

## بررسی اثر کادمیم و تیمار همزمان سدیم نیتروپروساید (SNP) بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه زیتون تلخ (*Melia azedarach*)

اصغر مصلح آرانی<sup>۱\*</sup>، نسیم میرزایی<sup>۱</sup>، حمید سودایی‌زاده<sup>۱</sup> و هدایت الله میرشمسی<sup>۲</sup>  
<sup>۱</sup> گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد و <sup>۲</sup> کارشناسی ارشد اداره کل منابع طبیعی استان یزد  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۷/۲۸)

### چکیده:

به منظور بررسی اثر کادمیم و تیمار همزمان سدیم نیتروپروساید بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه زیتون تلخ پژوهش حاضر بر اساس یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج، افزایش مقدار انباشت کادمیم و پرولین ریشه را به طور معنی‌داری با افزایش غلظت کادمیم در خاک نشان داد. طول و وزن ریشه با افزایش کادمیم خاک کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند. با افزایش غلظت کادمیم در خاک تغییری در مقدار قندهای محلول، محتوای آب برگ و مقدار مالون دآلدئید بوجود نیامد. تیمار سدیم نیتروپروساید باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه نسبت به تیمار بدون سدیم نیتروپروساید شد. از آنجا که اکثر فاکتورهای رشدی اندازه‌گیری شده در زیتون تلخ تحت تاثیر ماده سدیم نیتروپروساید قرار نداشتند نتیجه‌گیری شد که این ماده نقش محسوسی در حفاظت این گیاه در برابر عناصر سنگین ایفا نمی‌کند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، فیزیولوژی، گیاه پالایی، سدیم نیتروپروساید.

### مقدمه:

تاثیر آن بر حسب نوع گیاه متغیر می‌باشد (Das et al., 1997). کادمیم سبب کلروز و نکروز برگها (Hernandez et al., 2001; Zhang et al., 2002)، کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیل *a* و *b* و کاروتنوئیدها در گیاهان عالی می‌شود (Ramos et al., 1990; Sheoran et al., 2002). کادمیم به غشای تیلاکوئیدی کلروپلاست آسیب می‌زند، ظرفیت فتوسنتزی را به شدت کاهش داده و رشد گیاه را متوقف می‌کند. مهمترین دلیل اثر تخریبی کادمیم این است که این عنصر سبب تولید رادیکال های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های آزاد سوپراکساید، رادیکال های هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می‌شود. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کنند (He et al., 2011; Shanti and

کادمیم یک فلز آلاینده محیطی است که در طبیعت منتشر می‌شود. منابع مختلف شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند. همچنین استفاده از کودهای شیمیایی، به‌ویژه کودهای فسفاته مقدار این عنصر را در خاک افزایش می‌دهد (Baryla et al., 2001; Hsu and Kao, 2004; Mejare and Bulow, 2001). کادمیم اگر چه برای رشد گیاه ضروری نیست، اما این فلز به راحتی از طریق پوست ریشه جذب می‌شود و سپس از راه سیمپلاستی یا آپوپلاستی وارد بافت چوب می‌شود (Sanita and Gabbrielli, 1999). کادمیم بر تقسیم و رشد سلول‌ها، رشد کلی گیاه، تقسیم سلولی منطقه مرستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد که

فعالیت بیولوژیک و ساختار فیزیکی خاک شده و بطور چشمگیری ارزان است (Pulford and Watson, 2003). همچنین به دلیل هماهنگ بودن با محیط زیست و داشتن کمترین آسیب، بیشترین توجهات را به خود معطوف کرده است (آفتاب طلب، ۱۳۸۶). گیاهان مورد استفاده در گیاه‌پالایی باید قادر به انباشت مقدار زیادی از فلز سنگین بوده، بردبار به حضور فلز سنگین در خاک باشند و همچنین توانایی تولید زی‌توده بالا در خاک آلوده را داشته باشند (Abul Kashem et al., 2013; Bączek-Kwinta et al., 2011; McGrath et al., 2002). در سالهای اخیر، بررسی‌های گیاه‌پالایی بر گیاهان بیش‌انباشت‌کننده که توانایی انباشت مقدار زیادی از فلزات را دارند، متمرکز شده است (Doumett et al., 2008). این پژوهش علاوه بر بررسی اثر کادمیم و تیمار همزمان سدیم نیتروپروساید (SNP) بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه زیتون تلخ، پتانسیل زیتون را برای گیاه‌پالایی بررسی می‌کند. مطالعات گیاه‌پالایی بیشتر روی گونه‌های علفی بدلیل تکثیر سریع آنها متمرکز شده است و کمتر گونه‌های درختی مطالعه شده است. از آنجا که گونه‌های درختی برای ایجاد فضای سبز در خاکهای آلوده و گیاه‌استخراجی به دلیل زی‌توده بالا مناسب‌تر می‌باشد، تحقیق در خصوص این گونه‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

#### مواد و روش‌ها:

**گیاه مورد مطالعه:** زیتون تلخ (*Melia azedarach*) از خانواده *Meliaceae*، درختی است، روشنی‌پسند و بلندی گونه‌ی اصلی آن معمولا به ۱۵ متر می‌رسد. این درخت طالب مکان‌های آفتابگیر و خاک‌های حاصلخیز و عمیق است، اما در اغلب خاک‌ها توان زیستن دارد. به خشکی و یخبندان مقاومت دارد و تا حدی به شوری خاک مقاومت نشان می‌دهد (جزیره‌ای، ۱۳۸۴).

**روش تحقیق:** نهال‌های یک ساله و هم‌اندازه زیتون تلخ از نهالستان شهرستان یزد تهیه شد. خاک گلدان‌ها از ترکیب ماسه بادی، خاکبرگ و خاک باغچه به نسبت مساوی تهیه شده بود و در هفته دو بار مورد آبیاری قرار گرفته بودند. نهال‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در سه

(Dietz, 2006). در بین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی پرولین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پرولین آنتی‌اکسیدانی است که پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد بوده و با اتصال به کادمیم و تشکیل کمپلکس کادمیم-پرولین مانع سمیت این عنصر می‌گردد (Alia et al., 2001; Farago and Mullen, 1979). در آراییدوپسیس و *Groenlandia densa* افزایش غلظت پرولین در اثر افزایش کادمیم گزارش گردیده است (Xu et al., 2010; Yilmaz and Parlak, 2011).

سدیم نیتروپروساید یک رادیکال نسبتا پایدار است. ابتدا این گاز به عنوان آلوده‌کننده‌ی محیطی مورد توجه قرار گرفت، هرچند بررسی‌های اخیر نشان داد که NO می‌تواند در فرایندهای مختلف فیزیولوژیک و نمو مثل جوانه‌زنی دانه، بسته شدن روزنه، پاسخ به عوامل بیماری‌زا و نمو ریشه دخالت نماید (Duan et al., 2007; Neill et al., 2003). از طرف دیگر، NO می‌تواند به عنوان واسطه در عمل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و متابولیسم رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) شرکت کند و در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز دخالت دارد (Del Rio et al., 2004). مقدار زیاد NO می‌تواند با  $O_2^-$  ترکیب شده، رادیکال پراکسید نیتريت ( $ONOO^-$ ) را تولید کند و گزارش شده است که این رادیکال باعث تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Beligni and Lamattina, 1999). چون  $O_2^-$  و  $H_2O_2$  بسیار سمی تر از NO و  $ONOO^-$  هستند بنابراین اعتقاد بر این است که NO دارای نقش دوگانه است: سمی و حفاظتی و این بستگی به غلظت آن، نوع گیاه، سن گیاه، بافت گیاه و نوع تنش وارد شده دارد (Del Rio et al., 2004; Beligni and Lamattina, 1999). نقش نیتريك اکسید در کاهش تنش کادمیم در آفتابگردان گزارش شده است (Laspina et al., 2005).

از طرف دیگر برخی از عناصر سنگین مانند سرب و کادمیم می‌توانند جذب گیاه شده و در برگ و یا شاخه‌ها انباشت شوند. اطلاع از این امر کمک شایانی به مدیریت طرح-های زیست‌پالایی در مناطق آلوده می‌نمایند (آفتاب طلب، ۱۳۸۶؛ خداکریمی، ۱۳۸۶). این روش رفع آلودگی، سبب حفظ

اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری غلظت مالون دآلدئید (MDA) به روش Heath و Packer (1968) انجام شد. داده‌های حاصل با نرم افزار Spss (Version 16) و با استفاده از آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Duncan استفاده شد. محاسبه احتمال معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح  $P < 0.05$  انجام شد. رسم نمودارها به کمک نرم افزار Excel صورت گرفت.

### نتایج:

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر غلظت بر مقدار کادمیم ریشه، ساقه، برگ و همچنین بر مقدار پرولین و وزن ریشه معنی‌دار بود. اثر SNP بر مقدار کادمیم ساقه و برگ و وزن ریشه معنی‌دار بود. اثر متقابل غلظت  $\times$  SNP نیز بر کادمیم ساقه و برگ و وزن ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج نشان داد که مقدار کادمیم ریشه به‌طور معنی‌داری بیشتر از ساقه و برگ‌هاست به‌طوری‌که مقدار آن در غلظت ۴۰۰ بیش از ۱۰ برابر آن در برگ‌هاست. با افزایش غلظت کادمیم در خاک در هر دو تیمار SNP و بدون SNP میزان کادمیم ریشه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. کادمیم ریشه در غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان داد. مقدار کادمیم ریشه در غلظت ۴۰۰ حدود ۱۴۰ بار نسبت به شاهد افزایش یافت. در غلظت ۲۰۰ کادمیم همراه با SNP مقدار کادمیم در ریشه به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار بدون SNP افزایش نشان داد (شکل ۱).

میزان کادمیم ساقه در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیمار بدون SNP افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد به‌طوری‌که مقدار آن در این غلظت ۷۰ برابر شاهد بود. در تیمار SNP با افزایش غلظت کادمیم در خاک کادمیم ساقه به‌ویژه در غلظت ۴۰۰ کاهش یافت ولی این اختلاف معنی‌دار نبود. SNP مقدار جذب کادمیم را در ساقه به‌مقدار ۱۴۰ بار نسبت به تیمار بدون SNP کاهش داد (شکل ۱). در تیمار بدون SNP در برگ زیتون تلخ نیز میزان کادمیم در غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰

تکرار در شرایط گلخانه قرار داده شد. فاکتورهای مورد بررسی در این آزمایش شامل ۱- غلظت‌های مختلف کادمیم با ۴ سطح (صفر به عنوان شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر). علت انتخاب این غلظت‌ها بررسی اثر سمیت کم تا نسبتاً زیاد کادمیم بر این گیاه بود (Nedjimi and Daoud, 2009) ۲- غلظت SNP (صفر به عنوان شاهد و ۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) که در محلول‌های کادمیم حل شده بودند. علت انتخاب این غلظت بررسی غلظت زیاد سدیم نیتروپروساید جهت کاهش اثر کادمیم بر این گیاه بود (Filippou, 2013). گونه مورد مطالعه هر هفته تحت تیمار ۲۰۰ میلی لیتر از محلول‌های مذکور (از طریق خاک) به مدت ۶۰ روز قرار گرفت. پس از درآوردن نهال‌ها از خاک طول ریشه و ساقه با استفاده از خط-کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. وزن ریشه و ساقه با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ توزین شد.

برای اندازه‌گیری مقدار کادمیم، نمونه‌های ریشه، ساقه و برگ با آسیاب برقی به صورت پودر در آورده شد. سپس یک گرم از هر نمونه گیاهی به طور جداگانه در بالن ژوژه‌های ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شد و با اضافه نمودن اسید نیتریک و اسید کلریدریک غلیظ با نسبت ۱:۳ به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند تا نمونه‌های گیاهی به خوبی در اسید حل شوند. پس از آن محلول حاصل را گرم کرده تا بخارات اسیدی از محلول خارج گردد، سپس محلول مذکور را از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده و حجم محلول را با آب مقطر Deionized به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و مقدار کادمیوم با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل (NovAA300) مورد سنجش قرار گرفتند.

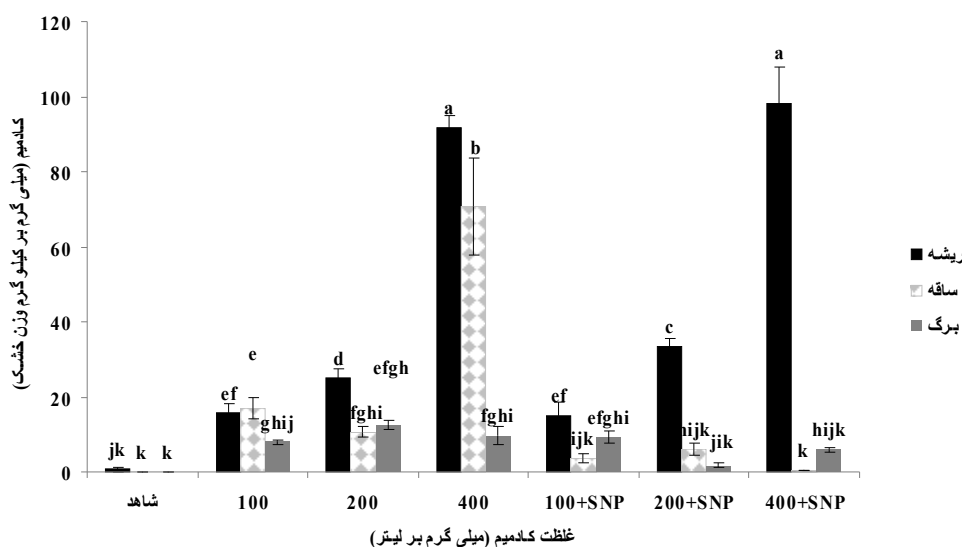
برای اندازه‌گیری مقدار پرولین مقدار ۰/۵ گرم از برگ گیاهان را توزین و در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفو سالیسیلیک ساییده و سپس نمونه‌ها صاف گردید. آنگاه به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) مقدار پرولین آنها اندازه‌گیری شد. برای سنجش قندهای محلول ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به ۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی (برگ) اضافه و به روش Kochert (1978) مقدار قندهای محلول

جدول ۱- جدول آنالیز واریانس اثر غلظت کادمیم و SNP بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه زیتون تلخ.

میانگین مربعات						منابع تغییرات
محتوای آب برگ	پرولین	کادمیم برگ	کادمیم ساقه	کادمیم ریشه	درجه آزادی	
۴۵/۵ <sup>ns</sup>	۳۱۴/۱۲*	۹۴/۶**	۱۴۱۳/۳۳*	۱۰۴۱۱/۹۳**	۳	غلظت کادمیم
۲/۲۵ <sup>ns</sup>	۱۸/۴۹ <sup>ns</sup>	۶۸/۹۶*	۲۹۳۱*	۶۷/۱۶ <sup>ns</sup>	۱	تیماژ SNP
۴۰/۱ <sup>ns</sup>	۷۷/۸۹ <sup>ns</sup>	۴۵/۵۸*	۱۵۹۴/۶*	۳۳/۴۹ <sup>ns</sup>	۳	غلظت کادمیم × SNP
۲۷/۶	۹۲/۱۴	۹/۱	۳۵۱/۴۳	۹۰/۶۶	۱۶	خطا

ادامه جدول ۱- جدول آنالیز واریانس اثر غلظت کادمیم و SNP بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه زیتون تلخ.

میانگین مربعات						منابع تغییرات
وزن ساقه	وزن ریشه	طول ساقه	طول ریشه	مالون دآلدئید	درجه آزادی	
۲/۶۲ <sup>ns</sup>	۳۱۹/۴**	۱۶/۵۹ <sup>ns</sup>	۸۹/۶ <sup>ns</sup>	۴/۳ <sup>ns</sup>	۳	غلظت کادمیم
۱۳/۳۵ <sup>ns</sup>	۷۸/۲۲*	۴/۵۹ <sup>ns</sup>	۵۴ <sup>ns</sup>	۱/۳۱ <sup>ns</sup>	۱	تیماژ SNP
۲/۷۴ <sup>ns</sup>	۳۶/۶۲*	۷/۹ <sup>ns</sup>	۴۸/۵۵ <sup>ns</sup>	۲۹/۹ <sup>ns</sup>	۳	غلظت کادمیم × SNP
۳/۲	۹/۷	۱۰	۲۹/۴	۲۷/۲	۱۶	خطا



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیم بدون SNP و همراه با SNP بر میزان انباشت کادمیم در ریشه گیاه زیتون تلخ. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت در هر متغیر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

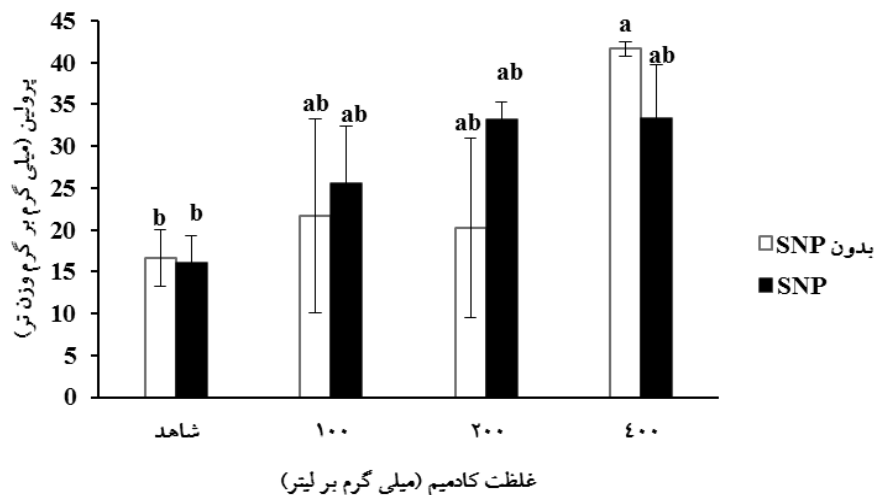
گرم بر لیتر با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. افزایش کادمیم تا غلظت ۴۰۰ باعث افزایش بیش از دو برابری مقدار پرولین نسبت به شاهد شد. در تیمار SNP افزایش غلظت کادمیم تاثیر معنی‌داری بر میزان پرولین در هیچکدام از تیمارها نداشت. اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار بدون SNP و SNP در هیچکدام از غلظت‌ها مشاهده نشد (شکل ۲).

اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد به‌طوریکه مقدار آن تا ۱۰ برابر افزایش یافت اما بین این سه غلظت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در تیمار SNP کادمیم برگها در غلظت ۱۰۰ افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. (شکل ۱). مقدار پرولین ریشه زیتون تلخ در تیمار بدون SNP با افزایش غلظت کادمیم افزایش یافت. این افزایش در غلظت ۴۰۰ میلی

جدول ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیم بدون SNP و همراه با SNP بر طول و وزن تر ریشه گیاه زیتون تلخ.

فاکتورهای اندازه‌گیری شده	تیمار	شاهد	غلظت ۱۰۰	غلظت ۲۰۰	غلظت ۴۰۰
طول ریشه (cm)	بدون SNP	۲۱/۳±۰/۲ <sup>a</sup>	۱۶/۶±۰/۱ <sup>ab</sup>	۲۱/۶±۰/۵ <sup>a</sup>	۱۲/۳±۰/۱ <sup>b</sup>
وزن تر ریشه (gr/ FW)	بدون SNP	۲۴/۲۹±۲ <sup>a</sup>	۸/۰۷±۰/۵ <sup>c</sup>	۱۳/۴۶±۱ <sup>b</sup>	۸/۵±۱ <sup>c</sup>
	SNP	۲۳±۱ <sup>a</sup>	۲۶±۱ <sup>a</sup>	۲۱±۱ <sup>a</sup>	۱۸±۱/۱ <sup>ab</sup>
	SNP	۱۵/۴۶±۱ <sup>ab</sup>	۱۷/۴۳±۱ <sup>ab</sup>	۲۲/۴۸±۱ <sup>a</sup>	۷/۱±۰/۲ <sup>c</sup>

\* براساس آزمون دانکن حروف متفاوت در هر متغیر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیم بدون SNP و همراه با SNP بر میزان پروپین در برگ گیاه زیتون تلخ. براساس آزمون دانکن حروف متفاوت در هر متغیر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

ساقه در گیاه زیتون تلخ نداشت.

#### بحث:

بررسی نتایج تیمار کادمیم بدون SNP: نتایج نشان داد با افزایش غلظت کادمیم در خاک میزان انباشت این عنصر در ریشه، ساقه و برگ افزایش یافت. احتمالاً دلیل افزایش غلظت کادمیم، افزایش زیست‌فراهمی این عنصر در خاک بوده است. مشابه مطالعه حاضر در بررسی اثر کادمیم در گیاه *Atriplex* (Nedjimi and Daoud, 2009) همچنین در بررسی اثر کادمیم بر گونه تاجریزی نشان داده شد که با افزایش این عنصر تجمع آن در ریشه و ساقه گیاه افزایش یافت. نتایج این مطالعه با نتایج (Sun et al., 2007) در ریشه و ساقه آن گردید.

طول ریشه در غلظت ۴۰۰ در تیمار بدون SNP کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. طول ریشه در غلظت ۴۰۰ به نصف نسبت به شاهد کاهش یافت. در سایر غلظت‌ها این کاهش معنی‌دار نبود. با افزایش غلظت کادمیم طول ریشه در تیمار SNP تغییر معنی‌داری نشان نداد. تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار در هیچ‌کدام از غلظت‌ها مشاهده نشد. با افزایش غلظت کادمیم بدون SNP وزن تر ریشه در همه غلظت‌ها نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد، در حالی که در تیمار SNP فقط در غلظت ۴۰۰ کادمیم کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد. در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ تیمار SNP وزن تر ریشه افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار بدون SNP داشت (جدول ۲).

افزایش غلظت کادمیم تاثیر معنی‌داری بر میزان قندهای محلول، محتوای نسبی آب برگها، مقدار مالون دآلدئید، طول و وزن

خشک) کادمیم باشد (Wantanable, 1997). بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد گیاه زیتون تلخ با توجه به انتقال و انباشت حدود ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیم به ساقه نمی‌تواند به عنوان یک گیاه بیش‌انباشت‌کننده معرفی شود.

مهمترین دلیل اثر تخریبی کادمیم این است که این عنصر سبب تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های آزاد سوپراکساید ( $O_2^-$ )، رادیکال‌های هیدروکسیل ( $OH^-$ ) و پر اکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) می‌شود. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کنند (He et al., 2011; Shanti and Dietz, 2006). یکی از مهمترین آنتی‌اکسیدانهای غیر آنزیمی پرولین می‌باشد. میزان پرولین با افزایش غلظت کادمیم در ریشه زیتون افزایش یافت ولی فقط در غلظت ۴۰۰ این افزایش معنی‌داری بود. پرولین یکی از مهم‌ترین اسیدهای آمینه در گیاهان می‌باشد که در برابر انواع تنش‌ها از جمله شوری، خشکی، سرما، گرما و همچنین عناصر سنگین از گیاهان محافظت می‌کند. به طور کلی می‌توان سه نقش عمده را برای پرولین در مواجهه با عناصر سنگین قائل شد. پرولین می‌تواند با ترکیب شدن با کادمیم و تشکیل کمپلکس پرولین - کادمیم، کادمیم سمی را به یک ترکیب غیرسمی تبدیل نماید. شارما و همکاران (۱۹۹۸) نیز تجمع پرولین در محیط کشت حاوی کادمیم را به دلیل نقش این ماده در اتصال به کادمیم و تشکیل یک کمپلکس غیرسمی از پرولین - کادمیم می‌دانند. پرولین همچنین می‌تواند به عنوان یک ماده تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان عمل کند. پرولین می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپید خطر رادیکال‌های آزاد را کاهش داده باعث حفظ تمامیت غشاها گردد (Alia et al., 2001; Mehta and Gaur, 1999). تجمع پرولین در لوبیا نیز تحت تأثیر کادمیم گزارش شده است (Zengin and Munzuroglu, 2005). کادمیم همچنین باعث افزایش میزان پرولین در گیاه اسفناج باغی شد (Nedjimi and Daoud, 2009).

نتایج این تحقیق نشان داد که اگرچه با افزایش غلظت کادمیم طول ساقه و وزن تر آن کاهش معنی‌داری نداشت، اما طول و وزن ریشه زیتون کاهش معنی‌داری یافت. نتایج مشابه

مشابه در مطالعات فان و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر کادمیم بر روی گونه *Swietenia macrophylla* و مطالعات نیکولیک و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر کادمیم بر گونه‌های هیبرید تبریزی به دست آمد. مقدار کادمیم ریشه به‌طور معنی‌داری بیشتر از ساقه و برگ‌هاست به‌طوری‌که مقدار آن در غلظت ۴۰۰ بیش از ۱۰ برابر آن در برگ‌هاست. در گیاهان اصولاً انتقال یون‌ها از طریق غشای سلولی توسط پروتئین‌هایی به نام ترانسپورترها میانجی‌گری می‌گردد. این ترانسپورترها (حمل‌کننده‌های یونی) انتقال دهنده یک یون خاص بوده و به صورت اختصاصی عمل می‌کند. از کل یون‌هایی که در اطراف ریشه قرار می‌گیرند فقط قسمت اندکی جذب گیاه می‌شود. قسمت اعظم این یون‌ها به طور فیزیکی جذب دیواره سلولی می‌شوند. در دیواره سلولی بخشی که به طور منفی باردار می‌باشد و به نام سایت  $COO^-$  نامیده می‌شود مسئول جذب سطحی در دیواره سلولی می‌باشد. یون‌هایی که به این قسمت می‌چسبند نمی‌توانند وارد سلول شده و همچنین نمی‌توانند به قسمت‌های هوایی گیاه منتقل شوند. یکی دیگر از دلایل افزایش میزان کادمیم در ریشه گیاهان مورد تحقیق ممکن است تجمع آن‌ها در واکوئل‌ها نیز باشد. تجمع این عناصر در واکوئل‌های سلولی مانع انتقال آن‌ها به قسمت‌های هوایی شده و به همین دلیل مقدار این عنصر در ریشه بیشتر از اندام‌های هوایی است. در هر صورت، جذب عناصر سنگین در واکوئل‌ها و به ویژه در دیواره سلولی برای گیاه از سمیت بسیار کمتری برخوردار است (Ramos et al., 2002). حالتی که احتمالاً برای گیاه مورد تحقیق حاضر اتفاق افتاده است. در اغلب گونه‌های گیاهی کادمیم در ریشه تجمع می‌یابد و به مقدار ناچیز به برگ‌ها منتقل می‌شود (Ramos et al., 2002). در بررسی تحمل گیاه *Thlaspi caerulescens* نشان داده شد که واکوئل‌ها و دیواره سلولی مهم‌ترین مکان‌های تجمع یون کادمیم می‌باشند (Wojcik et al., 2005). نتایج مشابه بر روی گیاه *Colocasia antiquorum* بدست آمد که میزان تجمع کادمیم در ریشه بیشتر از ساقه و برگ بود (Abul Kashem et al., 2013). طبق تعریف یک بیش‌انباشت‌کننده باید دست کم قادر به انباشت ۱۰۰ ppm یا ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (۰/۱٪) وزن

است. نصیبی (۱۳۹۰) در بررسی اثر غلظت‌های مختلف نیتروپروساید سدیم (SNP) در تخفیف صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه گوجه‌فرنگی بیان کرد پیش تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار یا کمتر می‌تواند احتمالا از طریق تداخل با ROS یا القای آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو نقش حفاظتی در برابر خشکی داشته باشد. نصیبی و همکاران (۱۳۹۰) در مقایسه پیش تیمار سدیم نیترو پروساید و آرژنین بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گوجه تحت تنش کم آبی نشان دادند که تاثیر کاربرد SNP تأثیری بر روی رنگیزه-های فتوسنتزی و قند محلول برگ نداشته است. احتمالا نقش NO در این میان ضعیف است و مسیر اصلی متابولیسم آرژنین را به طرف پلی آمین‌ها و پرولین است و از این طریق حفاظت خود را اعمال می‌کند (نصیبی و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین به نظر می‌رسد NO برای غلظت‌های مربوطه بخصوص غلظت بالا با تولید بیش از حد رادیکال -ONOO (پراکسی نیتريت) ایجاد تنش نیتروژاتیو می‌کند و با رادیکال‌های اکسیژن در تخریب سلول به‌صورت همکاری عمل می‌نماید.

#### نتیجه‌گیری:

بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد گیاه زیتون تلخ با توجه به انتقال و انباشت حدود ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیم به ساقه نمی‌تواند به عنوان یک گیاه بیش‌انباشت کننده معرفی شود. از بین شاخص‌های رشدی اندازه‌گیری شده سبزیگی برگ، طول و وزن تر ریشه در غلظت‌های استفاده شده در این آزمایش تحت تاثیر قرار گرفتند. از آنجا که اکثر فاکتورهای رشدی اندازه‌گیری شده در زیتون تلخ تحت تاثیر ماده سدیم نیتروپروساید قرار نداشتند نتیجه‌گیری شد که این ماده نقش محسوسی در حفاظت این گیاه در برابر عناصر سنگین ایفا نمی‌کند.

#### تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله از اداره کل منابع طبیعی استان یزد و همچنین از قطب تنش‌های گیاهی دانشگاه اصفهان تشکر می‌نمایند.

نشان داد کاهش رشد ریشه، تولید پایین‌تر زیست توده (به خصوص در برگ) و ریشه‌های کوتاه‌تر از علائم مسمومیت کادمیم در گیاه گوجه هستند (Chaffei et al., 2004). کادمیم، وزن تر و خشک، طول ریشه، سطح برگ و سایر پارامترهای بیومتریک را مهار می‌کند و تقریبا در همه تحقیقات، گزارش شده است (Vassilev and Yordanov, 1997). وزن تر ریشه در تیمار بدون SNP در همه غلظت‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت. ریشه اولین اندامی است که در تماس با کادمیم بوده و بیشترین تجمع این ماده را نشان داد. بنابراین بیشترین تنش و تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌های ریشه اتفاق می‌افتد. عناصر سنگین موجب تغییر در رژیم آبی گیاهان می‌شوند. تجمع پرولین در گیاه *Silene vulgaris* را به کمبود آب که در نتیجه‌ی اثر عناصر سنگین حاصل می‌شود نسبت داده شده است (Schat et al., 1997). احتمالا سیستم جذب آب در زیتون تلخ با مشکل روبرو شده و این باعث شده تا هم وزن تر و هم طول ریشه با کاهش روبرو شود. وزن تر ریشه در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ تیمار SNP افزایش معنی داری نسبت به تیمار بدون SNP داشت. این موضوع می‌تواند به نقش NO در کنترل رادیکال‌های آزاد نسبت داده شود.

نتایج این تحقیق نشان داد که اکثر فاکتورهای رشدی اندازه‌گیری شده در زیتون تلخ تحت تاثیر ماده سدیم نیتروپروساید نبودند. سدیم نیتروپروساید یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید است که در حالت محلول به‌شدت به نور حساس بوده، تجزیه آن توسط اکسیژن و دمای زیاد تسریع می‌شود (Wieczorek et al., 2006). نیتریک اکسید یک رادیکال گازی نسبتا پایدار و یک گونه واکنش‌پذیر نیتروژن محسوب می‌شود که می‌تواند نقش حفاظتی یا تنشی (میل شدید NO<sup>۰</sup> به اکسیداسیون و احیاء) داشته باشد (Beligni and Lamattina, 2001). آنزیم‌های نیتریک اکسید سنتتار، آرژیناز و آرژنین دکربوکسلاز سه مسیر اصلی متابولیسم آرژنین را کاتالیز می‌کنند. آنزیم نیتریک اکسید سنتتار (NOS) آرژنین را به نیتریک اکسید و سیترولین هیدرولیز می‌کند در حالیکه محصولات اصلی مسیرهای وابسته به آرژیناز و آرژنین دکربوکسیلاز ترکیبات پلی آمین و پرولین

منابع:

- of plants and cadmium accumulation in heads of two cultivars of white cabbage. *Journal of Elementology Plant and Soil* 39: 205-207.
- Beligni, M. V. and Lamattina, L. (1999) Nitric oxide protects against cellular damage produced by Methyl viologen herbicides in potato plants. *Nitric Oxide* 3: 199-208.
- Boycheva, S. and Babalakova, N. (2008) Does chelated Copper ameliorate in greening of Iron-deficient cucumber plants through nitric oxide signaling? Comparison with chemical schutt. *Bulletin of High Institute of Public Health* 25: 439-446.
- Chaffei, C., Pageauk, S., Gouia, H., Ghorbel, M. H. and masclaxu –Daubresse, C. (2004) Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon escu-lentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy. *Plant and Cell Physiology* 45: 1681-1693.
- Chen, X., Wang, J., Shi, Y., Zhao, M. Q. and Chi, G. Y. (2011) Effects of cadmium on growth and photosynthetic activities in pakchoi and mustard. *Botanical studies* 52: 41-46.
- Das, P., Samantaray, S. and Rout, G. R. (1997) Studies on cadmium toxicity in plants a review. *Environmental Pollution* 98: 29-36.
- Del Rio, L. A., Corpas, F. J. and Barroso, J. B. (2004) Nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochemistry* 65: 783- 792.
- Doumett, S., Lamperi, L., checchini, L., Azzarello, E., Mugnai, S., Mancuso, S., Petruzzelli, G. and Del bubba, M. (2008) Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: influence of different complexing agents. *Chemosphere* 72: 1481-1490.
- Duan, X., Su, X., You, Y., Qu, H., Li, Y. and Jiang, Y. (2007) effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. *Food chemistry* 104: 571-576.
- Fan, K. C., Hsi, H. C., Cheng, C. W., Lee, H. L. and Hseu, Z. Y. (2011) Cadmium accumulation and tolerance of mahogany (*Swietenia macrophylla*) seedlings for phytoextraction plications. *Journal of Environmental Management* 92: 2818-2822.
- Farago, M. E. and Mullen, W. A. (1979) Plants which accumulate metals. Part IV. A possible copper-proline complex from the roots of *Armeria maritima*. *Inorganica Chimica Acta* 32: 93-94.
- Filippou, P., Antoniou, C. and Fotopoulos, V. (2013). The nitric oxide donor sodium nitroprusside regulates polyamine and proline metabolism in leaves of *Medicago truncatula* plants. *Free radical Biology and Medicine*, 56: 172-183.
- Gill, S. S., Khan, N. A. and tuteja, N. (2012) Cadmium at high dose perturbs groth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.). *plant Science* 182: 112-120.
- آفتاب طلب، ن. (۱۳۸۶) بررسی توان پالایش دو عنصر سمی کادمیم و سرب بوسیله نهال‌های دوساله دو گونه چنار و سرو سیمین. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- جزیره‌ای، م. (۱۳۸۴) جنگل کاری در خشک بوم. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، تهران.
- خداکرمی، ی. (۱۳۸۶) ارزیابی توان زیست پالایی خاک در دو گونه بلوط ایرانی و بنه (*Pistacia atlantica Quercus* & *brantii*). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- شریعت، آ. (۱۳۸۷) اثر تنش خشکی بر رنگیزه‌های گیاهی، پرولین، قندهای محلول و پارامترهای چهارگونه از اکالیپتوس. مجله پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی ۱۴۰-۱۴۸.
- نصیبی، فاطمه، ۱۳۹۰. بررسی اثر غلظت‌های متفاوت نیتروپرووساید سدیم (SNP) در تخفیف صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه گوجه فرنگی، مجله زیست شناسی گیاهی، شماره ۹، ۶۳-۷۴.
- نورانی‌آزاد، ح. و کفیل‌زاده، ف. (۱۳۹۰) تاثیر سمیت کادمیم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌ها در گلرنگ، مجله زیست شناسی ایران ۲۴: ۸۵۸-۸۶۷
- Abul Kashem., Huq, I., Singh, B. R. and Kawai, Sh. (2013) Cadmium Tolerance and Phytoextraction Efficiency of *Arum (Colocasia antiquorum)* Grown in Spiked Cd Contaminated Soil. *International Journal of Environmental Protection* 3: 1-5.
- Alia, G., Srivastava, P.S. and Iobal, M. (2001) Responses of bacopa moniera cultures to cadmium toxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 66: 342-349.
- Baryla, A., Carrier, P., Frank, F., Coulomb, C., Sahut, C. and Havaux, M. (2001) Leaf chlorosis oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for photosynthetic and growth. *Planta* 212: 696-709.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant soil* 39: 205-207.
- Bączek-Kwinta, R., Bartoszek, A., Kusznierevicz, B. and Antonkiewicz, J. (2011) Physiological response



- root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora* 204: 316-324.
- Neill, J. Radhika. D. Hancock. J. (2003) Nitric oxide signaling in plant. *New Phytologists* 159: 11-35.
- Nikolic, N., Kojic, D., Pilipovic, A., Pajevic, S., Krstic, B., Borisev, M. and Orlovic, S. (2008) Responses of hybrid poplar to cadmium stress: Photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation, and antioxidant enzyme activity. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 50: 95-103.
- Pulford, I. D. and Watson, C. (2003) Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by tree- a review. *Environment International* 29: 529-540.
- Ramos, I., Esteban, E., Lucena, J. J. and Garate, A. (2002) Cd uptake and sub cellular distribution in plant of lactuca sp. Cd- Mn intraction. *Plant Science* 162: 761- 767.
- Sanita, L. and Gabbrielli, R. (1999) Response to cadmium in higher plants. *Environmental and xperimental Botany* 41: 105-130.
- Schat, H., Sharma, S., and Vooijs, R. (1997). Heavy metal induced accumulation of free proline in a metal tolerant and non tolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 101: 477-482.
- Shafi Tantrey, M. and Agnihotri, R. K. (2010) Chlorophyll and proline content of gram (*Cicer arietinum* L.) under cadmium and mercury treatments. *Research Journal of Agricultural Sciences* 1 (2): 119-122.
- Shanti, S. S. and Dietz, K. J. (2006) The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany* 57: 711-726.
- Sharma, S., Schat, H. and Vooijs, R. (1998) In vitro alleviation of heavy metal- induced enzyme inhibition by proline. *Phytochemistry* 49: 1531-1535.
- Sheoran, I. S., Singal, H. R. and Singal, R. (1990) Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Photosynthetic Research* 23: 345-351.
- Sun, Q., Ye, Z. H., Wang, X. R. and Wong, M. H. (2007) Cadmium hyperaccumulation leads to an increase of glutathione rather than phytochelatins in the cadmium hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Journal of Plant Physiology* 164: 1489-1498.
- Tu, J., Shen, W. B. and Xu, L. L. (2003) Regulation of nitric oxide on ageing processes of wheat leaves. *Acta Botanica Sinica* 45: 1057-1061
- Vassilev, A. and Yordanov, I. (1997) Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium treated plants: a review. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 23: 114-113.
- Watanabe, M.A. 1997. Phytoremediation on the brink of commercialization, *Environmental Science and Technology* 31: 182-186.
- Wieczorek, J. F., Milczarek, G., Arasimovicz, M. and Ciszewski, A. (2006) Do nitric oxide donors mimic
- Graziano, M., Beligni, M. V. and Lamattina, L. (2002) Nitric Oxide Improves Internal Iron Availability in Plants. *Plant Physiology* 16: 1852-1859.
- Haouari, Ch. Ch., Nasraoui, A. H., Bouthour, D., Houada, M. D., Daieb, Ch. B., Mnai, J. and Gouia, H. (2012) Response of tomato (*Solanum lycopersicon*) to cadmium toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll content and hotosynthetic rate. *African Journal of Plant Science* 6 (1): 1-7.
- He, J., Qin, J., Long, L. Y., Ma, Y. L., Li, H., Li, K., Jiang, X. N., Liu, T. X., Polle, A., Liang, Z. and Luo, Z. B. (2011) Net Cadmium flux and accumulatio nrevealt issue-specific oxidative stress an dde toxification in PopuLus 9 canescens. *Physiol Plant* 143: 50-63.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoproxidation in isolated chloroplasts, kinetics and stoichiometry of fatty acid proxidation. *Arch. Biochem. Biophy* 125: 189-198.
- Hernandez, E. L., Lozano-Ridriguez, E., Garate, A. and Carpena-Ruiz, R. (2001) Influence of cadmium on the uptake, tissue accumulation and subcellular distribyion of manganese in pea seedling. *Plant Science* 132: 139-151.
- Hsu, Y. T. and Kao, Ch. H. (2004) Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Plant Growth Regulation* 42: 227-238.
- Kim, C. G., Bell, N. B. and Power, S. A. (2003) Effects of soil cadmium on pinus sylvestris L. Seedling. *Plant and Soil* 257: 443-449.
- Kochert, G. (1978) Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Kopyra, M. and GwÓz'dz, E. A. (2003) Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts in inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 1011-1017.
- Laspina, N. V., Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2005) Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science* 169 : 323-330.
- Mehta, S. K. and Gaur, J. P. (1999) Heavy metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytologist* 143: 253-259.
- Mejare, M. and Bulow, L. (2001) Metal binding proteins and peptides in bioremediation and hytoremediation of heavy metals. *Trends in Biotechnology* 19: 67-73.
- McGrath, S. P., Zhao, F. J. and Lombi, E. (2002) Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. *Advance in Agronomy* 7: 1- 56.
- McGrath, S. P., Zhao, F. J. and Lombi, E. (2002) Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. *Advance in Agronomy* 7: 1- 56.
- Nedjimi, B. and Daoud, Y. (2009) Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *Schweinfurthii* and its influence on growth, proline,

- activities in *Groenlandia densa* under cadmium stress. *Ecological Indicators* 11: 417-423.
- Zengin, F. K. and Munzuroglu, O. (2005) Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47: 157-164.
- Zhang, G., Fukami, M. and Sekimoto, H. (2002) Influence of cadmium on mineral concentration and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage. *Field Crops Research* 77: 93-98.
- endogenous NO-related response in plants. *Planta* 224:1363-1372.
- Wojcik, M., Vangronsveld, J. and Tukiendorf, A. (2005) Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*: Growth parameters, metal accumulation and phytochelatin synthesis in response to cadmium. *Environmental and Experimental Botany* 53: 151-161.
- Xu, J., Yin, H. X., Li, Y. L., Liu, X. J. (2010) Nitric oxide is associated with long-term zinc tolerance in *Solanum nigrum*. *Plant Physiology* 154: 1319–1334.
- Yilmaz, D. D. and Parlak, K. U. (2011) Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme