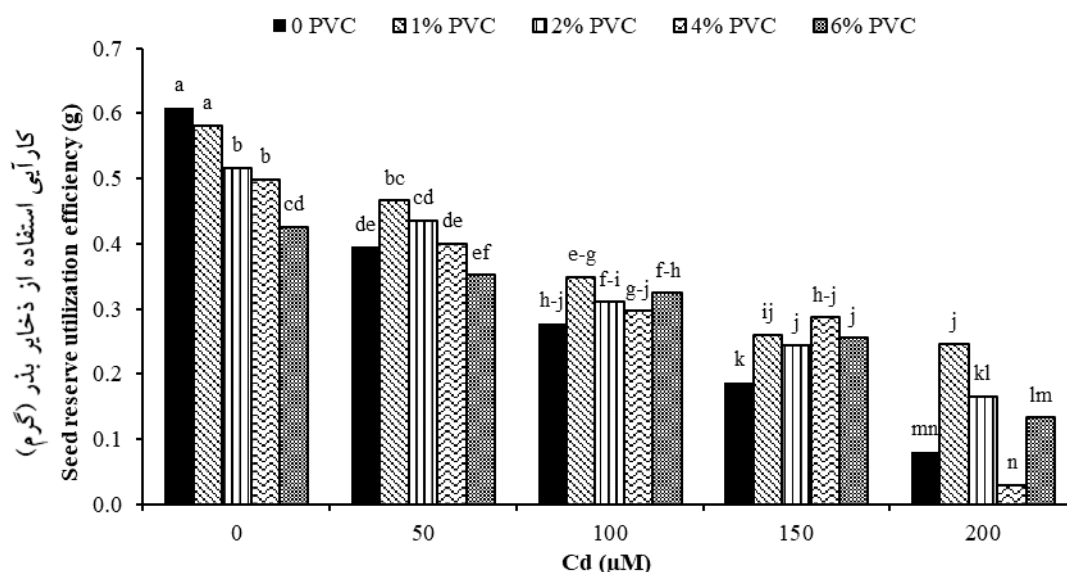
Fig. 1. The weight of mobilized seed reserve in response to different levels of cadmium (Cd) and polyvinyl chloride (PVC); Bars with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$).

غلظت‌های کادمیم و پلی‌وینیل کلرید (به غیر از ۱ درصد) به صورت انفرادی با شاهد دارای تفاوت معنادار بود. در پاسخ به سمیت کادمیم، بسیاری از سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی به منظور کاهش آثار مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهان فعال می‌شوند (Li et al., 2013). بنابراین به علت برهم‌خوردن فعالیت‌های آنزیمی، کارایی استفاده از ذخایر بذر کاهش می‌یابد. گزارش شده است که وجود آلاینده‌ها در محیط جوانه‌زنی، فعالیت آلفا-آمیلاز را مهار کرده و منجر به کاهش تجزیه قند-های محلول می‌شود. هم‌چنین در این شرایط اسیدهای آمینه آزاد کم‌تر می‌شود، که نشان‌دهنده آثار بازدارنده سمیت کادمیم بر انتقال پروتئین است (Lei et al., 2021). استفاده همزمان ۱۵۰ میکرومولار کادمیم و پلی‌وینیل کلرید ۶ درصد، منجر به افزایش ۳۶/۱٪ کارایی استفاده از ذخایر بذر نسبت به تیمار ۱۵۰ میکرومولار کادمیم شد (شکل ۲). بنابراین میکروپلاستیک‌های موجود در محیط می‌توانند به‌عنوان حامل فلزات سنگین عمل کنند، آن‌ها را جمع‌آوری کرده و از جذب آن‌ها توسط گیاهان جلوگیری کنند (Huang et al., 2021).

فعالیت درونی و میزان انتقال ذخایر بذر کاهش می‌یابد. در غلظت‌های کم کادمیم (۰ و ۵۰ میکرومولار)، استفاده همزمان کادمیم و پلی‌وینیل کلرید منجر به کاهش وزن ذخایر انتقال یافته بذر نسبت به کاربرد کادمیم تنهایی شد، درحالی‌که در غلظت-های بیشتر کادمیم تیمارهای ترکیبی با پلی‌وینیل کلرید میزان ذخایر انتقال یافته بیش‌تری نسبت به کاربرد کادمیم به تنهایی داشتند. پژوهش‌های اخیر نشان دادند بذرهای در معرض میکروپلاستیک، به دلیل افزایش قابل توجه جذب آب، بازسازی متابولیسم پایه را با سرعت بیش‌تری آغاز نموده و می‌توانند بر تنش کادمیم بیش‌تر غلبه نمایند (Lian et al., 2020).

کارایی استفاده از ذخایر بذر

آثار کادمیم، پلی‌وینیل کلرید و برهم‌کنش آن‌ها بر کارایی استفاده از ذخایر بذر در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۱). بر اساس شکل (۲) افزایش غلظت کادمیم و میکروپلاستیک منجر به کاهش کارایی استفاده از ذخایر بذر شد؛ به‌صورتی‌که کارایی استفاده از ذخایر بذر در تمامی



شکل ۲. کارایی استفاده از ذخایر بذر در پاسخ به سطوح مختلف کادمیم (Cd) و پلی‌وینیل کلرید (PVC); ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Fig. 2. Seed reserve utilization efficiency in response to different levels of cadmium (Cd) and polyvinyl chloride (PVC); Bars with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$).

کارایی انتقال ذخایر بذر

درصد دارای تفاوت معنادار با شاهد در کارایی انتقال ذخایر بذر بود، به‌طوری‌که به‌ترتیب کاهش ۱۳/۹ و ۱۳٪ در این شاخص را سبب شدند. از آنجایی‌که جوانه‌زنی بذر توسط سیگنال‌های درونی (عمدتاً هورمون‌های گیاهی) و سیگنال‌های بیرونی (عوامل محیطی) تنظیم می‌شود (Yang et al., 2020)، می‌توان گفت تجمع میکروپلاستیک‌ها روی منافذ پوسته بذر به‌عنوان سیگنال بیرونی باعث تأخیر در جوانه‌زنی شده است (Bosker et al., 2019). قابل ذکر است در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار کادمیم، بذوری که در معرض کادمیم و غلظت‌های مختلف پلی‌وینیل کلرید قرار داشتند دارای کارایی انتقال ذخایر بیش‌تری نسبت به کادمیم به تنهایی بودند. توان مناسب پلی‌وینیل کلرید برای نفوذ به پوسته بذر و افزایش تنظیم کانال‌های آب با تشکیل منافذ میکروسکوپی و آگیری بیش‌تر بذر در حضور کادمیم، می‌تواند منجر به بهبود جوانه‌زنی شود. به دنبال جذب آب بهتر، ذخایر موجود در بذر نیز با کارایی بیش‌تری منتقل می‌شوند (Mondal et al., 2022).

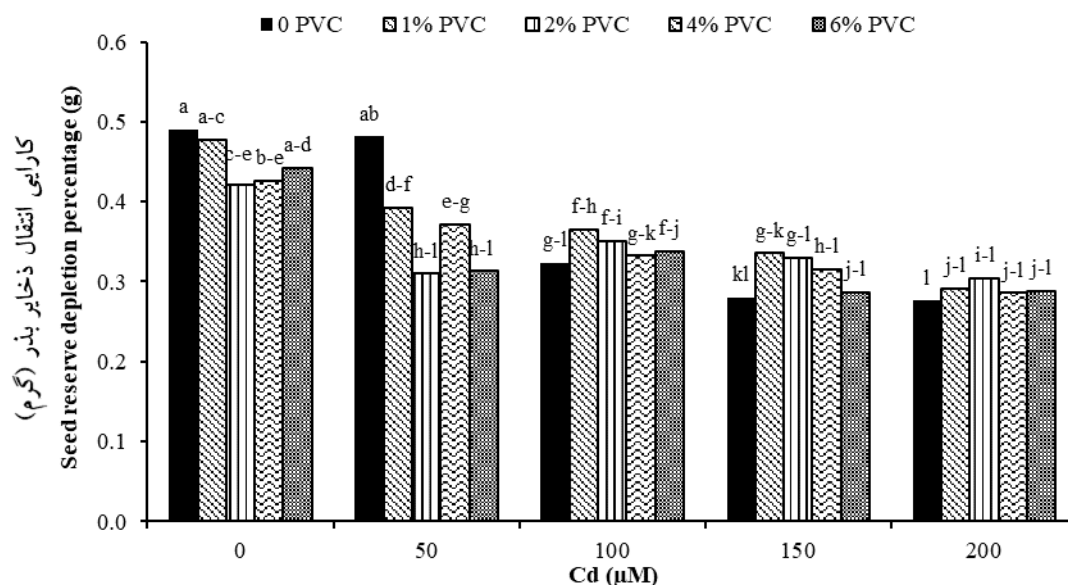
اثر کادمیم، پلی‌وینیل کلرید و برهم‌کنش آن‌ها بر کارایی انتقال ذخایر بذر در سطح احتمال یک درصد معنادار شد (جدول ۳). به دنبال افزایش غلظت کادمیم و پلی‌وینیل کلرید در محیط جوانه‌زنی، شاخص کارایی انتقال ذخایر موجود در بذر کاهش یافت (شکل ۳). مهار جوانه‌زنی بذر در شرایط تنش فلزات سنگین به دنبال تأثیر این فلزات بر انتقال ذخایر آلی و معدنی از لپه‌ها، کاهش فعالیت آلفا و بتا آمیلاز، اسید و آلکالین فسفاتاز رخ می‌دهد (Mabrouk et al., 2019). بنابراین آثار سمی فلزات سنگین ممکن است از راه تأثیر بر مهار جذب آب (Li et al., 2005)، یا اختلال در انتقال ذخایر بذر به دلیل اختلال در فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک باشد (Kranmer and Colville, 2011). نتایج برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد در حضور غلظت‌های زیاد فلزات سنگین، بذرها ممکن است جوانه بزنند اما رشد گیاهچه‌ها مختل می‌شود؛ که به عدم کارایی لازم برای انتقال ذخایر موجود در بذر مربوط می‌شود (Ozdener and Kutbay, 2009). پلی‌وینیل کلرید، تنها در غلظت‌های ۲ و ۴

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برای صفات کارایی انتقال ذخایر بذر، شاخص تحمل ریشه، جوانه‌زنی نسبی بذر، شاخص تحمل جوانه‌زنی، سطح سمیت گیاهچه و درصد مهار جوانه‌زنی بذر ارزن دمر و باهی

Table 3. Analysis of variance (mean squares) for the seed reserve depletion percentage, root tolerance index, relative seed germination, germination tolerance index, seedling toxicity level and inhibition percentage of seed germination in foxtail millet seed

درصد مهار جوانه‌زنی Inhibition percentage of seed germination	سطح سمیت گیاهچه Seedling toxicity level	شاخص تحمل جوانه‌زنی Germination tolerance index	جوانه‌زنی نسبی بذر Relative seed germination	شاخص تحمل ریشه Root tolerance index	کارایی انتقال ذخایر بذر Seed reserve depletion percentage	درجه آزادی df	منبع تغییرات Source of variation
1890**	10899**	12035**	344**	12021**	0.06**	4	کادمیم Cadmium (Cd)
387**	629**	888**	153**	854**	0.004**	4	پلی وینیل کلرید Polyvinyl chloride (PVC)
63.6**	128**	183**	30.7 ^{ns}	161**	0.004**	16	کادمیم × پلی وینیل کلرید Cd × PVC
1.23	18.1	10.8	36	10.8	0.001	50	خطا Error
7.39	9.20	6.52	6.72	5.98	9.67	-	ضریب تغییرات CV(%)

*, **, ^{ns} and ^{ns} indicate significant effect at the 5 and 1 percents of probability level, and non-significant effect, respectively



شکل ۳. کارایی انتقال ذخایر بذر در پاسخ به سطوح مختلف کادمیم (Cd) و پلی‌وینیل کلرید (PVC)؛ ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Fig. 3. Seed reserve depletion percentage in response to different levels of cadmium (Cd) and polyvinyl chloride (PVC); Bars with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$).

شاخص تحمل ریشه

اثر کادمیم، پلی‌وینیل کلرید و برهم‌کنش آن‌ها بر شاخص تحمل ریشه در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۳). چون ریشه‌ها مستقیماً در معرض عوامل تنش‌زا قرار می‌گیرند، حضور آلاینده‌ها در محیط جوانه‌زنی باعث کاهش شاخص تحمل ریشه شد، و با افزایش غلظت کادمیم و میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلرید روند کاهشی در این شاخص مشاهده شد (جدول ۴). کم‌ترین شاخص تحمل ریشه مربوط به غلظت ۲۰۰ میکرومولار کادمیم بود، که نسبت به غلظت ۵۰ میکرومولار کادمیم ۸۰٪ کاهش نشان داد. کادمیم تأثیر مستقیم بر جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه‌چه دارد (Bouziani et al., 2019). میکروپلاستیک‌ها نیز اثر منفی خود را عمدتاً بر رشد ریشه بر جای می‌گذارند؛ چرا که رشد ریشه برای رشد مطلوب گیاه بسیار مهم است (Li et al., 2021). شاخص تحمل ریشه تحت تأثیر پلی‌وینیل کلرید ۶ درصد، نسبت به شاهد ۱۰/۴٪ کاهش یافت. غلظت زیاد میکروپلاستیک در مرحله جوانه‌زنی بذور تأثیر منفی چشم‌گیری بر پارامترهای رشدی ریشه مانند طول،

وزن، تعداد، زیست‌توده، و زنده‌مانی سلول‌های آن دارد (Li et al., 2021). در تیمار ۲۰۰ میکرومولار کادمیم و پلی‌وینیل کلرید ۴ درصد، شاخص تحمل ریشه به میزان ۱۳۱٪ بیش‌تر از زمانی بود که بذور در معرض ۲۰۰ میکرومولار کادمیم به تنهایی قرار گرفتند. یانگ و همکاران (Yang et al. 2019) دریافتند فلزات سنگین می‌توانند توسط ذرات میکروپلاستیک جذب شوند، و به همین دلیل ممکن است از آثار منفی آن‌ها در زمان جوانه‌زنی کاسته شود.

جوانه‌زنی نسبی بذر

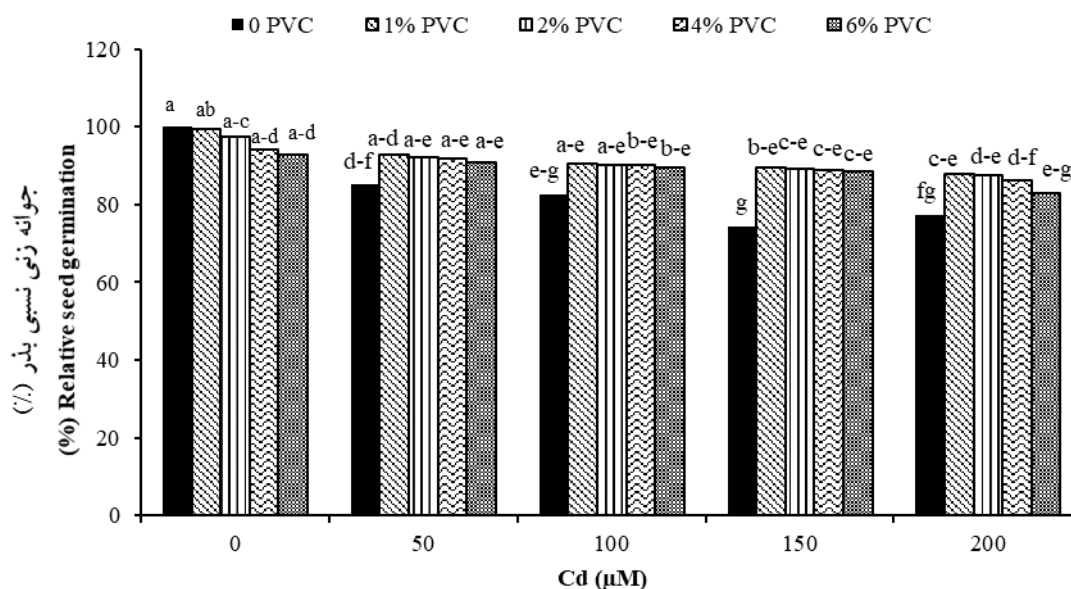
نتایج نشان داد اثر اصلی کادمیم و میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلرید بر جوانه‌زنی نسبی بذر در سطح احتمال یک درصد معنادار بود ولی اثر برهم‌کنش آن‌ها بر صفت مورد بررسی معنادار نشد (جدول ۳). به‌طور کلی استفاده از کادمیم و پلی‌وینیل کلرید در محیط جوانه‌زنی بذور ارزش دم‌رو باهی منجر به کاهش جوانه‌زنی نسبی بذر گردید. این روند کاهشی به دنبال افزایش غلظت آلاینده‌ها ادامه داشت (شکل ۴). بین غلظت‌های

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های شاخص تحمل ریشه، شاخص تحمل جوانه‌زنی، سطح سمیت گیاهچه و درصد مهار جوانه‌زنی در بذری در برهم‌کش کادمیم (Cd) و پلی‌وینیل کلرید (PVC)

درصد مهار جوانه‌زنی Inhibition percentage of seed germination	سطح سمیت گیاهچه (%) Seedling toxicity level (%)	شاخص تحمل جوانه‌زنی (%) Germination tolerance index (%)	شاخص تحمل ریشه (%) Root tolerance index (%)	پلی‌وینیل کلرید Polyvinyl chloride (PVC) (%)	کادمیم Cadmium (Cd) (μM)
0	0	100	100	0	
1.46	6.68	96.7	97.4	1	
2.59	9.40	94.1	96.6	2	0
3.70	12.3	85.0	90.4	4	
3.70	13.3	83.2	89.5	6	
8.88	45.6	46.0	54.0	0	
4.37	22.7	86.4	93.0	1	
5.92	19.0	71.1	77.2	2	50
7.40	32.9	62.0	67.7	4	
8.51	66.1	51.7	57.0	6	
29.2	46.7	27.9	33.8	0	
9.25	46.8	46.5	51.4	1	
10.3	48.5	48.0	53.2	2	100
11.4	49.5	48.3	53.6	4	
13.3	49.5	47.5	53.1	6	
33.7	73.5	19.7	26.4	0	
13.3	51.3	45.0	50.4	1	
17.0	57.3	38.0	42.6	2	150
18.1	58.1	35.6	40.0	4	
19.6	59.9	37.0	41.8	6	
45.1	89.2	8.43	10.7	0	
21.4	69.1	27.0	30.8	1	
26.2	73.6	22.9	26.3	2	200
29.6	75.1	21.4	24.8	4	
31.4	87.2	10.7	12.7	6	
1.82	6.99	5.39	5.40	-	LSD

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, numbers with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$).



شکل ۴. جوانه زنی نسبی بذر در پاسخ به سطوح مختلف کادمیم (Cd) و پلی وینیل کلرید (PVC)؛ ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Fig. 4. Relative Seed germination in response to different levels of cadmium (Cd) and polyvinyl chloride (PVC); Bars with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$).

تحمل گیاه به سمّیت محیطی را ارائه می‌دهد (Amooaghaie et al., 2015). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد در حضور کادمیم و پلی وینیل کلرید، شاخص تحمل جوانه زنی کاهش یافت (جدول ۴). گزارش شده است وجود عوامل تنش‌زا، از جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه جلوگیری کرده و منجر به کاهش شاخص تحمل جوانه زنی می‌شود (Liu et al. 2012). در مرحله خروج ریشه‌چه، میکروپلاستیک‌ها می‌توانند به سطح ریشه متصل شده و به دلیل مشخصه آب‌گریزی، از جذب آب و مواد مغذی توسط ریشه جلوگیری می‌کنند (Ziccardi et al. 2016)؛ بنابراین منجر به کاهش طول ریشه‌چه شده و شاخص تحمل جوانه زنی نیز کاهش می‌یابد. بر اساس نتایج بدست آمده، در اثر استفاده همزمان پلی وینیل کلرید و کادمیم این شاخص بیشتر از تیمار تنش کادمیم به تنهایی بود. بذوری که تحت غلظت ۲۰۰ میکرومولار کادمیم و کلرید ۴ درصد بودند، ۱۵۴٪ شاخص تحمل جوانه زنی بیش‌تری نسبت به ۲۰۰ میکرومولار کادمیم به تنهایی داشتند. این وضعیت ممکن است به دلیل رابطه جذب رقابتی بین ذرات میکروپلاستیک و کادمیم در سطح ریشه‌های

مختلف کادمیم تفاوت معنادار در جوانه زنی نسبی بذر نسبت به شاهد مشاهده شد، به طوری که غلظت ۵۰ میکرومولار کادمیم ۱۴/۸٪ جوانه زنی نسبی کم‌تری نسبت به شاهد داشت. حضور فلزاتی مانند کادمیم در محیط جوانه زنی بذر، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک در آندوسپرم شده و موجب کاهش غلظت قندها و پروتئین‌های محلول می‌شود که بر جوانه زنی نسبی بذر اثرگذار است (Amri et al., 2016). با این حال میکروپلاستیک‌ها به‌ویژه در غلظت‌های کم، می‌توانند جایگزین فلزات سنگین وارد شده به سلول‌های اپیدرمی و کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن (شرایط تنشی) شوند (Dong et al. 2020).

شاخص تحمل جوانه زنی

آثار کادمیم، پلی وینیل کلرید و برهمکنش دوگانه آن‌ها بر شاخص تحمل جوانه زنی در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۳). شاخص تحمل جوانه زنی تلفیقی از رشد ریشه و پارامتر جوانه زنی بذر است، بنابراین وضعیت کامل‌تری از

قندهای محلول به محور جنینی شده و در نهایت مهار جوانه-زنی بذر را افزایش می‌دهد (Kuriakose and Prasad, 2008). در اثر کاربرد همزمان کادمیم و پلی‌وینیل کلرید نسبت به استفاده از کادمیم به تنهایی، کاهش در مهار جوانه‌زنی بذر مشاهده شد. ترکیب ۱۰۰ میکرومولار کادمیم و میکروپلاستیک ۱ درصد نسبت به ۱۰۰ میکرومولار کادمیم منجر به کاهش ۶۸/۳ درصدی در مهار جوانه‌زنی بذر شد (جدول ۴). این یافته ممکن است به دلیل جذب کادمیم توسط ذرات میکروپلاستیک باشد (Wang et al., 2020).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد شاخص‌های رشد اولیه ارزن دم روباهی به شدت تحت تأثیر کادمیم و ذرات پلی‌وینیل کلرید قرار گرفت و منجر به اختلال در شاخص‌های تجزیه و انتقال مواد ذخیره‌ای بذر، درصد و سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان و درصد نسبی جوانه‌زنی، بنیه گیاهچه و شاخص تحمل ریشه شد. حضور ذرات میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلرید به میزان ۶ درصد در غلظت ۲۰۰ میکرومولار کادمیم نسبت به پلی‌وینیل-کلرید ۱ درصد، به ترتیب منجر به کاهش ۴۵/۹، ۱۲/۷ و ۵۸/۷٪ در کارایی استفاده از ذخایر بذر، درصد جوانه‌زنی و شاخص تحمل ریشه شد. افزایش غلظت کادمیم تا ۲۰۰ میکرومولار در محیط کشت، کاهش ۹۱/۵ درصدی در شاخص تحمل جوانه زنی نسبت به شاهد را به دنبال داشت. به طور کلی حضور ذرات پلی‌وینیل کلرید از شرایط تنشی کادمیم کاست و شاخص تحمل جوانه‌زنی را به عنوان شاخص مهم تحمل گیاه به تنش تا اندازه-ای بهبود داد. بنابراین می‌توان اظهار کرد علی‌رغم آلاینده‌گی ذرات میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلرید در محیط کشت بذر، نتایج به دست آمده بیان‌گر آثار متعادل‌کننده غلظت‌های کم ذرات پلی‌وینیل کلرید بر سمیت کادمیم در گیاهچه‌های ارزن دم‌روباهی است. با این حال این نتیجه نیاز به پژوهش‌های بیشتر به ویژه در مورد سایر گیاهان و در غلظت‌های مختلف انواع میکروپلاستیک و کادمیم در خاک‌های مختلف دارد و نباید به

گیاه باشد که باعث کاهش میزان کادمیم واردشده به بافت‌های گیاهی و کاهش فراهمی زیستی آن‌ها شده است (Wang et al., 2019).

سطح سمیت گیاهچه

آثار کادمیم، پلی‌وینیل کلرید و برهم‌کنش آن‌ها بر سطح سمیت گیاهچه با احتمال یک درصد معنادار شد (جدول ۳). سطح سمیت گیاهچه به دنبال حضور کادمیم و پلی‌وینیل کلرید در محیط کشت بذر افزایش یافت. پلی‌وینیل کلرید نسبت به کادمیم باعث ایجاد سمیت بسیار کم‌تری شد (جدول ۴). کادمیم، رشد ریشه‌چه را مهار کرده و از جوانه‌زنی ممانعت می‌کند؛ همچنین این عنصر باعث اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیک رشد گیاهچه می‌شود (Guilherme et al., 2015). ذرات میکروپلاستیک نیز آب‌گریز بوده و می‌توانند مانع از جذب آب شوند؛ از این رو تأثیر منفی بر جوانه‌زنی و رشد ریشه گیاهچه دارند (Liu et al., 2019). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد سطح سمیت گیاهچه‌ها در تنش کادمیم با حضور ذرات میکروپلاستیک کاهش یافته است (جدول ۴).

مهار جوانه‌زنی

آثار کادمیم، پلی‌وینیل کلرید و برهم‌کنش دوگانه آن‌ها بر مهار جوانه‌زنی بذر در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۳). با افزایش غلظت کادمیم و میکروپلاستیک، اختلال و مهار در جوانه‌زنی بذر افزایش یافت. بر اساس گزارش‌های سوزا و همکاران (Souza et al., 2020)، قرار گرفتن بذور در معرض میکروپلاستیک‌ها منجر به کاهش تقسیم سلولی و مهار جوانه-زنی بذر می‌شود. تفاوت بین درصد مهار جوانه‌زنی بذر در غلظت‌های زیاد کادمیم نسبت به غلظت‌های پایین کم‌تر بود (جدول ۴). گزارش شده اثر بازدارندگی کادمیم بر جوانه‌زنی بذر، به دلیل کاهش جذب آب برای رشد جنین است (Vijayaragavan et al., 2011). دسترسی محدود به آب، باعث عدم تحرک نشاسته در آندوسپرم و به دنبال آن اختلال در انتقال

عنوان اثر مثبت ذرات میکروپلاستیک در محیط زیست تلقی گردد. که در پیشبرد این پژوهش همکاری و مساعدت نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

تشکر و سپاسگزاری

در انجام این پژوهش، حمایت مالی خاصی از مؤسسات عمومی، صنعتی و غیرانتفاعی دریافت نشده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه بوعلی‌سینا نویسندگان مقاله اذعان دارند هیچ‌گونه تضاد منافی با شخص، شرکت یا سازمانی برای این پژوهش ندارند.

تضاد منافع

منابع مورد استفاده

1. Abdul-Baki, A.A., Anderson, J.D., 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Sci.* 13(6), 630–633. <https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x>
2. Amooaghaie, R., Tabatabaei, F., Ahadi, A.-M., 2015. Role of hematin and sodium nitroprusside in regulating *Brassica nigra* seed germination under nanosilver and silver nitrate stresses. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 113, 259–270. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.017>
3. Amri, B., Khamassi, K., Ali, M.B., Teixeira da Silva, J.A., Bettaieb Ben Kaab, L., 2016. Effects of gibberellic acid on the process of organic reserve mobilization in barley grains germinated in the presence of cadmium and molybdenum. *S. Afr. J. Bot.* 106, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.05.007>
4. Arfaeina, H., Dobaradaran, S., Moradi, M., Pasalari, H., Mehrizi, E.A., Taghizadeh, F., Esmaili, A., Ansarizadeh, M., 2019. The effect of land use configurations on concentration, spatial distribution, and ecological risk of heavy metals in coastal sediments of northern part along the Persian Gulf. *Sci. Total Environ.* 653, 783–791. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.009>
5. Bareke, T., 2018. Biology of seed development and germination physiology. *Adv. Plants Agric. Res.* 8(4-2018), 336–346. <https://doi.org/10.15406/apar.2018.08.00335>
6. Boots, B., Russell, C.W., Green, D.S., 2019. Effects of microplastics in soil ecosystems: above and below ground. *Environ. Sci. Technol.* 53(19), 11496–11506. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03304>
7. Bosker, T., Bouwman, L.J., Brun, N.R., Behrens, P., Vijver, M.G., 2019. Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant *Lepidium sativum*. *Chemosphere* 226, 774–781. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.163>
8. Bouziani, Y., Degaichia, H., Benmoussa, M., 2019. Effect of cadmium on the germinative parameters of bread wheat. *Rev. Mex. De Cienc. Agric.* 10(2), 301–309. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.1476>
9. Cao, Y., Zhao, M., Ma, X., Song, Y., Zuo, S., Li, H., Deng, W., 2021. A critical review on the interactions of microplastics with heavy metals: Mechanism and their combined effect on organisms and humans. *Sci. Total Environ.* 788, 147620. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147620>
10. de Souza Machado, A.A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., Rillig, M.C., 2018. Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biol.* 24(4), 1405–1416. <https://doi.org/10.1111/gcb.14020>
11. de Souza Machado, A.A., Lau, C.W., Kloas, W., Bergmann, J., Bachelier, J.B., Faltin, E., Becker, R., Görlich, A.S., Rillig, M.C., 2019. Microplastics can change soil properties and affect plant performance. *Environ. Sci. Technol.* 53(10), 6044–6052. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01339>
12. Dong, Y., Gao, M., Song, Z., Qiu, W., 2020. Microplastic particles increase arsenic toxicity to rice seedlings. *Environ. Pollut.* 259, 113892. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113892>
13. Duan, C., Fang, L., Yang, C., Chen, W., Cui, Y., Li, S., 2018. Reveal the response of enzyme activities to heavy metals through in situ zymography. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 156, 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.015>
14. Du L, Wu D, Yang X, Xu L, Tian X, Li Y, Liu Y., 2023. Joint toxicity of Cadmium (II) and microplastic leachates on wheat seed germination and seedling growth. *Environ. Geochem. Health* 46(5), 166. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2938063/v1>
15. Ellis, R.H., Roberts, E.H., 1981. An investigation into the possible effects of ripeness and repeated threshing on barley seed longevity under six different storage environments. *Ann. Bot.* 48(1), 93–96. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086103>

16. Ernst, W.H.O., 1998. Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic level. In: Schuurmann, G., Markert, B. (Eds.), *Ecotoxicology* John Wiley & Sons, pp. 587–620. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1574231874895184256>
17. Ge, J., Li, H., Liu, P., Zhang, Z., Ouyang, Z., Guo, X., 2021. Review of the toxic effect of microplastics on terrestrial and aquatic plants. *Sci. Total Environ.* 791, 148333. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148333>
18. Guilherme, M.D.F., de Oliveira, H.M., Silva, E.D., 2015. Cadmium toxicity on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*). *Acta. Sci. Biol. Sci.* 37(4), 499–504. <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v37i4.28148>
19. Guo, X., Hu, G., Fan, X., Jia, H., 2020. Sorption properties of cadmium on microplastics: The common practice experiment and a two-dimensional correlation spectroscopic study. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 190, 110118. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110118>
20. Han, Y., Wu, M., Hao, L., Yi, H., 2018. Sulfur dioxide derivatives alleviate cadmium toxicity by enhancing antioxidant defence and reducing Cd²⁺ uptake and translocation in foxtail millet seedlings. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 157, 207–215. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.084>
21. Huang, C., Ge, Y., Yue, S., Zhao, L., Qiao, Y., 2021. Microplastics aggravate the joint toxicity to earthworm *Eisenia fetida* with cadmium by altering its availability. *Sci. Total Environ.* 753, 142042. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142042>
22. Imran, M., Das, K.R., Naik, M.M., 2019. Co-selection of multi-antibiotic resistance in bacterial pathogens in metal and microplastic contaminated environments: An emerging health threat. *Chemosphere* 215, 846–857. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.114>
23. International Seed Testing, A., 1999. International rules for seed testing. Rules 1999.
24. International Seed Testing, A., 2008. Zurich. CH-Switzerland: ISTA: 3.
25. Kolenčík, M., Ernst, D., Komár, M., Urík, M., Šebesta, M., Dobročka, E., Černý, I., Illa, R., Kanike, R., Qian, Y., Feng, H., Orlová, D., Kratošová, G., 2019. Effect of foliar spray application of zinc oxide nanoparticles on quantitative, nutritional, and physiological parameters of foxtail millet (*Setaria italica* L.) under field conditions. *Nanomater* 9(11), 1559. <https://doi.org/10.3390/nano9111559>
26. Kranner, I., Colville, L., 2011. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environ. Exp. Bot.* 72(1), 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.005>
27. Kuriakose, S.V., Prasad, M.N.V., 2008. Cadmium stress affects seed germination and seedling growth in *Sorghum bicolor* (L.) Moench by changing the activities of hydrolyzing enzymes. *Plant Growth Regul.* 54(2), 143–156. <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9237-4>
28. Lei, K., Sun, S., Zhong, K., Li, S., Hu, H., Sun, C., Zheng, Q., Tian, Z., Dai, T., Sun, J., 2021. Seed soaking with melatonin promotes seed germination under chromium stress via enhancing reserve mobilization and antioxidant metabolism in wheat. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 220, 112241. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112241>
29. Li, S., Wang, T., Guo, J., Dong, Y., Wang, Z., Gong, L., Li, X., 2021. Polystyrene microplastics disturb the redox homeostasis, carbohydrate metabolism and phytohormone regulatory network in barley. *J. Hazard. Mater.* 415, 125614. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125614>
30. Li, W., Khan, M.A., Yamaguchi, S., Kamiya, Y., 2005. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regul.* 46(1), 45–50. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-6324-2>
31. Li, Y., Zhang, S., Jiang, W., Liu, D., 2013. Cadmium accumulation, activities of antioxidant enzymes, and malondialdehyde (MDA) content in *Pistia stratiotes* L. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20(2), 1117–1123. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1054-2>
32. Li, Z., Li, Q., Li, R., Zhao, Y., Geng, J., Wang, G., 2020. Physiological responses of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to microplastic pollution. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27(24), 30306–30314. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09349-0>
33. Lian, J., Wu, J., Xiong, H., Zeb, A., Yang, T., Su, X., Su, L., Liu, W., 2020. Impact of polystyrene nanoplastics (PSNPs) on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Hazard. Mater.* 385, 121620. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121620>
34. Liu, J.G., Zhang, Y.X., Shi, P.L., Chai, T.Y., 2012. Effect of cadmium on seed germination and antioxidative enzymes activities in cotyledon of *Solanum nigrum* L. *J. Agro-Environ. Sci.* 31(5), 880–884.
35. Liu, Y., Zhang, Q., Cui, W., Duan, Z., Wang, F., 2019. Toxicity of polyethylene microplastics to seed germination of mung bean. *Environ. Dev.* 05, 123–125.
36. Liu, Y., Zhou, C., Li, F., Liu, H., Yang, J., 2020. Stocks and flows of polyvinyl chloride (PVC) in China: 1980-2050. *Resour. Conserv. Recycl.* 154, 104584. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104584>
37. Mabrouk, B., Kâab, S.B., Rezgui, M., Majdoub, N., Teixeira da Silva, J.A., Kâab, L.B.B., 2019. Salicylic acid alleviates arsenic and zinc toxicity in the process of reserve mobilization in germinating fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds. *S. Afr. J. Bot.* 124, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.020>
38. Mondal, N.K., Kundu, S., Debnath, P., Mondal, A., Sen, K., 2022. Effects of polyethylene terephthalate microplastic on germination, biochemistry and phytotoxicity of *Cicer arietinum* L. and cytotoxicity study on *Allium*

- cepa* L. Environ. Toxicol. Pharmacol. 94, 103908. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103908>
39. Ozdener, Y., Kutbay, H.G., 2009. Toxicity of copper, cadmium, nickel, lead and zinc on seed germination and seedling growth in *Eruca sativa*. Fresenius Environ. Bull. 18, 26–31.
40. Pant, S.R., Irigoyen, S., Doust, A.N., Scholthof, K.B., Mandadi, K.K., 2016. Setaria: a food crop and translational research model for C4 grasses. Front. Plant Sci. 7, 1885. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01885>
41. Pignattelli, S., Broccoli, A., Renzi, M., 2020. Physiological responses of garden cress (*L. sativum*) to different types of microplastics. Sci. Total Environ. 727, 138609. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138609>
42. Rady, M.M., Hemida, K.A., 2015. Modulation of cadmium toxicity and enhancing cadmium-tolerance in wheat seedlings by exogenous application of polyamines. Ecotoxicol. Environ. Saf. 119, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.05.008>
43. Riaz, M., Kamran, M., Fang, Y., Yang, G., Rizwan, M., Ali, S., Zhou, Y., Wang, Q., Deng, L., Wang, Y., Wang, X., 2021. Boron supply alleviates cadmium toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) by enhancing cadmium adsorption on cell wall and triggering antioxidant defense system in roots. Chemosphere 266, 128938. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128938>
44. Rizwan, M., Ali, S., Ur Rehman, M.Z., Malik, S., Adrees, M., Qayyum, M.F., Alamri, S.A., Alyemeni, M.N., Ahmad, P., 2019. Effect of foliar applications of silicon and titanium dioxide nanoparticles on growth, oxidative stress, and cadmium accumulation by rice (*Oryza sativa*). Acta Physiol. Plant. 41(3), 35. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2828-7>
45. Sahasa, R.G.K., Dhevagi, P., Poornima, R., Ramya, A., Moorthy, P.S., Alagirisamy, B., Karthikeyan, S., 2023. Effect of polyethylene microplastics on seed germination of blackgram (*Vigna mungo* L.) and tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Environ. Adv. 11, 100349. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100349>
46. Seneviratne, M., Rajakaruna, N., Rizwan, M., Madawala, H.M.S.P., Ok, Y.S., Vithanage, M., 2019. Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: a critical review. Environ. Geochem. Health 41(4), 1813–1831. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0005-8>
47. Soltani, A., Gholipour, M., Zeinali, E., 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environ. Exp. Bot. 55(1), 195–200. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.10.012>
48. Souza, P.M.S., Sommaggio, L.R.D., Marin-Morales, M.A., Morales, A.R., 2020. PBAT biodegradable mulch films: Study of ecotoxicological impacts using *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and HepG2/C3A cell culture. Chemosphere 256, 126985. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126985>
49. Valivand, M., Amooaghaie, R., Ahadi, A., 2019. Seed priming with H₂S and Ca²⁺ trigger signal memory that induces cross-adaptation against nickel stress in zucchini seedlings. Plant Physiol. Biochem. 143, 286–298. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.09.016>
50. Vijayaragavan, M., Prabhakar, C., Sureshkumar, J., Natarajan, A., Vijayarengan, P., Sharavanan, S., 2011. Toxic effect of cadmium on seed germination, growth and biochemical contents of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) plants. Int. Multidiscip. Res. J. 1(5), 1–6.
51. Wang, F., Wang, X., Song, N., 2021. Polyethylene microplastics increase cadmium uptake in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by altering the soil microenvironment. Sci. Total Environ. 784, 147133. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147133>
52. Wang, F., Zhang, X., Zhang, S., Zhang, S., Sun, Y., 2020. Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil. Chemosphere 254, 126791. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126791>
53. Wang, H., Ding, J., Xiong, C., Zhu, D., Li, G., Jia, X., Zhu, Y., Xue, X., 2019. Exposure to microplastics lowers arsenic accumulation and alters gut bacterial communities of earthworm *Metaphire californica*. Environ. Pollut. 251, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.054>
54. Wani, P.A., Khan, M.S., Zaidi, A., 2007. Impact of heavy metal toxicity on plant growth, symbiosis, seed yield and nitrogen and metal uptake in chickpea. Aust. J. Exp. Agric. 47(6), 712–720. <https://doi.org/10.1071/EA05369>
55. Yang, J., Cang, L., Sun, Q., Dong, G., Ata-Ul-Karim, S.T., Zhou, D., 2019. Effects of soil environmental factors and UV aging on Cu²⁺ adsorption on microplastics. Environ. Sci. Pollut. Res. 26(22), 23027–23036. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05643-8>
56. Yang, L., Liu, S., Lin, R., 2020. The role of light in regulating seed dormancy and germination. J. Integr. Plant Biol. 62(9), 1310–1326. <https://doi.org/10.1111/jipb.13001>
57. Ye, L.P., Qi, C.C., Hong, J.G., Ma, X.T., 2017. Life cycle assessment of polyvinyl chloride production and its recyclability in China. J. Cleaner Prod. 142, 2965–2972. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.171>
58. Ziccardi, L. M., Edgington, A., Hentz, K., Kulacki, K. J., Kane Driscoll, S., 2016. Microplastics as vectors for bioaccumulation of hydrophobic organic chemicals in the marine environment: A state-of-the-science review. Environ. Toxicol. Chem. 35(7), 1667–1676. <https://doi.org/10.1002/etc.3461>