

تأثیر محلول پاشی نانوذرات آهن بر بهبود برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک خرفه (*Portulaca oleracea* L.) تحت تنش کادمیوم

زهره نوری آکندی^۱، حسن مکاریان^{۱*}، همت‌اله پیردشتی^۲، محمدرضا عامریان^۱، مهدی برادران فیروزآبادی^۱،
محمدعلی تاجیک قنبری^۳

^۱ گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود،^۲ گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان،
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،^۳ گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۱/۲۸)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی نانوذرات آهن بر بهبود برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک خرفه تحت تنش کادمیوم، پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۶ و در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل شش سطح عنصر کادمیوم (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع کلرید کادمیوم) و پنج سطح محلول پاشی نانوذرات آهن (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) بود. نتایج نشان داد برهمکنش نانوذرات آهن و کادمیوم بر صفت سطح برگ، وزن خشک ریشه و پرولین در سطح پنج درصد و بر وزن خشک برگ و شاخص سبزیگی برگ در سطح یک درصد اثر معنی داری داشت. روند پاسخ سطح برگ با افزایش میزان کادمیوم در سطوح صفر، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت خطی و کاهشی بود اما با محلول پاشی ۰/۲۵ گرم در لیتر به صورت دوتکه‌ایی بیان شد. محلول پاشی نانوذرات آهن سبب افزایش میزان وزن خشک ریشه تا سطح ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک گردید اما در سطوح بالاتر وزن خشک ریشه با شیب کاهشی همراه بود. در این میان غلظت ۰/۵ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن با ۳۴/۸۰ درصد نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را در افزایش وزن خشک ریشه داشت. میزان عدد اسپد در هر دو سطح ۰/۵ و ۰/۷۵ تا غلظت ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به ترتیب ۱۱/۱۹ و ۲۸/۹۰ درصد به نسبت شاهد افزایش یافت. با این وجود در سطوح بالاتر کادمیوم عدد اسپد با روند کاهشی همراه بود. در مجموع، نتایج نشان داد که محلول پاشی نانوذرات آهن می‌تواند تا حدودی در بهبود تحمل به تنش کادمیوم در گیاه خرفه مؤثر باشد.

کلمات کلیدی: تنش، گیاه پالایی، فلزات سنگین، نانوذرات

مقدمه

صنعتی شدن، تولید انرژی، فعالیت‌های کشاورزی و تولید زباله‌های شهری، میزان فلزات سنگین در خاک افزایش یافته است (Megateli et al., 2009). یکی از منابع بسیار مهم در افزایش آلودگی خاک، تخلیه فاضلاب‌های شهری است. این

آلودگی فلزات سنگین یکی از اساسی‌ترین مشکلات زیست محیطی است که جهان مدرن با آن روبرو است (نادری و همکاران، ۱۳۹۱). با توجه به فعالیت‌های انسانی، افزایش

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: h.makarian@shahroodut.ac.ir

فاضلاب‌ها که برای آبیاری مزارع نیز استفاده می‌شوند، اگر چه سرشار از مواد مغذی هستند، اما همزمان منبعی غنی از فلزات سمی و سرطان‌زا نیز هستند (MacFarlane et al., 2007). فلزات سنگین قادر به انتقال و انباشت در گیاهان، حیوانات و انسان‌ها هستند که در غلظت‌های بالا در نهایت منجر به مهار رشد و حتی مرگ می‌شوند (Mishra et al., 2006). علاوه بر این فلزات سنگین دارای پایداری طولانی مدت در بدن انسان هستند که ممکن است مسائل بهداشتی خطرناکی را برای انسان ایجاد کند. عوامل متعددی از جمله گونه گیاهی و شرایط خرد اقلیم، آلودگی محیط‌زیست بر غلظت این فلزات در گیاهان تأثیر می‌گذارند (Broadley et al., 2007). این فلزات در غلظت‌های بالا سبب تخریب غشاء پلاسمایی سلول‌های گیاهی، اختلال در فعالیت آنزیم‌های سازنده پروتئین‌های ساختمانی و یا جایگزین شدن در ساختمان مواد حیاتی و در نتیجه مختل شدن فعالیت آنها می‌شوند (صدوری و قرچه، ۱۳۹۲).

در بین فلزات سنگین، کادمیوم (Cd) یکی از سمی‌ترین عناصر است که هیچ‌گونه ارزش غذایی برای گیاهان ندارد اما به راحتی توسط ریشه و بافت‌های گیاهی در سطوح بالا جذب می‌شود (Prasad, 1995). سازمان مواد سمی و بیماری‌های آمریکا (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) کادمیوم را در اولویت فهرست ده ماده خطرناک و سمی خود قرار داده است (Kammeno, 2000). کادمیوم به راحتی به گروه‌های سولفاتیک مانند پروتئین و آنزیم‌ها متصل شده و به این ترتیب عملکرد آنها را کاهش می‌دهد (Aibibu et al., 2010). همچنین این فلز می‌تواند از طریق تخریب کلروپلاست، کاهش فتوسنتز، تخریب آنزیم‌های درگیر در تثبیت CO₂، پراکسیداسیون لیپید و اختلال در متابولیسم نیتروژن و گوگرد سبب سمیت در گیاه شود (Das et al., 1997). مطالعات بسیاری در زمینه تأثیر مخرب کادمیوم بر رشد گیاهان انجام شده است که از جمله آنها می‌توان به گیاه خرفه (Yaghoobian et al., 2016)، بادرنجبویه (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۵)، گوجه‌فرنگی (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۷) و

گل جعفری (Shah et al., 2017) اشاره نمود. Abo-Kassem و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که تیمار گیاهان گندم با غلظت ۱۰ میکرومولار کادمیوم باعث کاهش ۲۰ درصدی میزان رشد نسبی در این گیاهان گردید. همچنین در مطالعه دیگری بیان شد میزان رشد نسبی گیاه جو تحت تنش کادمیوم با غلظت ۵۴ میکرومولار، ۸۵ درصد کاهش یافت (Vassilev, 2003).

روش‌های مختلفی برای ترمیم و اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین وجود دارند که در این بین روش‌های تثبیت، شستن خاک و گیاه‌پالایی به عنوان بهترین روش‌ها شناخته شده‌اند. گیاه‌پالایی که به آن پالایش سبز نیز گفته می‌شود، به عنوان یک روش پالایش درجا شناخته شده است که از گیاهان برای اصلاح خاک‌های آلوده استفاده می‌کند (Willey, 2007). خوشبختانه با استفاده از فناوری زیستی و توانایی‌های موجود در طبیعت میزان صدمه به محیط‌زیست را می‌توان به حداقل رساند. گیاه‌پالایی روش پالایشی است که شامل جذب، تغییر شکل، تجمع و یا تصعید آلاینده‌ها با کمک گیاهان برای زدودن آلودگی‌های آب، خاک و هوا است (Mulligan et al., 2001). به طور کلی، برای انتخاب یک گیاه برای هدف گیاه‌پالایی باید قدرت جذب بالای گیاه، تولید زیست‌توده بالا و انتقال زیاد عنصر از ریشه به ساقه مد نظر قرار بگیرد (Zhang et al., 1997).

از طرفی وضعیت تغذیه‌ای آهن می‌تواند بر جذب اختصاصی و غیراختصاصی فلزات سنگین اثرگذار باشد (Cohen et al., 2004). آهن جزء ساختار سیتوکروم‌ها، فردوکسین‌ها و لگ‌هموگلوبین‌هاست و در بسیاری از فعالیت‌های حیاتی گیاه از قبیل فتوسنتز، تنفس و تثبیت مولکولی نیتروژن شرکت می‌کند. همچنین آهن در ساختمان پروتئین‌های هم (Heme-proteins) به کار رفته که این ترکیبات پیش‌نیاز ساخت کلروفیل هستند (Sanchez et al., 2005). فلزات سنگین قابلیت دسترسی و جذب آهن در آپوپلاست ریشه، جذب به درون سلول‌های ریشه و انتقال به بخش هوایی را کاهش می‌دهند و سبب می‌شوند آهن کمتری در اختیار برگ‌ها قرار گیرد. گزارش شده است که در وضعیت کمبود آهن،

بیماری‌های عفونی را دارا است (Safdari and Kazemitabar, 2009; Shidfar et al., 2007). این گیاه از نقطه نظر فیزیولوژیکی دارای قابلیت تحمل بسیار بالا در محیط‌های آلوده به فلزات سنگین بوده و گیاه مناسبی برای کاشت و پالایش محیط و خاک از فلزات سنگین به شمار می‌رود (Tiwari et al., 2008). در زمینه تأثیر نانوذرات آهن بر تحمل به تنش غلامی و همکاران (۱۳۹۵) بیان کردند که کاربرد نانوکلات آهن باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدهید و افزایش پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و در نهایت سبب بهبود و افزایش رشد گیاه ریحان تحت تنش شوری گردید. در تحقیق دیگری اثنی‌عشری و انتشاری (۱۳۹۷) گزارش کردند که کاربرد نانوذرات آهن سبب افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش آلومینیوم گردید. طبق گزارش فتحی و زاهدی (۱۳۹۳)، محلول پاشی آهن و روی به شکل نانوذرات نسبت به شکل معمول آنها تأثیر بیشتری بر رشد گیاهان ذرت دارد. با این حال، شکل نانو از نظر تعدیل اثرات شوری بر رشد گیاه برتری نداشت. حیدری و همکاران (۱۳۹۴) نیز گزارش کردند در سطوح بالای تنش خشکی، محلول پاشی نانو اکسید آهن سبب افزایش میزان رنگدانه‌ها، جذب عناصر کانی و در نهایت افزایش عملکرد دانه در گیاه کنجد را در پی داشت. در آزمایش Konate و همکاران (۲۰۱۷) نیز مشخص گردید که تجمع کادمیوم، مهار رشد ریشه و تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های خیار و گندم با افزودن نانوذرات آهن به طور قابل توجهی کاهش یافت. بنابراین هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی امکان استفاده از نانوذرات آهن بر بهبود تحمل به تنش کادمیوم در گیاه خرفه در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۶ در پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای

جذب و تجمع فلزات سنگین افزایش می‌یابد (Tafvizi et al., 2014). به طور کلی کادمیوم در جذب و انتقال طبیعی عناصر غذایی در گیاه تداخل ایجاد می‌کند و بخشی از اثرات سوء آن در گیاه مربوط به برهم زدن تعادل عناصر غذایی و تداخل در جذب عناصر ضروری است. در آزمایشی نشان داده شد کادمیوم خاک موجب تخریب ساختمان برگ و در نتیجه اختلال در تعرق گیاه و جذب عناصر از ریشه می‌گردد. در نتیجه میزان انتقال عناصر ضروری برای گیاه در قسمت‌های بالای خاک کاهش می‌یابد. از طرفی فقدان آهن می‌تواند ژن‌های مؤثر بر جذب این عنصر را فعال کند که این ژن‌ها ممکن است جذب و انتقال فلزات دو ظرفیتی از قبیل روی و کادمیوم را نیز تسهیل کند (Cohen et al., 1998). هر چند وجود برخی فلزات از جمله آهن در خاک برای رشد طبیعی گیاهان ضروری است، غلظت‌های بالای این عناصر از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد سمی و القا تنش اکسیداتیو می‌تواند عاملی برای بازدارندگی رشد و ایجاد علائم سمیت شود (Suh et al., 2002)، بنابراین تعیین میزان مطلوب آن از اهمیت به سزایی برخوردار است.

یکی از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو در کشاورزی استفاده از ترکیبات نانو در تغذیه گیاه است (Rezai et al., 2010) زیرا جذب و انتقال این ترکیبات از طریق برگ به سهولت انجام می‌شود (Liu et al., 2006). نانوکودها خصوصیات مطلوب مانند غلظت مؤثر، قابلیت حل پذیری مناسب، ثبات و تأثیرگذاری بالا و رهایش کنترل شده را دارند که سبب افزایش کارایی عناصر غذایی می‌شوند (Naderi et al., 2013). گیاه دارویی خرفه با اسم علمی *Portulaca oleracea* L. و با نام انگلیسی Purslane از تیره خرفه (Portulacaceae)، گیاهی گرمادوست است که مسیر فتوسنتزی آن از نوع C₄ بوده و قابل تبدیل به CAM است. خرفه حاوی مقادیر زیادی مواد با خواص درمانی فوق العاده و ترکیبات بی نظیر چربی مانند امگا ۳ (اسید لینولنیک) و اسیدهای چرب غیر اشباع دیگر و همچنین دارای مقدار قابل ملاحظه‌ای ویتامین‌های A، C، E و بتا کاروتن است و توانایی خنثی کردن رادیکال‌های آزاد را دارا بوده و پتانسیل جلوگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان و

آزمایشی شامل شش سطح عنصر کادمیوم (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع کادمیوم کلرید) و پنج سطح محلول پاشی نانوذرات آهن (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) بود. ابتدا نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده با اسید آسکوربیک (AAS – ZVIN) در دمای محیط از طریق احیای آهن کلرید (FeCl_3) توسط سدیم بر هیدرات (NaBH_4) براساس رابطه ۱ سنتز شد (Zhang et al., 2011; Huang et al., 2014; Savasari et al., 2015).

(رابطه ۱)

$$2\text{FeCl}_3 + 6\text{NaBH}_4 + 18\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{Fe}^0 + 6\text{NaCl} + 6\text{B(OH)}_3 + 21\text{H}_2$$

در ابتدا ۱۰۰ میلی لیتر محلول، شامل مخلوط ۰/۱۶ مولار سدیم بر هیدرات و ۰/۱ مولار سود (NaOH) در آب دی یونیزه آماده شد. سپس به طور جداگانه ۱۰۰ میلی لیتر محلول (۳۰ میلی لیتر اتانول و ۷۰ میلی لیتر آب دی یونیزه) حاوی مخلوط ۰/۱ مولار آسکوربیک اسید و آهن کلرید ۰/۱ مولار تهیه شد. در مرحله بعد سدیم بر هیدرات حل شده با سود داخل بورت ریخته و به صورت قطره قطره (یک قطره در هر دو ثانیه) به محلول آهن کلرید اضافه گردید. در طول ساخت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده محلول به صورت یکنواخت و با سرعت ثابت توسط همزن برقی همزده و در پایان برای اطمینان کامل از شرایط احیا و اتمام واکنش، محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن برقی باقی ماند. به منظور تعیین اندازه نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده نیز از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده گردید (کاشانی و همکاران، ۱۳۹۷).

خاک مورد نظر برای آزمایش از عمق ۳۰ – ۰ سانتی متری خاک مزرعه پژوهشی دانشگاه برداشت و به نسبت دو به یک با ماسه مخلوط و از الک دو میلی متری عبور داده شد. سپس خاک به شش قسمت مساوی تقسیم و مقادیر مورد نظر کادمیوم به آن اضافه و بین گلدانها توزیع شد. ابتدا در هر گلدان ده بذر گیاه خرفه کاشته و پس از سبز شدن تنک شده و به پنج بوته در گلدان کاهش یافت. گلدانها در گلخانه و در شرایط نور طبیعی و دمای مطلوب برای گیاه قرار گرفته و به صورت روزانه آبیاری شدند. اولین محلول پاشی در مرحله

هشت برگی صورت گرفت که در دو مرحله به فاصله زمانی هفت روز یکبار انجام شد. ده روز پس از اتمام دوره محلول پاشی، بوتهها کفبر شده، وزن تر و خشک گیاهان با ترازوی دیجیتالی، ارتفاع بوته با خطکش، قطر ساقه با کولیس دیجیتالی سطح برگ با نرم افزار Digimizer، صفات فیزیولوژیک از جمله نشت الکترولیت (Lutts et al., 1995)، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، شاخص سبزیگی برگ (عدد اسپد) با کلروفیل متر (SPAD-502, Minolta, Japan) و هدایت روزنه ای با استفاده از دستگاه پرومتر (مدل KR1310, KOREA) بر حسب واحد میلی مول بر متر مربع در ثانیه و صفات بیوشیمیایی شامل پراکسیداسیون لیپیدی غشا، هیدروژن پراکسید و پرولین اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ یک برگ از برگهای انتهایی گیاه برداشت و بلافاصله توزین و به لوله های آزمایش حاوی آب مقطر منتقل و بعد از ۲۴ ساعت وزن آماس برگها تعیین شد. سپس نمونه های برگ در آون در دمای ۷۲ درجه و به مدت ۴۸ ساعت خشک و محتوای رطوبت نسبی برگها با استفاده از رابطه ۲ به دست آمد (Schonfeld et al., 1988).

$$RWC = \frac{WF - WD}{WT - WD} \times 100 \quad (\text{رابطه ۲})$$

که در این رابطه WF: وزن تر برگ، WD: وزن خشک برگ و WT: وزن آماس برگ است.

به منظور اندازه گیری نشت الکترولیت نمونه برگ در لوله های آزمایش حاوی ده میلی لیتر آب مقطر قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی هر نمونه با دستگاه EC متر (CON 410) اندازه گیری شد (EC_1). به منظور اندازه گیری میزان کل نشت الکترولیت ها در اثر مرگ سلول، لوله های آزمایش در دستگاه بن ماری با دمای ۹۰ درجه و به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه ها ثبت گردید (EC_2). سپس درصد نشت الکترولیت ها با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (Teutonica et al., 1993).

$$\text{نشت الکترولیت} = \frac{\text{EC}_2}{\text{EC}_1} \times 100 \quad (\text{رابطه ۳})$$

میزان هیدروژن پراکسید با استفاده از روش Alexieva و همکاران (۲۰۰۱) و براساس واکنش H_2O_2 با پتاسیم یدید (KI)

فیزیولوژیک از تجزیه رگرسیونی و برازش معادلات خطی (رابطه ۴) و دو تکه ای (رابطه ۵) پیشنهاد شده توسط سلطانی و همکاران (Soltani et al., 2006) استفاده شد.

$$y = b_1x + a \quad (\text{رابطه ۴})$$

(رابطه ۵)

$$y = b_1x + a \quad \text{if } x \leq x_0$$

$$y = (b_1x_0 + a) + b_2(x - x_0) \quad \text{if } x > x_0$$

که در آن y مقدار پیش بینی شده برای صفات مورد نظر، a مقدار ثابت در غلظت صفر تیمار مورد نظر، x غلظت تیمار، x_0 نقطه چرخش بین دو فاز معادله و b_1 و b_2 شیب تغییرات صفات (کاهشی یا افزایشی) به ترتیب در فاز یک و دو معادله هستند. رسم منحنی ها با نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های حاصل از آزمایش نشان داد که اثر ساده نانوذرات آهن بر ارتفاع بوته، قطر و وزن خشک ساقه در سطح یک درصد معنی دار بود. همچنین اثر کادمیوم بر ارتفاع بوته، قطر ساقه، وزن خشک ساقه و وزن خشک کل در سطح یک درصد اثر معنی داری نشان داد. برهمکنش نانوذرات آهن و کادمیوم نیز در صفت سطح برگ و وزن خشک ریشه در سطح پنج درصد و وزن خشک برگ در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۱).

طبق یافته ها پاسخ ارتفاع بوته، قطر ساقه، وزن خشک ساقه و وزن خشک کل به افزایش کادمیوم به صورت خطی و به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۶۵، ۰/۷۵۹، ۰/۸۷۹ و ۰/۸۵۵ بیان شد. با افزایش سمیت کادمیوم میزان ارتفاع بوته، قطر ساقه، وزن خشک ساقه و وزن خشک کل به ترتیب با شیب های ۱۰/۷۱، -۰/۰۰۶۱، -۰/۰۰۱۱ و -۰/۰۰۲۶ کاهش یافت (شکل ۱). همچنین با افزایش غلظت نانوذرات آهن روند ارتفاع بوته به صورت دوتکه ای (با ضریب تبیین ۰/۷۱) و قطر ساقه به صورت خطی (با ضریب تبیین ۰/۸۱) بود (شکل ۲). افزایش غلظت نانوذرات آهن تا سطح ۰/۲۵ گرم در لیتر سبب افزایش ۴/۳۵ درصدی ارتفاع بوته نسبت به سطح شاهد شد اما با افزایش بیشتر غلظت نانوذرات آهن میزان ارتفاع بوته نسبت به

تعیین گردید. در این روش ۵۰۰ میلی گرم از بافت تازه برگ در پنج میلی لیتر TCA ۰/۱ درصد در حمام آب یخ ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ گردید. سپس به نیم میلی لیتر از محلول رویی، نیم میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ده میلی مولار و اسیدیته ۷/۵ و یک میلی لیتر پتاسیم یدید یک مولار اضافه گردید. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت و سپس جذب نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری شد.

پراکسیداسیون لیپیدی غشا براساس روش Stewart و بولی (۱۹۸۰) اندازه گیری شد. ۰/۵ گرم از برگ های گیاه در ده میلی لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید هموژن و به مدت ده دقیقه در ۱۵۰۰۰ g سانتریفیوژ گردید. دو میلی لیتر از محلول رویی حاصل با چهار میلی لیتر از محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید محتوای ۰/۵ درصد تیوباربتوریک مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل شد. نمونه ها مجدداً به مدت ده دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند. جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت و میزان پراکسید شدن لیپیدها با استفاده از اختلاف بین طول موج های جذبی و ضریب خاموشی $1 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ به دست آمد.

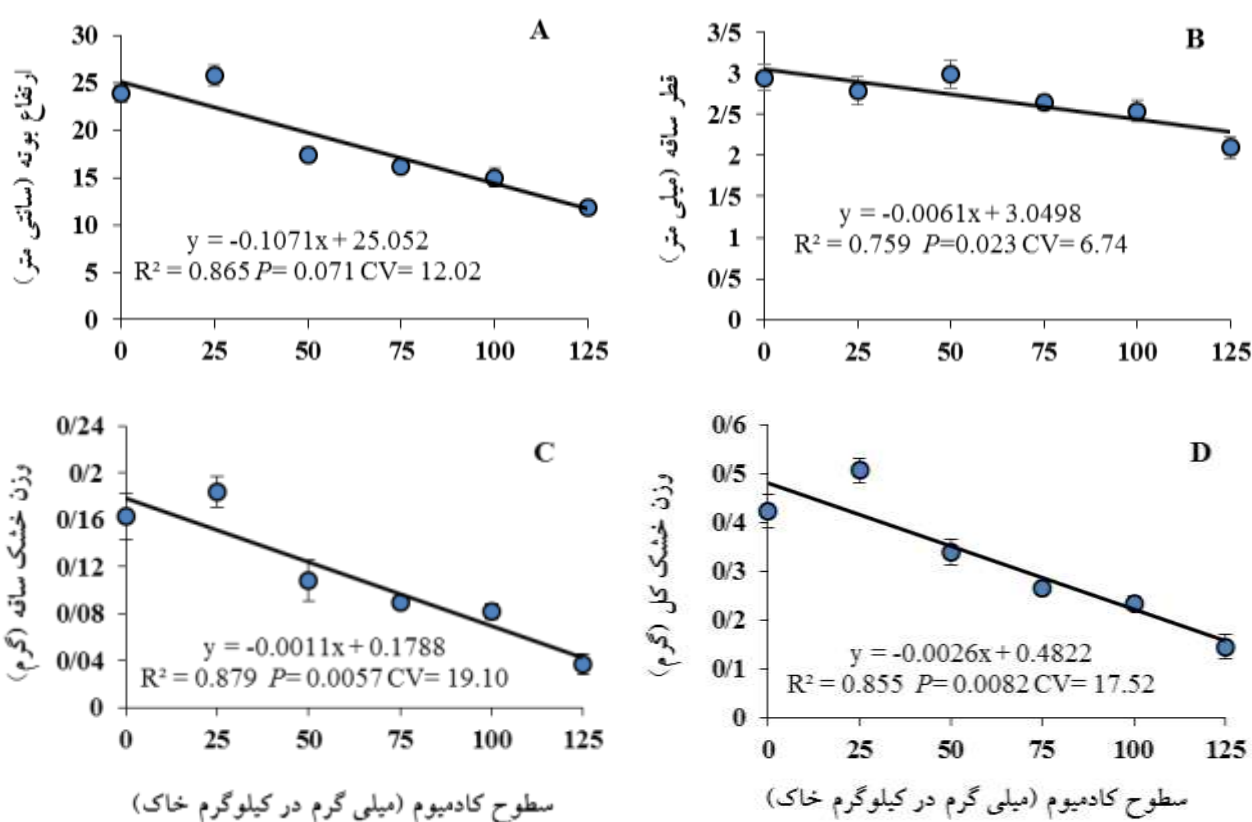
اندازه گیری محتوای پرولین با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. در این روش نیم گرم برگ تازه گیاه در هاون کوبیده و در ده میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید سه درصد هموژن و عصاره به دست آمده صاف شد. سپس دو میلی لیتر استیک اسید و دو میلی لیتر محلول ناین هیدرین اسید به دو میلی لیتر عصاره صاف شده در یک لوله آزمایش اضافه گردید. لوله های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب و دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و در پایان به یک بستر یخی منتقل شده و چهار میلی لیتر تولوئن به هر لوله آزمایش اضافه شد. غلظت پرولین محلول در تولوئن با اسپکتروفتومتر با توجه به منحنی استاندارد پرولین تعیین گردید.

در نهایت داده ها با نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و جهت کمی سازی روند تغییرات صفات مورفولوژیک و

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مورفولوژیک خرفه

منابع تغییر	df	ارتفاع بوته	قطر ساقه	سطح برگ	وزن خشک		
					برگ	ساقه	کل
نانوذرات آهن (A)	۴	۳۶/۵۳ ^{**}	۰/۳۷۵ ^{**}	۴۲/۴۸ ^{**}	۰/۰۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۲۶ ^{**}	۰/۰۰۲۴ ^{ns}
کادمیوم (B)	۵	۴۳۴/۹۳ ^{**}	۳/۷۴ ^{**}	۱۹۷/۲۷ ^{**}	۰/۰۲۱۹ ^{**}	۰/۰۴۴۴ ^{**}	۰/۲۶۰۱ ^{**}
A × B	۲۰	۳/۴۰ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۳/۳۵ [*]	۰/۰۰۱۰ ^{**}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۲۳ ^{ns}
خطای آزمایشی	۶۰	۳/۴۱	۰/۰۷	۱/۷۹	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۲۰
ضریب تغییرات		۱۰/۰۶	۹/۷۷	۱۳/۸۱	۱۵/۲۶	۲۲/۸۵	۲۴/۸۱

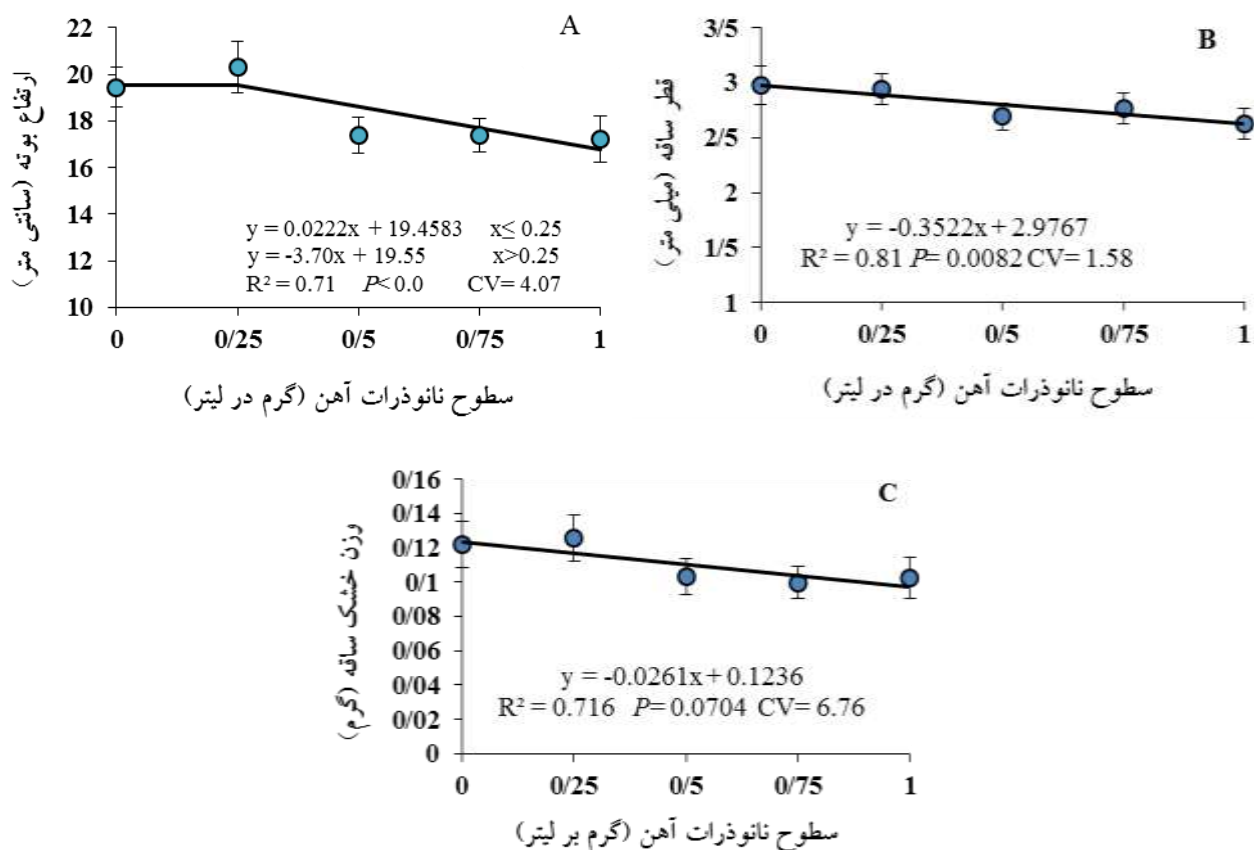
ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد



شکل ۱- روند پاسخ صفات ارتفاع بوته (A)، قطر ساقه (B)، وزن خشک ساقه (C) و وزن خشک کل (D) گیاه خرفه به سطوح مختلف کادمیوم

شدن سلول‌ها باشد که اغلب توسط مهار غیرقابل برگشت پمپ پروتون که مسئول این فرآیند است، رخ می‌دهد (Liu et al., 2003). از دلایل دیگر کاهش رشد می‌توان به تحرک بالای کادمیوم در آوند آبکش و تجمع آن در هر یک از اندام‌های گیاه اشاره کرد که رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ را تحت تأثیر قرار داده

سطح شاهد کاهش یافت (شکل A ۲). از طرفی میزان قطر و وزن خشک ساقه نیز با افزایش غلظت نانوذرات آهن (با شیب -0.352 و -0.26) به میزان $11/82$ و $77/41$ درصد نسبت به سطح شاهد کمتر شد (شکل B, C ۲). مهار رشد توسط کادمیوم می‌تواند به علت مهار تقسیم سلولی و سرعت تولید



شکل ۲- روند پاسخ صفات ارتفاع بوته (A)، قطر ساقه (B) و وزن خشک ساقه (C) گیاه خرفه به سطوح مختلف نانو ذرات آهن

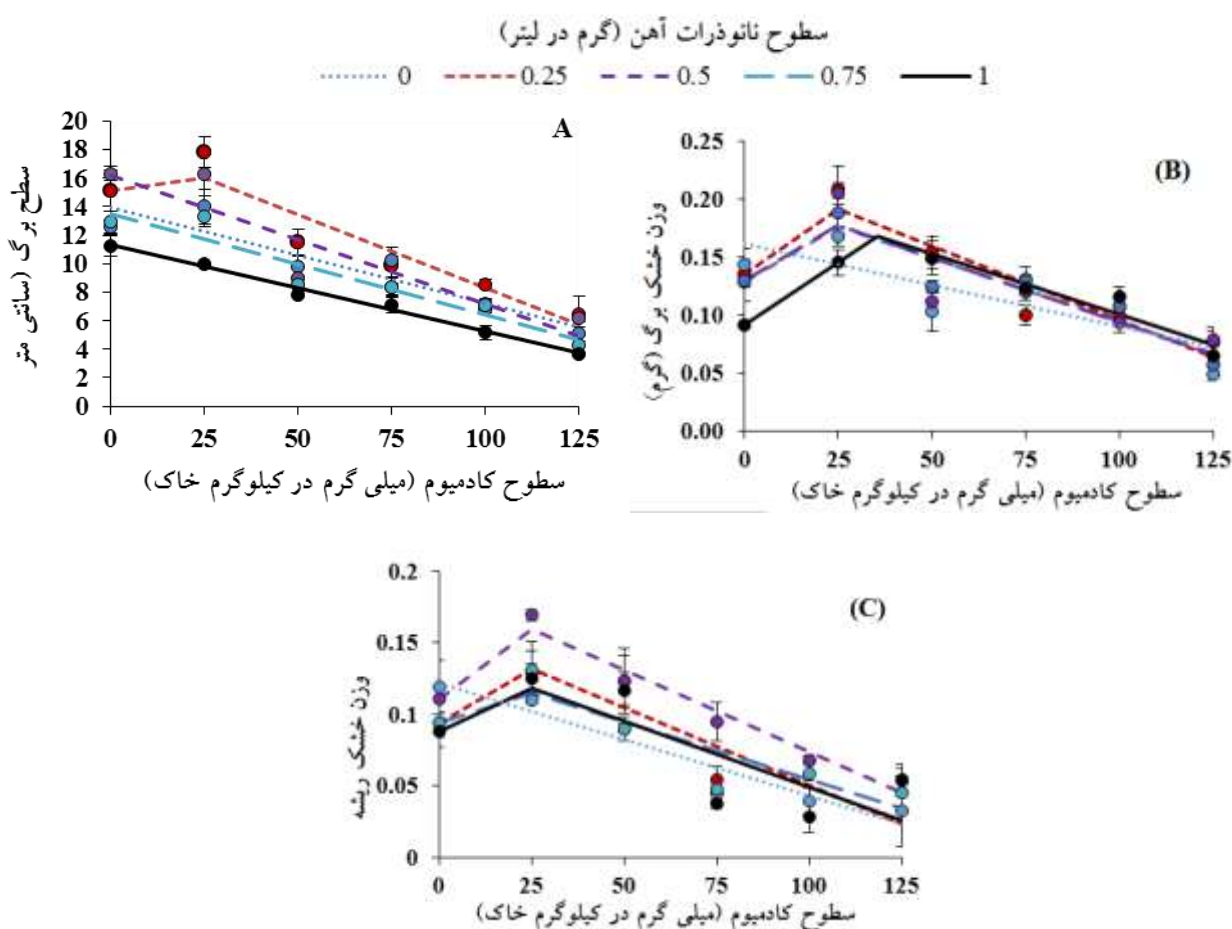
۰/۱۰۲- واحد) نشان داد (شکل A ۳، جدول ۲). این روند در سمیت ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک می تواند بیانگر تأثیر مثبت محلول پاشی نانو ذرات آهن در غلظت ۰/۲۵ گرم در لیتر باشد.

پاسخ وزن خشک برگ به افزایش کادمیوم خاک در تیمار عدم محلول پاشی به صورت خطی و کاهشی (ضریب تبیین ۰/۶۶۹) بود در حالیکه روند پاسخ وزن خشک برگ در هر سه سطح محلول پاشی نانو ذرات آهن به صورت دوتکه ای بیان شد. با افزایش کادمیوم میزان وزن خشک برگ در غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ محلول پاشی تا سطح ۲۵ و در غلظت یک گرم در لیتر محلول پاشی تا سطح ۳۵ افزایش یافت اما افزایش بیشتر از این سطوح کادمیوم، سبب کاهش وزن خشک برگ گردید (شکل B ۳، جدول ۲). روند پاسخ وزن خشک ریشه نیز در تیمار عدم محلول پاشی به صورت خطی و کاهشی (با ضریب تبیین ۰/۹۲۳) نشان داده شده بدین صورت که با افزایش

و کاهش رشد گیاه را سبب می شود (Hussain et al., 2015). نتایج تجزیه رگرسیون نشان داد که روند پاسخ سطح برگ با افزایش میزان کادمیوم در سطوح صفر، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر محلول پاشی نانو ذرات آهن به صورت خطی و کاهشی به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۶، ۰/۸۵، ۰/۹۰ و ۰/۹۹ بود. به طوریکه با افزایش میزان کادمیوم، سطح برگ در این غلظت ها به میزان ۵۹/۵۸، ۶۲/۰۴، ۶۶/۶۰ و ۶۷/۰۳ درصد نسبت به سطح صفر کادمیوم کاهش یافت. در این میان بیشترین شیب کاهشی (۰/۰۸۹- واحد) در سطح محلول پاشی ۰/۵ گرم در لیتر مشاهده شد. اما روند پاسخ سطح برگ به افزایش کادمیوم در غلظت محلول پاشی ۰/۲۵ گرم در لیتر به صورت دوتکه ای و با ضریب تبیین ۰/۹۰ بیان شد. به طوریکه میزان سطح برگ تا غلظت ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به میزان ۱۵/۰۵ درصد به نسبت شاهد (با شیب ۰/۰۳۳۸ واحد) افزایش یافت اما در غلظت های بالای کادمیوم روند کاهشی (با شیب

جدول ۲- معادله مناسب توصیف کننده رابطه تیمارهای نانوذرات آهن بر پارامترهای مورفولوژیک گیاه خرفه در سطوح مختلف کادمیوم

نانوذرات آهن	سطح برگ	وزن خشک برگ	وزن خشک ریشه
0	$y = -0.067x + 13.94$ $R^2 = 0.865$ $P = 0.0071$ $CV = 14.18$	$y = -0.0007x + 0.161$ $R^2 = 0.669$ $P = 0.046$ $CV = 22.52$	$y = -0.0008x + 0.121$ $R^2 = 0.923$ $P = 0.0022$ $CV = 16.33$
0.25	$y = 0.0338x + 15.146$ $x \leq 25$ $y = -0.1028x + 15.99$ $x > 25$ $R^2 = 0.907$ $P = 0.0035$ $CV = 12.04$	$y = 0.0022x + 0.1348$ $x \leq 25$ $y = -0.0012x + 0.1916$ $x > 25$ $R^2 = 0.890$ $P = 0.0047$ $CV = 13.01$	$y = 0.00151x + 0.0943$ $x \leq 25$ $y = -0.00109x + 0.1321$ $x > 25$ $R^2 = 0.889$ $P = 0.0047$ $CV = 18.15$
0.5	$y = -0.089x + 16.18$ $R^2 = 0.850$ $P = 0.0089$ $CV = 18.64$	$y = 0.00192x + 0.1282$ $x \leq 25$ $y = -0.00109x + 0.1762$ $x > 25$ $R^2 = 0.760$ $P = 0.023$ $CV = 17.122$	$y = 0.00195x + 0.1105$ $x \leq 25$ $y = -0.00114x + 0.1593$ $x > 25$ $R^2 = 0.961$ $P = 0.0005$ $CV = 8.55$
0.75	$y = -0.070x + 13.50$ $R^2 = 0.909$ $P = 0.0032$ $CV = 12.84$	$y = 0.0019x + 0.129$ $x \leq 25$ $y = -0.00112x + 0.1773$ $x > 25$ $R^2 = 0.883$ $P = 0.0053$ $CV = 12.33$	$y = 0.000861x + 0.0937$ $x \leq 25$ $y = -0.00081x + 0.1152$ $x > 25$ $R^2 = 0.797$ $P = 0.0166$ $CV = 19.24$
1	$y = -0.060x + 11.28$ $R^2 = 0.990$ $P = 0.000$ $CV = 4.03$	$y = 0.00215x + 0.0917$ $x \leq 35.37$ $y = -0.00104x + 0.1677$ $x > 35.37$ $R^2 = 0.931$ $P = 0.0018$ $CV = 7.95$	$y = 0.00121x + 0.0885$ $x \leq 25$ $y = -0.00093x + 0.1188$ $x > 25$ $R^2 = 0.665$ $P = 0.050$ $CV = 29.17$



شکل ۳- روند پاسخ سطح برگ (A)، وزن خشک برگ (B) و وزن خشک ریشه (C) گیاه خرفه به سطوح کادمیوم تحت غلظت های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن

کادمیوم وزن خشک ریشه با $72/64$ درصد نسبت به سطح شاهد کادمیوم کاهش یافت. روند پاسخ وزن خشک ریشه در تمامی سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت دوتکه ایی بیان شد. به طوریکه محلول پاشی نانوذرات آهن در هر چهار سطح سبب افزایش میزان وزن خشک ریشه تا سطح 25 میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک گردید اما در سطوح بالاتر از 25 وزن خشک ریشه با شیب کاهشی همراه بود. در این میان غلظت $0/5$ گرم در لیتر محلول پاشی نانوذرات آهن با $34/80$ درصد نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را در افزایش وزن خشک ریشه داشت (شکل C ۳، جدول ۲). Dehric و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که کادمیوم سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی اسفناج می شود. Parida و Talatam (۲۰۰۹) کاهش وزن تر و خشک گیاه اسفناج در اثر کادمیوم را به سبب تأثیر منفی کادمیوم بر تولید انرژی در میتوکندری نسبت دادند. بر طبق نتایج این پژوهش در تمامی غلظت های نانوذرات آهن افزایش در میزان وزن خشک ریشه و برگ در سطوح پایین کادمیوم خاک مشاهده شد. به نظر می رسد با توجه به نقش آهن در ساختمان کلروفیل و سیستم فتوسنتزی گیاه (یوسفزاده و همکاران، ۱۳۹۵)، محلول پاشی نانوذرات آهن در سطوح مناسب با افزایش دسترسی گیاه به آهن موجب بهبود فتوسنتز و ماده سازی در گیاه شده و در نهایت وزن خشک گیاه را افزایش داده است. در همین زمینه نتایج مشابهی برای گیاه دارویی انیسون (پیرزاد و همکاران، ۱۳۹۲) و نعنای فلفلی (حیدری و همکاران، ۱۳۸۷) نیز پیش تر گزارش شده بود.

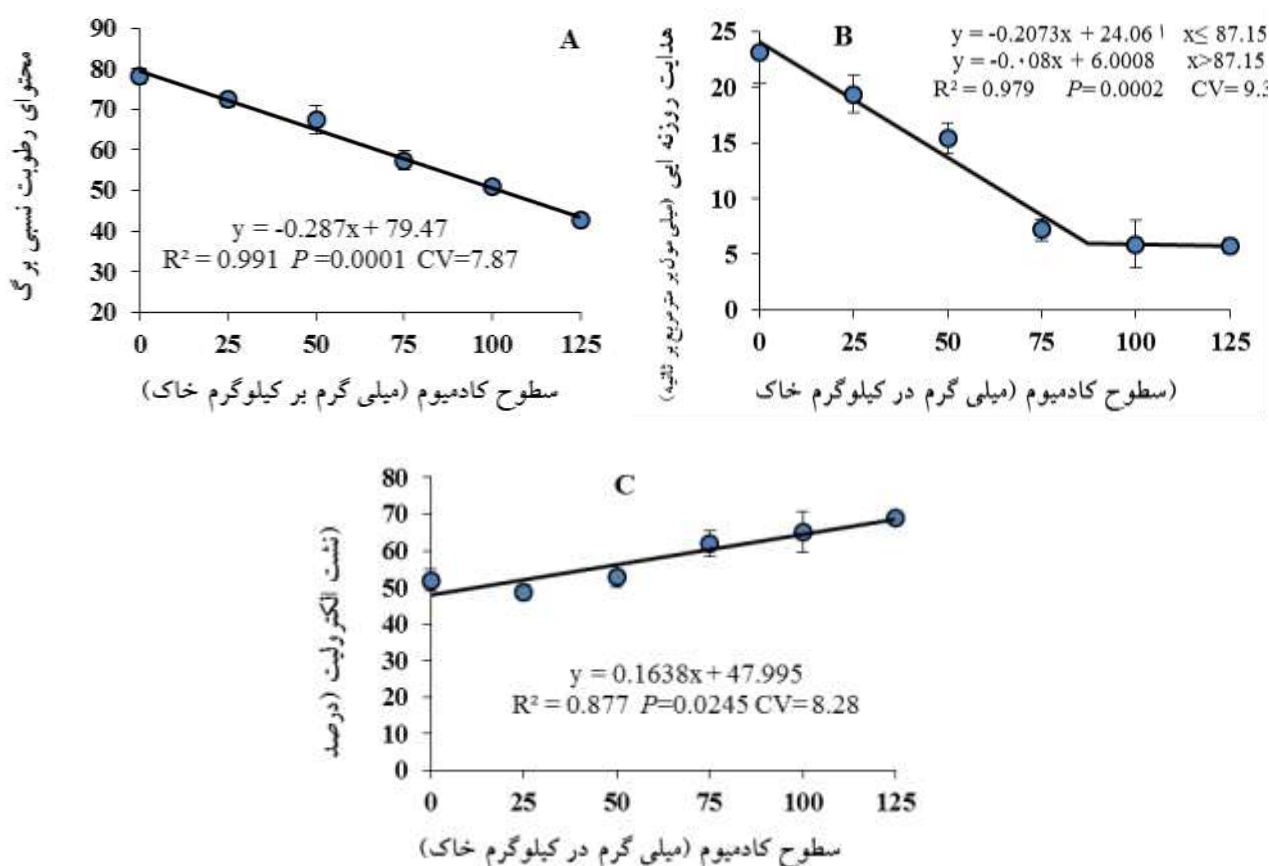
طبق یافته های حاصل از آزمایش اثر ساده محلول پاشی نانوذرات آهن بر محتوای نسبی آب برگ (RWC) در سطح یک درصد معنی دار بود. تأثیر کادمیوم بر هدایت روزنه ایی و میزان نشت الکترولیت در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. برهمکنش نانوذرات آهن و کادمیوم بر شاخص سبزیگی برگ (عدد اسپد) در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). آنالیز رگرسیون داده های حاصل بیانگر کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ به صورت خطی (با شیب $-0/287$ - واحد)

بود. میزان کاهش RWC در مقایسه با سطح شاهد کادمیوم حدود 45 درصد بود (شکل A ۴). همچنین روند پاسخ نشت الکترولیت به صورت خطی و افزایشی بود و با افزایش غلظت کادمیوم خاک نشت الکترولیت با شیب $0/163$ واحد و به میزان $24/68$ درصد نسبت به سطح شاهد کادمیوم بیشتر شد (شکل C ۴). با بیشتر شدن غلظت کادمیوم روند تغییرات هدایت روزنه ایی به صورت دوتکه ایی (با ضریب تبیین $0/979$) بیان شد به طوریکه از سطح شاهد تا سطح 87 میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم خاک میزان هدایت روزنه ایی با شیب بیشتری ($-0/207$ - واحد) و در غلظت های بالاتر از این سطح با شیب کمتری ($-0/008$ - واحد) کاهش یافت (شکل B ۴). محدودیت جذب آب ناشی از تنش کادمیوم باعث تشکیل آبسزیک اسید و هیدروژن پراکسید می شود. آبسزیک اسید و سایر مولکول های پیام رسان، به برگ ها انتقال داده می شوند. هیدروژن پراکسید تولید شده نیز باعث تشدید پاسخ آبسزیک اسید می شود و منجر به بسته شدن روزنه از طریق فعال سازی کانال های کلسیم می شود (Schutzendubel and Polle, 2002). کاهش تعداد و اندازه روزنه ها ممکن است از دلایل دیگر کاهش هدایت روزنه ایی در تیمار کادمیوم باشد (Bergmann, 2004). روند پاسخ محتوای نسبی آب برگ به محلول پاشی نانوذرات آهن به صورت دوتکه ایی با ضریب تبیین $0/977$ بیان شد. افزایش غلظت محلول پاشی نانوذرات آهن تا سطح $0/25$ گرم در لیتر سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ به میزان $6/16$ درصد نسبت به سطح شاهد گردید. اما در غلظت های بالاتر محلول پاشی میزان محتوای نسبی آب برگ با شیب $-17/88$ - واحد و به میزان $14/29$ درصد به نسبت سطح شاهد کاهش یافت (شکل ۵) که می تواند بیانگر عدم تأثیر محلول پاشی بر این پارامتر در سطوح بالاتر از $0/25$ گرم در لیتر باشد. در اثر محلول پاشی عناصر ریز مغذی، گیاه در شرایط مطلوب رشدی قرار گرفته و با جذب آب، کارایی آن نیز بالا می رود. به طوریکه برای جذب آب، CO_2 کمتری از دست می دهد زیرا شیب غلظتی که در اتاقک زیر روزنه ایجاد می شود به قدری بالا خواهد رفت که تمایل برای جذب CO_2 چندین برابر خواهد

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات فیزیولوژیک خرفه

منابع تغییر	df	RWC	هدایت روزنه‌ایی	نشت الکترولیت	شاخص سبزی‌نگی برگ
نانوذرات آهن (A)	۴	۴۷۱/۳۷**	۱۸/۶۹ ^{ns}	۱۰۱/۳۸ ^{ns}	۱۶۷/۰۸**
کادمیوم (B)	۵	۲۷۴۴/۲۸**	۸۶۱/۲۴**	۱۲۴۹/۵۷**	۲۸۷/۵۴**
A × B	۲۰	۳۶/۵۲ ^{ns}	۶/۹۸ ^{ns}	۵۴/۴۹ ^{ns}	۳۲/۴۲**
خطای آزمایشی	۶۰	۳۶/۵۳	۱۲/۰۵	۵۱/۲۰	۷/۸۱
ضریب تغییرات		۹/۸۳	۲۷/۱۳	۱۲/۵۱	۱۳/۰۳

ns. * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد



شکل ۴- روند پاسخ صفات محتوی رطوبت نسبی (A)، هدایت روزنه‌ایی (B) و نشت الکترولیت (C) گیاه خرفه به سطوح مختلف کادمیوم

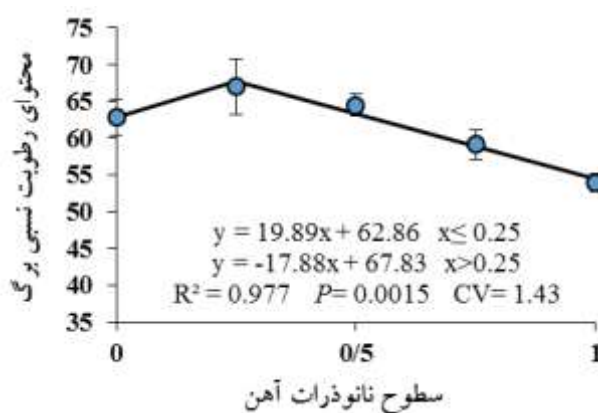
۰/۷۳، ۰/۹۵ و ۰/۸۷) کاهش یافت که در این میان سطح ۱ محلول‌پاشی با ۰/۰۷۵- واحد بیشترین شیب کاهشی را نشان داد (شکل ۶، جدول ۴). پاسخ سبزی‌نگی برگ در سطوح ۰/۵ و ۰/۷۵ محلول‌پاشی به‌صورت دوتکه‌ایی (به‌ترتیب با ضریب ۰/۹۳ و ۰/۸۷) تبیین شد. میزان سبزی‌نگی برگ در هر دو سطح ۰/۵ و ۰/۷۵ تا غلظت ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک به‌ترتیب ۱۱/۱۹ و ۲۸/۹۰ درصد به نسبت شاهد بیشتر شد. در

شد. بنابراین به‌ازای ورود هر مولکول CO₂ آب کمتری نیز خارج می‌شود که از این طریق محتوای نسبی آب برگ نیز افزایش می‌یابد (قدسی و همکاران، ۱۳۸۳).

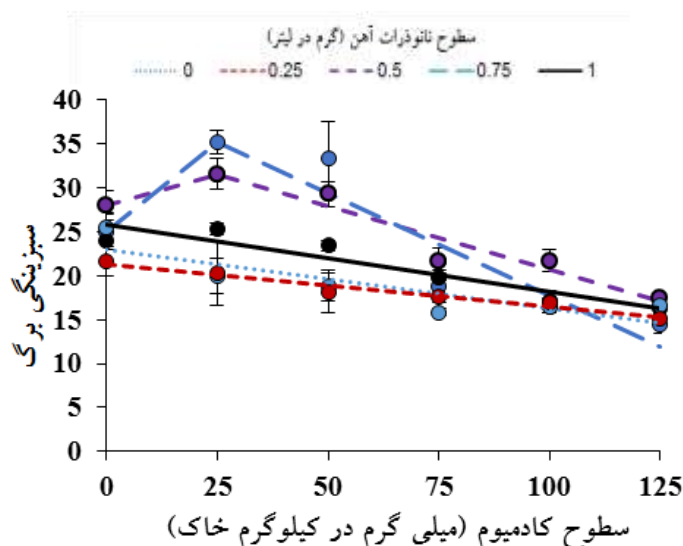
روند پاسخ سبزی‌نگی برگ به سطوح کادمیوم در غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی نانوذرات آهن نشان داد با افزایش غلظت کادمیوم سبزی‌نگی برگ در سطوح صفر، ۰/۲۵ و ۱ گرم در لیتر محلول‌پاشی نانوذرات آهن به خطی (به‌ترتیب با ضریب تبیین

جدول ۴- معادله مناسب توصیف کننده رابطه تیمارهای نانو ذرات آهن بر صفت عدد اسپد و پرولین گیاه خرفه در سطوح مختلف کادمیوم

غلظت نانو ذرات آهن	عدد اسپد	پرولین
0	$y = -0.066x + 23.01$ $R^2 = 0.732$ $P = 0.029$ $CV = 11.19$	$y = 0.0002x + 0.1183$ $x \leq 50$ $y = 0.00161x + 0.1283$ $x > 50$ $R^2 = 0.844$ $P = 0.0096$ $CV = 14.19$
0.25	$y = -0.048x + 21.33$ $R^2 = 0.959$ $P = 0.006$ $CV = 2.89$	$y = 0.0012x + 0.139$ $R^2 = 0.959$ $P = 0.0006$ $CV = 6.09$
0.5	$y = 0.138x + 28.03$ $x \leq 25$ $y = -0.143x + 31.48$ $x > 25$ $R^2 = 0.934$ $P = 0.0017$ $CV = 6.074$	$y = 0.00059x + 0.1261$ $x \leq 21.54$ $y = 0.00133x + 0.1388$ $x > 21.54$ $R^2 = 0.897$ $P = 0.0041$ $CV = 10.66$
0.75	$y = 0.411x + 25$ $x \leq 25$ $y = -0.233x + 35.27$ $x > 25$ $R^2 = 0.877$ $P = 0.0059$ $CV = 13.54$	$y = 0.0007x + 0.122$ $R^2 = 0.844$ $P = 0.0096$ $CV = 9.37$
1	$y = -0.075x + 25.74$ $R^2 = 0.875$ $P = 0.0061$ $CV = 7.09$	$y = 0.0008x + 0.133$ $R^2 = 0.984$ $P = 0.000$ $CV = 2.86$



شکل ۵- روند پاسخ محتوای رطوبت نسبی برگ به سطوح مختلف نانو ذرات آهن در گیاه خرفه



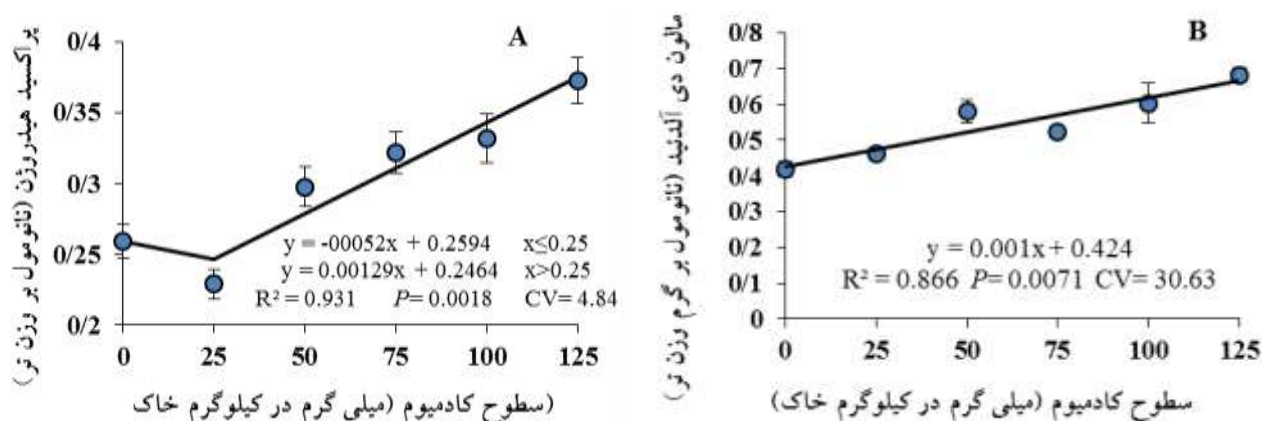
شکل ۶- روند پاسخ سبزیبگی برگ به سطوح کادمیوم در گیاه خرفه تحت غلظت های مختلف محلول پاشی نانو ذرات آهن

سطوح بالاتر کادمیوم سبزیبگی برگ با روند کاهشی همراه بود. شیب کاهشی بیشتری در مقایسه با سطح ۰/۵ برخوردار بود در این میان محلول پاشی ۰/۷۵ گرم نانو ذرات آهن در لیتر از (شکل ۶، جدول ۴). نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات بیوشیمیایی خرفه

منابع تغییر	درجه آزادی	پرولین	هیدروژن پراکسید	مالون دی آلدئید
نانوذرات آهن (A)	۴	۰/۰۰۸ **	۰/۰۰۱۷ ns	۰/۰۲۳ **
کادمیوم (B)	۵	۰/۰۳۴ **	۰/۰۳۶۲ **	۰/۱۴۱ **
A × B	۲۰	۰/۰۰۱۴ *	۰/۰۰۰۴ ns	۰/۰۰۳ ns
خطای آزمایشی	۶۰	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۲۹
ضریب تغییرات (درصد)		۱۳/۶۴	۹/۹۱	۱۰/۰۰۸

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

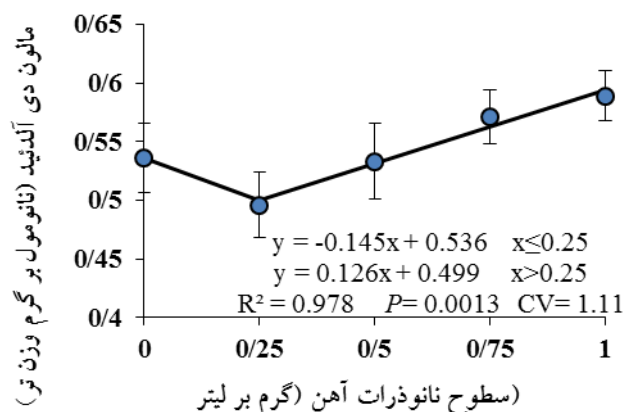


شکل ۷- روند پاسخ پراکسید هیدروژن (A) و مالون دی آلدئید (B) گیاه خرفه به سطوح کادمیوم

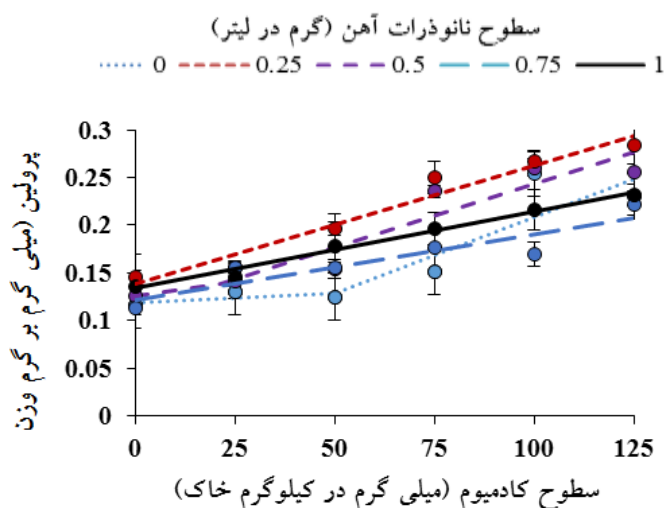
سنگین در گیاه تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که موجب افزایش فعالیت رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید می‌شود. رادیکال‌های تولیدشده موجب هیدرولیز ماکرومولکول‌هایی مانند DNA، پروتئین، آسیب به غشای سلولی و نشت یونی می‌شود (Ali et al., 2015). افزایش محتوای مالون دی آلدئید به دلیل افزایش غلظت هیدروژن پراکسید در محیط ناشی از تنش ایجادشده است که در نهایت موجب آسیب به غشای سلول می‌شود (Xiao et al., 2008). پاسخ محتوای مالون دی آلدئید به سطوح محلول‌پاشی نانوذرات به صورت دوتکه‌ای بود به طوریکه محتوای مالون دی آلدئید از سطح شاهد تا ۰/۲۵ گرم در لیتر به میزان ۷/۴۸ درصد کاهش در حالیکه در غلظت‌های بالاتر از ۰/۲۵ با شیب ۰/۱۲۶ واحد افزایش یافت (شکل ۸). روند پاسخ پرولین به سطوح کادمیوم در در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر محلول‌پاشی

آزمایشی بر صفات بیوشیمیایی خرفه نشان داد که اثر ساده نانوذرات آهن بر محتوای مالون دی آلدئید و اثر کادمیوم بر میزان هیدروژن پراکسید و مالون دی آلدئید در سطح یک درصد معنی دار بود. برهمکنش نانوذرات آهن و کادمیوم بر محتوای پرولین در سطح پنج درصد اثر معنی داری داشت (جدول ۵).

طبق آنالیز رگرسیون صفات بیوشیمیایی، روند پاسخ هیدروژن پراکسید به افزایش غلظت کادمیوم به صورت دوتکه‌ای با ضریب تبیین ۰/۹۳ بیان شد به طوریکه با افزایش غلظت کادمیوم تا سطح ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک میزان هیدروژن پراکسید ۷/۸۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. اما در غلظت‌های بالاتر کادمیوم شیب افزایشی (۰/۰۰۱۲۹ واحد) نشان داد (شکل ۷ a). با افزایش غلظت کادمیوم خاک میزان مالون دی آلدئید به صورت خطی (با ضریب تبیین ۰/۸۶) افزایش یافت (شکل ۷ b). از تبعات مهم افزایش غلظت فلزات



شکل ۸- روند پاسخ مالون دی آلدئید گیاه خرفه به سطوح مختلف نانوذرات آهن



شکل ۹- روند پاسخ پرولین به سطوح کادمیوم در گیاه خرفه تحت غلظت های مختلف محلول پاشی نانوذرات آهن

یافت در صورتیکه در غلظت های بالاتر از ۲۱ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک میزان پرولین با شیب بیشتری (۰/۰۰۱۳۳ واحد) افزایش یافت (شکل ۹). نتایج حاصل بیانگر افزایش میزان پرولین گیاه در سطوح محلول پاشی نانوذرات آهن به نسبت سطح شاهد است. تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش با کاهش خسارت در غشا سلولی و پروتئین ها در ارتباط است. همچنین پرولین به عنوان یک اسمولیت، جاروب کننده رادیکال ها، تثبیت کننده ماکرومولکول ها و یک جز دیواره سلولی عمل می کند که با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها باعث حفظ تمامیت غشا می گردد (Hayat et al., 2012). در آزمایش Konate و همکاران (۲۰۱۷) نیز مشخص گردید که افزودن نانوذرات آهن، تجمع کادمیوم، مهار رشد ریشه و تنش

نانوذرات آهن به صورت خطی (به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۵، ۰/۸۴ و ۰/۹۸) بیان شد به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم میزان پرولین به نسبت شاهد افزایش یافت که در این میان سطح ۰/۲۵ با ۰/۰۰۱۲ واحد بیشترین شیب افزایشی را داشت. روند پاسخ پرولین در سطوح عدم محلول پاشی و ۰/۵ گرم در لیتر به صورت دوتکه ایی به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸۴ و ۰/۸۹ نشان داده شد. در تیمار عدم محلول پاشی میزان پرولین تا سطح ۵۰ کادمیوم با شیب کمتری (۰/۰۰۰۲ واحد) و در غلظت های بالاتر از ۵۰ کادمیوم با شیب بیشتری (۰/۰۰۱۶ واحد) افزایش یافت. در غلظت ۰/۵ گرم در لیتر محلول پاشی میزان پرولین تا سطح ۲۱ میلی گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک (با شیب ۰/۰۰۰۵۹ واحد) به میزان ۹/۱۶ درصد به نسبت شاهد افزایش

اکسیداتیو در گیاهچه‌های هر دو گیاه خیار و گندم را به‌طور قابل‌توجهی کاهش داد. از دلایل آن می‌توان به فعال‌سازی سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی با افزودن نانوذرات آهن و در نتیجه ایفای نقش محافظتی در برابر تنش اکسیداتیو اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی نانوذرات آهن با افزایش پارامترهایی مانند سطح برگ، وزن خشک ریشه، برگ و عدد اسپد سبب بهبود رشد گیاه و با افزایش میزان پرولین سبب افزایش تحمل گیاه در برابر شرایط تنش کادمیوم گردید. بیشترین تأثیر نانوذرات آهن در سطح ۲۵

منابع

میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم خاک مشاهده شد. در مجموع، می‌توان اظهار داشت که محلول‌پاشی برگی گیاه خرفه با نانوذرات آهن می‌تواند گامی مؤثر در جهت کاهش اثرات سو ناشی از تنش کادمیوم تلقی گردد و در نهایت افزایش رشد و عملکرد گیاه را در پی داشته باشد. با این وجود شناخت دقیق اثربخشی نانوذرات آهن نیازمند پژوهش‌های بیشتری است.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شده که بدین وسیله سپاسگزاری می‌گردد.

- اثنی‌عشری، ا. و انتشاری، ش. (۱۳۹۷) مقایسه اثرات کلرید آهن، کلات آهن و نانواهن بر مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرنجبویه تحت تیمار آلومینیوم. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۷: ۲۰۴-۱۹۴.
- پیرزاد، ع. ل.، طوسی، پ. و درویش‌زاده، ر. (۱۳۹۲) اثر محلول‌پاشی عناصر آهن و روی بر صفات گیاهی و میزان اسانس آنیسون. علوم زراعی ایران ۱۵: ۲۳-۱۲.
- حیدری، ف.، زهتاب سوماسی، ز.، جوانشیر، ع.، آلیاری، و. و دادپور، م. ر. (۱۳۸۷) تأثیر عناصر ریزمغذی و تراکم بوته بر عملکرد و خصوصیات مورفولوژیکی گیاه داروویی نعنا فلفلی (*Mentha piperata*). پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی ۱۳۱-۱۱۹: ۸.
- حیدری، م.، گلچ، م.، قربانی، ه. و برادران فیروز آبادی، م. (۱۳۹۴) تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر عملکرد دانه، محتوای یونی و رنگدانه‌های نورساختی کنگد. علوم گیاهان زراعی ایران ۴۶: ۶۲۸-۶۱۹.
- رحیمی، پ.، قنبرزاده، ز.، بهدا، آ. و محسن‌زاده، س. (۱۳۹۷) تأثیر متقابل سیلیکون و کادمیوم بر رشد و پارامترهای فیزیولوژیکی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*). مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۷: ۲۰۷-۲۰۰.
- صدوری، م. و قرچه، ن. (۱۳۹۲) نقش قارچ‌های همزیست ریشه در احیای زمین‌های آلوده در احیای زمین‌های آلوده به مواد سمی. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۶۰: ۲-۴۵.
- غلامی، آ.، عباسپور، ح.، گرامی، م. و قربانی، ا. (۱۳۹۵) تأثیر محلول‌پاشی نانوکلات آهن بر ویژگی‌های رشد و فیزیولوژیک ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش شوری. مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۸: ۱۳۳-۱۱۷.
- فتحی، ع. ر. و زاهدی، م. (۱۳۹۳) تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات اکسید آهن و روی بر رشد و محتوای یونی دو ژنوتیپ ذرت (*Zea mays*) در شوری‌های متفاوت خاک. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۲: ۱۱۷-۱۱۰.
- قدسی، م.، کمالی، م.، چایچی، م. و مظاهری، د. (۱۳۸۳) ارزیابی حساسیت مراحل نمو گندم و همبستگی بین صفات مرتبط با عملکرد در شرایط تنش رطوبتی. هشتمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشگاه گیلان، ایران.
- کاشانی، آ.، پیردشتی، ه.، بی‌پروا، پ. و عمادی، س. م. (۱۳۹۷) پاسخ صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کلزا (*Brassica napus* L.) به کاربرد نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده تحت تنش شوری. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی (در حال چاپ).

نادری، م.، دانش شهرکی، ع. و نادری، ر. (۱۳۹۱) مروری بر گیاه پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین. فصلنامه انسان و محیط زیست ۲۳: ۴۹-۳۵.

یعقوبیان، ی.، سیادت، س. ع. ا.، مرادی تلاوت، م. ر. و پیردشتی، ه. ا. (۱۳۹۵) کمی سازی پاسخ رشد رویشی و مؤلفه های فلورسانس کلروفیل گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) به غلظت کادمیوم در خاک. نشریه پژوهش های تولید گیاهی ۲۳: ۱۶۵-۱۸۵.

یوسف زاده، س.، نقدی بادی، ه.، صباغ نیا، ن. و جان محمدی، م. (۱۳۹۵) تأثیر محلول پاشی نانوکلات آهن بر ویژگی های فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.). فصلنامه گیاهان دارویی ۱۵: ۱۶۰-۱۵۲.

Abo-Kassem, E., Sharaf-El-Din, A., Rozema, J. and Foda, E. (1995) Synergistic effects of cadmium and NaCl on the growth, photosynthesis, and ion content in wheat plants. *Biologia Plantarum* 37: 241-249.

Aibibu, N., Liu, Y. G., Zeng, G. M., Wang, X., Chen, B. B., Song, H. X. and Xu, L. (2010) Cadmium accumulation in *Vetiveria zizanioides* and its effects on growth. *Physiological and Biochemical Characters Bioresource Technology* 101: 6297-6307.

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell and Environment* 24: 1337-1344.

Ali, A., Deng, X., Hu, X., Gill, R. A., Ali, S., Wang, S. and Zhou, W. (2015) Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seeds of *Brassica Napus* L. *Journal of Agricultural Science and Technology* 17: 63-74.

Bergmann, D. C. (2004) Integrating signals in stomatal development. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 26-32.

Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I. and Lux, A. (2007) Zinc in plants. *New Phytologist* 173: 677-679.

Btes, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

Cohen, C. K., Fax, T. C., Garvin, D. F. and Kochian, L. V. (1998) The role of iron deficiency stress responses in stimulating heavy metal transport in plants. *Plant Physiology* 116: 1063-1072.

Cohen, C. K., Garvin, D. F. and Kochian, L. V. (2004) Kinetic properties of a micronutrient transporter from *Pisum sativum* indicate a primary function in Fe uptake from the soil. *Planta* 218: 784-792.

Das, P., Samantaray, S. and Rout, G. R. (1997) Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environmental Pollution* 98: 29-36.

Dehric, G. S., Brar, M. S. and Melhi, S. S. (2007) Influence of phosphorus application on growth and cadmium uptake of spinach in two cadmium-contaminated soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 170: 495-499.

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J. and Ahmad, A. (2012) Role of proline under changing environments. *Plant Signaling and Contamination of Toxicology* 85: 256-263.

Huang, S., Wang, L., Liu, L., Hou, Y. and Li, L. (2014) Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in china. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 35: 369-400.

Hussain, I., Ashraf, M. A., Rasheed, R., Asghar, A., Sajid, M. A. and Iqbal, M. (2015) Exogenous application of silicon at the boot stage decreases accumulation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. *Brazilian Journal of Botany* 38: 223-234.

Kammeno, O. (2000) River flow modeling using artificial neural networks. *ASCE Journal of Hydrology Engineering* 9: 60-63.

Konate, A., He, X., Zhang, Z., Ma, Y., Zhang, P., Alugongo, G. M. and Rui, Y. (2017) Magnetic (Fe₃O₄) nanoparticles reduce heavy metals uptake and mitigate their toxicity in wheat seedling. *Sustainability* 9: 1-16.

Liu, D., Jiang, W. and Gao, X. (2003) Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. *Biologia Plantarum* 47: 79-83.

Liu, X., Feng, Z., Zhang, S., Zhang, J., Xiao, Q. and Wang, Y. (2006) Preparation and testing of cementing nano-sub nanocomposites of slower controlled release of fertilizers. *Scientia Agricultura Sinica* 39: 1598-604.

Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. (1995) Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany* 46: 1843-1852.

MacFarlane, G. R., Koller, C. E. and Blomberg, S. P. (2007) Accumulation and partitioning of heavy metals in mangroves: A synthesis of field-based studies. *Chemosphere* 69: 1454-1464.

Megateli, S., Semsari, S. and Couderchet, M. (2009) Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 1774-1780.

- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V. and Prasad, M. N. V. (2006) Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. Plant Physiology and Biochemistry 44: 25-37.
- Mulligan, C. N., Young, R. N. and Gibbs, B. F. (2001) Remediation technologies for metal-contaminated soils and ground water: an evaluation. Engineering Geology 60: 193-207.
- Naderi, M., Danesh-Shahraki, A. and Naderi, R. (2013) The role of nanotechnology in improving the use efficiency of nutrients and chemical fertilizers. Mon Nanotechnology 11: 16-32.
- Prasad, M. N. V. (1995) Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. Environmental and Experimental Botany 35: 525-545.
- Rezai, R., Hoseyni, S. M., Shabanali, H. and Safa, L. (2010) Identify and analyze the barriers to the development of nanotechnology in the agricultural sector from the perspective of researchers. Journal of Science and Technology Policy 2: 17-26.
- Safdari, Y. and Kazemitabar, S. K. (2009) Plant tissue culture study on two different races of purslane (*Portulaca oleracea* L.). African Journal of Biotechnology 8: 5906-5912.
- Sanchez, A. S., Juarez, M., Sanchez-Andreu, J., Jorda, J. and Bermudez, D. (2005) Use of humic substances and amino acids to enhance iron availability for tomato plants from applications of the chelate FeEDDHA. Journal of Plant Nutrition 28: 1877-1886.
- Savasari, M., Emadi, M., Bahmanyar, M. A. and Biparva, P. (2015) Optimization of Cd (II) removal from aqueous solution by ascorbic acid-stabilized zero valent iron nanoparticles using response surface methodology. Journal of Industrial and Engineering Chemistry 21: 1403-1409.
- Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. and Morhinweg, D. W. (1988) Water relation in winter wheat as drought resistance indicator. Crop Science 28: 526-531.
- Schutzendubel, A. and Polle, A. (2002) Plant response to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. Journal of Experimental Botany 53: 1351-1365.
- Shah, K., Mankad, A. U. and Reddy, M. N. (2017) Cadmium accumulation and its effects on growth and biochemical parameters in *Tagetes erecta* L. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 6: 111-115.
- Shidfar, F., Yarahmadi, S. H. and Jalali, M. (2007) Effects of purified omega-3 fatty acids in postmenopausal women with type-2 diabetes Iranian. Journal Endocrinal Metabolism 9: 229-234.
- Soltani, A., Hammer, G. L., Torabi, B., Robertson, M. J. and Zeinali, E. (2006) Modeling chickpea growth and development: Phenological development. Field Crops Research 99: 1-13.
- Stewart, R. R. C. and Bewley, J. D. (1980) Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiology 65: 245-248.
- Suh, H., Kim, C. H., Lee, J. and Jung, J. (2002) Photodynamic effect of iron on photosystem II function in pea plants. Photochemistry and Photobiology 75: 513-18.
- Tafvizi, M., Moteszarezhadeh, B. and Savaghebi, G. (2014) Investigating the effects of lead contamination and foliar application of iron on some physiological characteristics in two forage corn (*Zea mays* L.) hybrids in calcareous soil. Iranian Journal of Field Crop Science 45: 213-226.
- Talatam, S. and Parida, B. (2009) Crop growth as influenced by zinc and organic matter in cadmium-rich polluted soils. Available online at: <http://scholarship.org/uc/item>. Accessed 13 April 2009.
- Teutonica, R. A., Palta, J. P. and Osborn, T. C. (1993) In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. Crop Science 33: 103-107.
- Tiwari, K., Dwivedi, S., Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R., Singh, N. and Chakraborty, S. (2008) Phytoremediation efficiency of *Portulaca tuberosa* rox and *Portulaca oleracea* L. naturally growing in an industrial effluent irrigated area in Vadodra, Gujrat, India. Environmental Monitoring and Assessment 147: 15- 22.
- Vassilev, A. (2003) Barley seedlings as bio-indicators for water contamination by cadmium. Journal of Environmental Protection and Ecology 4: 354-360.
- Willey, N. (2007) Phytoremediation methods and review. Methods in Biotechnology. Humana Press, Totowa, New Jersey.
- Xiao, X., Tongbin, C., Zhizhuang, A. and Mei, L. (2008) Potential of *Pteris vittata* L. for phytoremediation of sites co-contaminated with cadmium and arsenic: the tolerance and accumulation. Journal of Environmental Sciences 20: 62-67.
- Yaghoobian, Y., Siadat, S. A., Moradi, S. A., Telavat, M. R. and Pirdashti, H. (2016) Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem ii photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. Russian Journal of Plant Physiology 63: 77-84.
- Zhang, M., Alva, A. K., Li, Y. C. and Calvert, D. V. (1997) Chemical association of Cu, Zn, Mn, and Pb in selected sandy citrus soils. Journal Soil Science 162: 181-188.
- Zhang, M., He, F., Zhao, D. and Hao, X. (2011) Degradation of soil sorbed trichloroethylene by stabilized zero valent iron nanoparticles: Effects of sorption, surfactants, and natural organic matter. Water Research 45: 2401-2414.

Effect of foliar application of iron nanoparticles on improvement of some physiological and morphological traits of purslane (*Portulaca oleracea*) under cadmium stress

Zahra Noori Akandi¹, Hassan Makarian^{1*}, Hemmatollah Pirdashti², Mohammad Reza Amerian¹, Mehdi Baradaran Firozabadi¹, Mohammad Ali Tajik Ghanbary³

¹ Department of Agronomy, Collage of Agriculture, Shahrood University of Technology

² Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

³ Department of Plant protection, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

(Received: 06/01/2019, Accepted: 17/04/2019)

Abstract

In order to investigate the effects of foliar spraying of iron nanoparticles on improvement of some physiological and morphological traits of purslane (*Portulaca oleracea*) under cadmium stress, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. The experiment was conducted under greenhouse conditions at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University during 2017. The experimental factors included cadmium chloride in six levels (0, 25, 50, 75, 100 and 125 mg/kg soil) and foliar spring of iron nanoparticles in five levels (0, 0.25, 0.5, 0.75 and 1 g/l). The results showed that the interaction effects of iron nanoparticles and cadmium were significant on leaf area, root dry weight and proline content at 5% as well as leaf dry weight and chlorophyll contents at 1% probability level. The leaf area responded a linear decrease trend with increasing cadmium levels at levels of 0, 0.5, 0.75 and 1 g/l of foliar spraying of iron nanoparticles. By contrast, as a segmented model at concentration of 0.25 g/l. Foliar spraying of iron nanoparticles at all four levels increased root dry weight to 25 mg/kg of cadmium, but at levels above 25, the root dry weight decreased at higher level of Cd. Meanwhile, the concentration of 0.5 g/l of foliar spraying of iron nanoparticles had the most effect on root dry weight by 34.80% increase as compared to the control. SPAD value increased in both levels of 0.5 and 0.75 to 25 mg/kg of soil cadmium, 11.19 and 28.99% respectively, as compared to the control. In general, our results, indicated that foliar application of iron nanoparticles was effective to improve cadmium tolerance in purslane plant in low cadmium concentrations. However, more research is needed to investigate the mechanism of iron nanoparticles.

Keywords: Stress, Phytoremediation, Heavy metals, Nanoparticles.

Corresponding author, Email: h.makarian@shahroodut.ac.ir