بررسی تجمع سرب و کادمیوم به همراه هیومیک اسید در گیاه همیشه بهار(*Calendula officinalis*) و اثر آن بر کمیت و کیفیت عصاره و پارامترهای فیتو شیمیایی

اورلی سموئیل*[1]،وحید عبدوسی[2]،پژمان مرادی[3]

۱-کارشناسی ارشد، فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی ،ادویه ای و عطری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه علوم باغبانی، تهران، ایران
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه علوم باغبانی، تهران، ایران ۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، گروه علوم باغبانی، ساوه، ایران

*نویسنده مسئول:oroli_soheyli@yahoo.com

چکیده

فلزات سنگین از راههای مختلف، بر رشد و متابولیسم گیاهان اثر می‌گذارند. اسانس‌هاوعصاره ها ، ترکیباتی طبیعی، فرار ، پیچیده و غیر فعال با بوی بسیار قوی هستند که به عنوان متابولیت‌های ثانویه توسط گیاهان آروماتیک تولید می‌گردند. متابولیت‌های ثانویه نقش بسیار مهمی را در سازگاری گیاهان با محیط و غلبه بر شرایط استرس ایفا می‌کنند. همیشه بهار(*Calendula officinalis*) گیاهی از تیره ستاره ای، علفی و پایاست. ساقه هوایی افراشته منشعب و دارای پرز های غدده ای گل آن زرد رنگ می باشد. برای آشکار شدن ارتباط بین سمیت فلز و استرس اکسیداتیو و پاسخ های سمیت زدایی، اثر سرب و کادمیم بر روی گیاه همیشه بهار بررسی شد و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، فعالیت آنزیمSOD، کمیت و کیفیت اسانس بررسی گردید. پژوهشی در قالب طرح فاکتوریل با پایه طرح کاملا تصادفی فاکتور ها شامل فاکتور اول در۳ غلظت کادمیوم و سرب (۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) و فاکتور دوم هیومیک اسید در دو غلظت(۰ ، ۲ گرم بر کیلو گرم)انجام شد. نتایج نشان داد که مقدار پرولین، فعالیت آنزیمSOD، به طور معنی‌داری با افزایش غلظت تیمارها افزایش یافت؛ در حالی که یک کاهش معنی دار در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در اکثر تیمارها مشاهده شد. ثابت شده است که استرس فلزات سنگین می‌تواند روی مقدار و کیفیت اسانس وعصاره گیاهان دارویی اثر بگذارد. در این تحقیق، نتایج نشان داد که سرب وکادمیوم در حضور هیومیک اسید روی کمیت و کیفیت عصاره همیشه بهار اثر گذاشته است و بیشترین مقدار عصاره در Humicacid وکمترین آن در غلظت CdCl2 200ppm مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: اسانس و عصاره، پارامترهای فیتوشیمیایی، سرب، کادمیوم، هیومیک اسید، همیشه بهار

مقدمه

حضور فلزات سنگین یکی از مهمترین تنش های محیطی است که می تواند منجر به کاهش رشد و تولید انواع اکسیژن های واکنشگر شود.این فلزات برای گیاهان سمی بوده، با تشکیل کمپلکس های پیچیده با گروه های جانبی ترکیبات آلی مانند پروتئین ها در بسیاری از اعمال یاخت های دخالت کرده در نتیجه از فعالیت های ضروری یاخته جلوگیری می نماید. همچنین تغییرات ژنتیکی و بیوشیمیایی را که پاسخ های عمومی گیاه در برابر تنش کادمیوم می باشند، تحریک می نماید. از مهمترین مسایل مورد توجه در رابطه با پرورش گیاهان دارویی، تغییر کیفیت و کمیت مواد مؤثره این گیاهان تحت شرا یط مختلف محیطی است (خداوردی لو، ۲۰۰۷).گیاهان از نظر مقدار جذب عناصر سنگین و توزیع آنها در بافتهای خود متفاوت عمل می کنند . علاوه بر تفاوتهای ژنتیکی عوامل محیطی مختلف از جمله برهمکنش عناصر سنگین با عناصر غذایی ضروری گیاه می تواند بر میزان جذب این فلزات توسط گیاهان موثر باشد سرب و کادمیوم از فلزات سنگین و آلاینده های مهم اکوسیستم های خشکی و یکی از متحرک‌ترین فلزات سنگین در سامانه خاک و گیاه است. یکی از ساز و کار های سمیت کادمیوم وسرب جلو گیری از متابولیسم تنفسی گیاهان است. همیشه بهار*Calendula officinalis*گیاهی از تیره ستاره ای، علفی و پایاست.ساقه هوایی افراشته منشعب و

دارای پرز های غدده ای گل آن زرد رنگ می باشد. گل همیشه بهار محصولاتی علاوه بر استفاده سنتی در کارخانجات داروسازی کشور مصرف داروسازی دارد. همیشه بهار به عنوان معرق، تصفیه کننده خون، پایین آورنده قند خون و ضدالتهاب پوستی مصرف سنتی دارد.

پاسخ گیاهان در محیط هایی با غلظت زیاد فلزات سنگین، به دو صورت است. مکانیسم اول اجتناب است که گیاهان از جذب و انتقال فلزات به درون خود جلوگیری می کنند و این گیاهان غیر انباشته کننده نامیده می شوند. مکانیسم دوم تجمع و توزیع فلزات است که گیاهان دارای این مکانیسم، ظرفیت بسیار بالایی برای جذب فلزات توسط ریشه ها و انتقال و ذخیره آن در اندام هوایی دارا می باشند، این گیاهان را بیش از حد انباشته کننده می نامند. از این گیاهان می توان جهت خروج فلزات سنگین و پاکسازی خاک های آلوده در فرایند گیاه پالایی استفاده نمود(سرمدی و همکاران،۱۳۹۰). از آنجا که اکثر بافتهای فعال فیزیولوژیک گیاهان در رشد، تکامل و فتوسنتز نقش دارند می توان انتظار داشت که سرب ممکن است در یک یا چند تا از این فرآیندها اختلال ایجاد نماید. بر اساس مطالعات انجام شده، غلظت بیش از ۱- 30 mg kg سرب در بافتهای بالغ برگی برای گیاهان سمی است (Kabata and Pendias, 1992). پاسخ گیاهان به سرب وکادمیوم شامل کاهش وزن خشک و طویل شدن ریشه، ممانعت از بیوسنتز کلروفیل و ممانعت از عمل چند آنزیم می باشد (Fargasova, 1994). در نتیجه، این اثرات منجر به صدمات گیاهی و اختلال در اکوسیستم طبیعی می شود. همچنین مشاهده شده است که سرب جذب و انتقال برخی مواد غذایی یونی مثل کلسیم، منیزیم و فسفر را کاهش داده و باعث کمبود این مواد غذایی می شود (Tingxiong, 1997). اسید هیومیک بخش مهم و اصلی از مواد آلی است. اسید هیومیک ۷۰-۶۵ درصد از مواد آلی در خاک را تشکیل می دهد .مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی به دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی دارد (samavat, Malakut, 2005).

مواد وروش ها

به منظور بررسی تجمع سرب و کادمیوم به همراه هیومیک اسید در گیاه همیشه بهار(*Calendula officinalis*)واثر آن برکمیت و کیفیت اسانس و پارامترهای فیو شیمیایی پژوهشی در قالب طرح فاکتوریل باپایه طرح تصادفی فاکتور ها شامل فاکتور اول در ۳غلظت کادمیوم و سرب (۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) وفاکتوردوم هیومیک اسید در دو غلظت(۰ ، ۲ گرم بر کیلو گرم)انجام شد. پس از انجام آزمایش از هر تکرار یک بوته انتخاب و برای استخراج عصاره از اندام های هوایی استفاده خواهد گردید.استخراج اسانس و عصاره با استفاده از دستگاه کلونجرو توسط حلال ها(Extraction) وفشرده شدن در آزمایشگاه صورت می پذیرد و کیفیت و کمیت اسانس با استفاده از روش HPLCگاز کروماتوگرافی ارزیابی خواهد گردید. سنجش پرولین طبق روش (Matta & Giai 1969)، سنجش رنگیزه های فتوسنتزی (Arnon 1974) توسط اسپکتوفتومتردر طول موج ۶۴۵ نانومتر بوده است.

بحث و نتایج

اوزونیدو (Ouzounidou, 1995)پیشنهاد کردند که ممانعت فلزات سنگین روی طول ساقه و ریشه و سطح برگ میتواند عمدتاً به علت تقسیم غیرمعمول سلول باشد و همچنین ممکن است به ممانعت فلزات از فرایندهای فتوسنتزی و تنفس درسیستم ساقه و سنتز پروتئین در ریشه بستگی داشته باشد و یا به علت کاهش تقسیم سلول و رشد آن باشد. کاهش رشد ممکن است به دلیل کاهش میزان فتوسنتز باشد، زیرا نشان داده شده است که قرارگیری گیاهان در معرض غلظت های بالای فلزات سنگین موجب کاهش میزان فتوسنتز میشود. آسیب به فتوسنتز اساساً در اثر کاهش کلروفیل و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها رخ میدهد.(Chaoui, 2005). نتایج تجزیه واریانس داده ها بیانگر آن است که تاثیر همه تیمارها و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان

پرولین معنی دار بود. افزایش سرب و کادمیوم سبب افزایش میزان پرولین شد به طوری که در غلظت ۲۰۰ppm کادمیوم بیشترین میزان پرولین را شاهد بودیم. پرولین یکی از ترکیبات مهم سیستم دفاعی گیاهان در شرایط تنش می باشد و به مقدار زیادی در گیاهان آلی دیده می شود و به مقدار بسیار بیشتری از سایر آمینو اسیدها در شرایط دارای تنش تجمع پیدا می کند. پرولین یک اسید آمینه قابل حل در آب است. تجمع پرولین آزاد در پاسخ به فلزات سنگین در میان گیاهان شایع است. تجمع پرولین سبب کاهش اثرات تنش، کاهش اسیدی شدن سلول می شود(کشته گر وهمکاران،۱۳۹۳). کاهش عملکرد با افزایش غلظت، کاهش به این دلیل است که حضور کادمیوم در درون بافت های گیاهی موجب تحریک پراکسیداسیون لیپیدها و تجزیه کلروفیل در گیاه می گردد که منجر به افزایش تولید گونه های (واکنش پذیر اکسیژن ROS) می شود که به علت تداخل با فعالیت های انتقال الکترون به خصوص در غشاهای کلروپلاستی صورت می گیرد .این افزایش در ROS سلول های در معرض استرس اکسیداتیو منجر به پراکسیداسیون چربی، زوال مولکول های بزرگ بیولوژیکی، تخریب غشاء و فرآیندهای غشایی، نشت یون و گسستگی رشته DNA می شود(رشید شمالی و همکاران،۱۳۹۱).

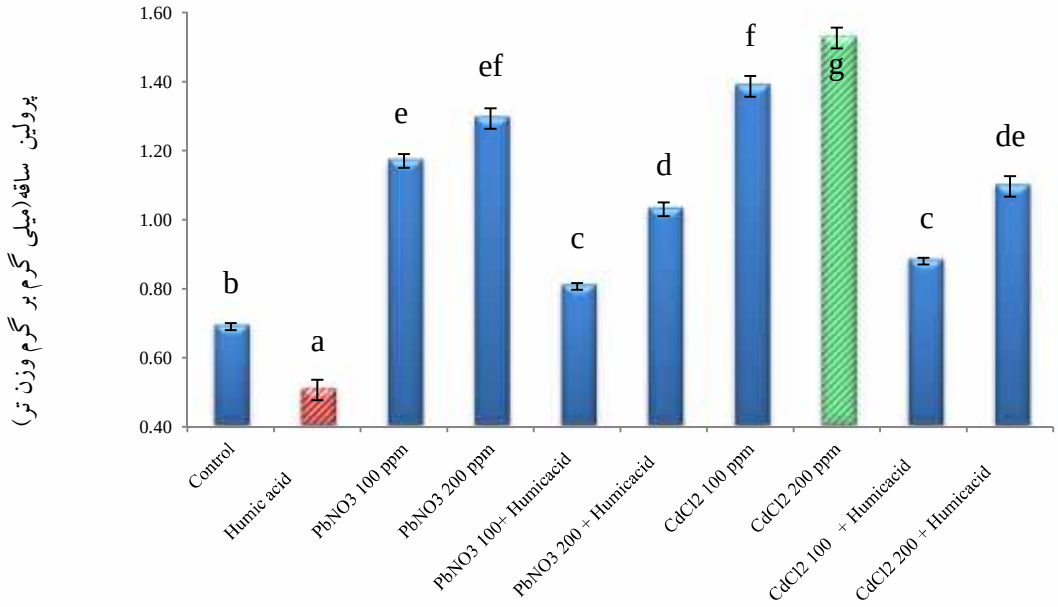
جدول۱: تجزیه واریانس داده ها صفات فیتوشیمیایی تحت تاثیر تیمار های اعمال شده

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		سوپراکسید دیسموتاز برگ
		کلروفیل کل برگ	پرولین برگ	
تیمار	۹	0/060**	0/922**	340/254**
اشتباه آزمایشی	---	0/001	0/004	0/175
ضریب تغییرات (٪)	---	8/65	11/00	11/12

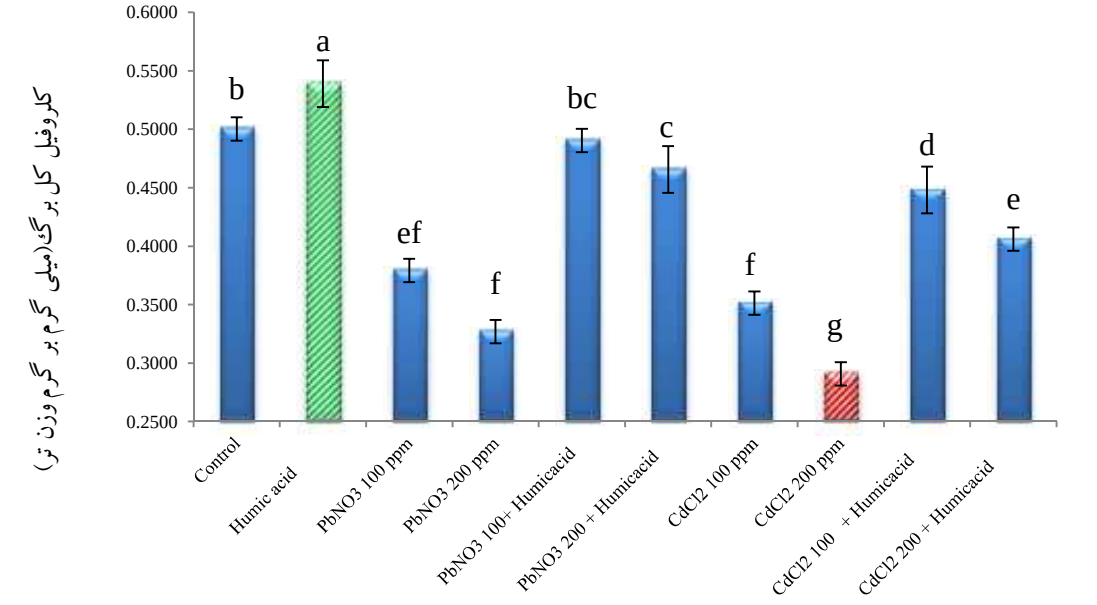
**،*، ns به ترتیب، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در تنشهای محیطی از جمله تنش فلزات سنگین رخ می دهد، تولید انواع اکسیژن های فعال میباشد که میتواند باعث تخریب عمده غشا، چربیها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلیئک شود. سطح بالای پراکسیداسیون لیپید در مورد گیاهان عالی تحت تنش فلزات سنگین گزارش شده است(Panda and Choudhuty, 2004). در این پژوهش با افزایش غلظت طبق جدول آنالیز واریانس درتیمار CdCl2 200 ppm میزان فعالیت آنزیم آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش را نسبت به هیومیک اسید و شاهد نشان داد و کمترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به تیمار هیومیک اسید بود. در شاهد، کاربرد فلزات سنگین در هر دو فلز سرب و کادمیوم افزایش معنی داری را در میزان فعالیت آنزیم نشان داد. قابل ذکر است که اختلاف بین غلظت های افزایشی غلظت فلزات سنگین در هر دو فلز معنی دار بود (P۰/۰۵≥). بر اساس مقایسه میانگین داده ها، بیشترین میزان کلروفیل کل برگ در تیمار هیومیک اسید و کمترین آن در تیمار CdCl2 200 ppm مشاهده شد. اعمال تیمار های افزایشی غلظت عناصر سرب و کادمیوم منجر به کاهش کلروفیل شده ولی شاهد با تیمار هیومیک اسید اختلاف معنی داری را با شاهد نشان نداد.در بررسی عصاره مشخص شد که تیمار CdCl2 200ppm بر روی کاهش فلاونوئید، فلاونوئیدکل و مقدار نهایی کوئرستین موثر بوده اما باعث افزایش آنتی اکسیدانت کل شده است و همچنین غلظت ۱۰۰ppmکادمیوم در کاهش فنل و فنل نهایی تاثیر گذار بوده اما Humicacid در دو تیمار کادمیوم باعث افزایش این مقادیر شذه است.

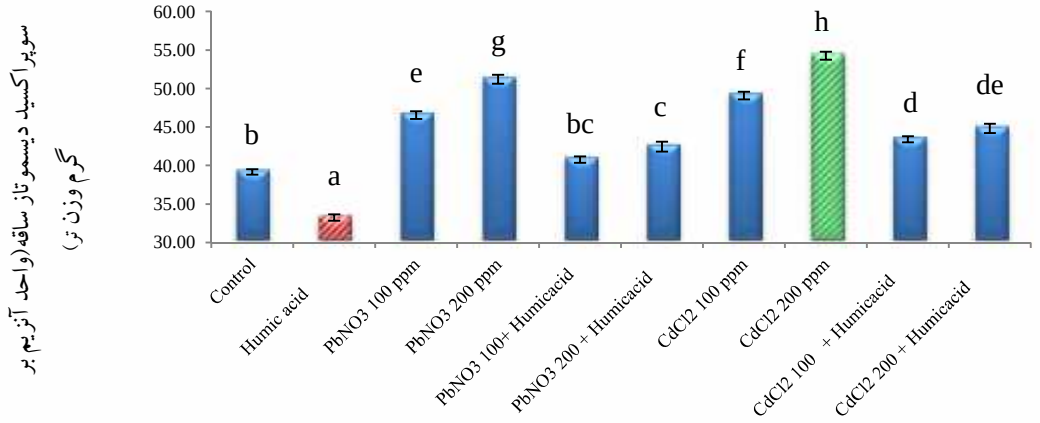
نمودار ۱: تاثیر فلزات سنگین سرب و کادمیوم به همراه هیومیک اسید برصفت پرولین گل همیشه بهار



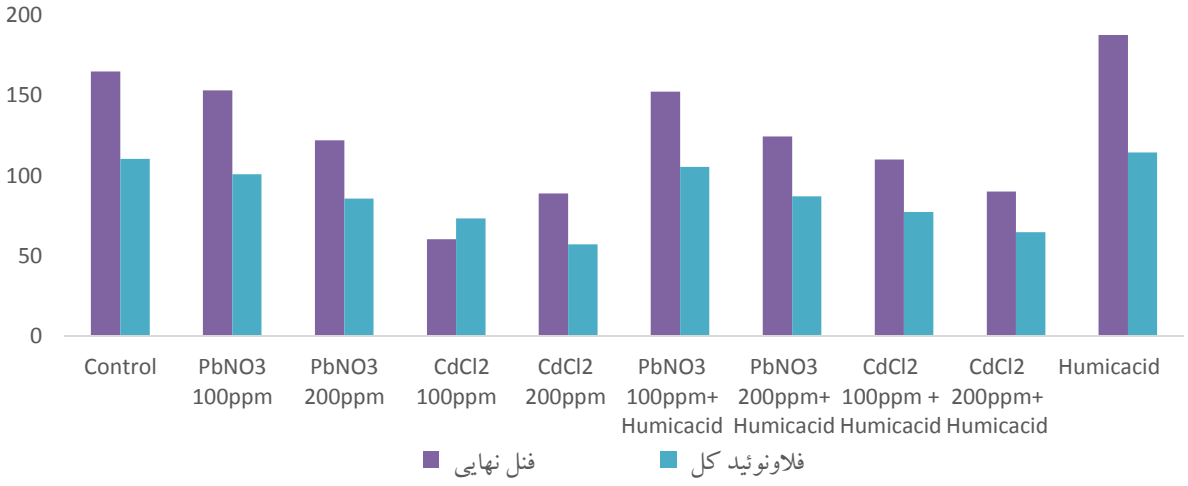
نمودار ۲ : تاثیر فلزات سنگین سرب و کادمیوم به همراه هیومیک اسید برصفت کلروفیل گل همیشه بهار



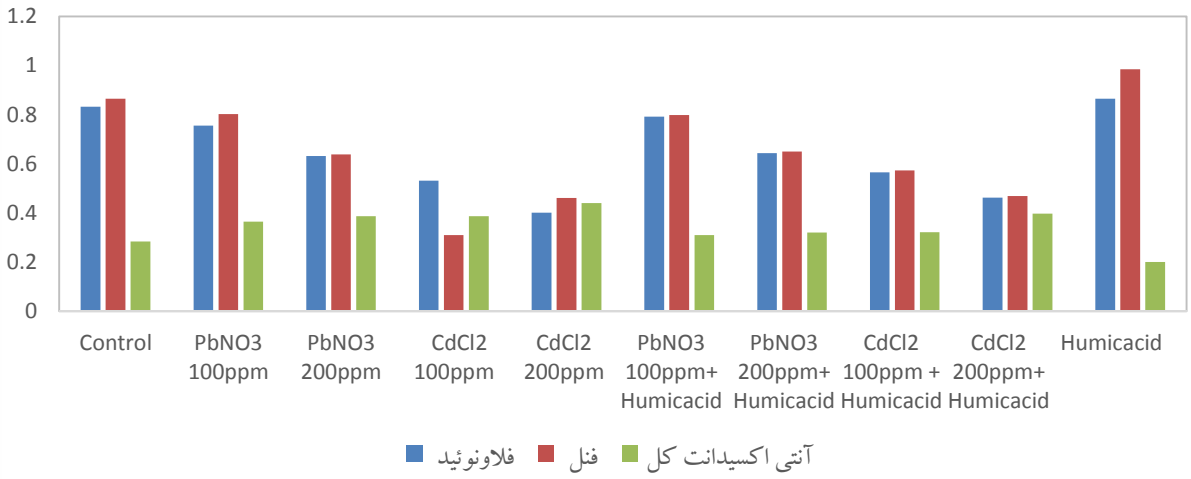
نمودار ۳: تاثیر فلزات سنگین سرب و کادمیوم به همراه هیومیک اسید برصفت سو پر اکسید دیسموتاز (SOD)



نمودار ۴ : میزان فلزات سنگین و هیومیک اسید در عصاره ی تیمارهای صورت گرفته



نمودار ۵ : میزان فلزات سنگین و هیومیک اسید در عصاره ی تیمارهای صورت گرفته



منابع

۱. امینی، ف. و امیرجانی، م. ۱۳۹۱. اثر تیمار نیکل و سرب بر محتوای کلروفیل و تجمع این فلزات در گیاه یونجه (*Medicago sativa*). مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی. سال دوم، شماره ششم.

۲. توکلی، م. چهرگانی راد، ع. لاری یزدی، ح. پاکدل، ع. ۱۳۹۰،مطالعه اثر غلظ تهای مختلف سرب و سالیسیلی کاسید بر برخی شاخص های رشد گیاه بادمجان(*Solanum melongena* L.) ،زیست شناسی گیاهی، سال سوم، شماره هفتم، بهار ۱۳۹۰ ، صفحه ۲۹

۳. رشید شمالی، آ. خداوردی لو ، ح. صمدی، ع. ۱۳۹۱، اندوزش و تحمل آلودگی کادمیومی خاک توسط ارزن وحشی،سلمه تره، خاکشیر وخرفه، مجله مدیریت خاک و تولید پایدار،جلد دوم، شماره اول.

۴. سادات پیروز، پ. و منوچهری کلانتری، خ. ۱۳۹۱ . تأثیر فلز سنگین کروم بر میزان تجمع، عوامل رشد و القا تنش اکسیداتیو در اندام هوایی گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus*). زیست شناسی گیاهی. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

۵. سرمدی، م. ایرانی، م. برنارد، ف. ۱۳۹۰؛ بررسی تحمل و تجمع کادمیوم در گیاهچه های شیرین بیان، علوم محیطی سال هشتم، شماره سوم، بهار

۶. عباس پور، ع.، م. کلباسی، ش. حاج رسولیها و ا. گلچین. (۱۳۸۴). بررسی آلودگی برخی خاکهای کشاورزی ایران به کادمیوم و سرب، مجموعه مقالات نهمین کنگره علوم خاک ایران،۵۴۵-۵۴۳.

7. Chaoui, A & E. Ferjani, 2005. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and and auxin degradation in leaves of Pea (*Pisium sativum*, L) seedlings. J. Comptes Rendus Biologies, 31: 23-328
8. Kabata-Pendias, A. 2004. Soil-Plant transfer of trace elements-an environmental issue. Geoderma 122:143-149.
9. Khodaverdiloo, H. 2007. Modeling phytoremediation of soils polluted with Cadmium and lead. Ph.D. Thesis. Tarbiat ModaresUniversity, Tehran, Iran,131p. (In Persian).
10. Lee SH, Lee IS, Choi YJ, Kim JG. In situ stabilization of cadmium, Lead and Zinc contaminated soil using various amendments. Chemosphere 2009; 77 (8): 1069-75
11. Ouzounidou, G. 1995. Cuions mediated changes in growth, chlorophyll and other ioncontents in a Cutolerant Koeleriasplendens. *Biologia Plantarum*. 37: 71-78.

Check with humic acid concentration of lead and cadmium in marigold (*Calendula officinalis)* and its effect on the quantity and quality of extracts and phytochemical parameters

O. samouil[1*], V. Abdoosi [2], P. Moradi [3]

1-master, physiology and modified medicinal herbs, spices and aromas, Islamic Azad University, Science and Research, Department of Horticultural Sciences, Tehran, Iran 2. Islamic Azad University, Science and Research Branch, Department of Horticultural Sciences, Tehran, Iran 3.Islamic Azad University, Department of Horticulture, Saveh, Iran

*Corresponding author: oroli_soheyli@yahoo.com

Abstract

Heavy metals in various ways, the growth and metabolism of plants affected. Extracts and essential oils, natural compounds, volatile, complicated and disabled are a very strong smell of aromatic plants are also produced as secondary metabolites. Secondary Metabolites play an important role in plant adaptation to the environment and to overcome stress situations play. Marigold (*Calendula officinalis*) plant of dark stars, grass and reliable. Air erect stems branching and flowering tuber pile of yellow color. To reveal the relationship between metal toxicity and oxidative stress responses and detoxification of lead and cadmium were on marigold and photosynthetic pigments, proline, the activity of enzymes SOD, quantity and quality of essential oil was investigated. Research in a factorial design with completely randomized design factors included the first factor in the 3 concentrations of cadmium and lead (0, 100 and 200 mg per liter) and the second factor humic acid concentrations (0, 2 grams per kg) was . The results showed that the proline, the activity of enzymes SOD, significantly increased with increasing concentrations of treatments, while a significant reduction in the amount of photosynthetic pigments was observed in the majority. It has been proven that stress, heavy metals can affect the quantity and quality of essential oil extracts of medicinal plants. In this study, the results showed that lead and cadmium in the presence of humic acid on the quality and quantity of the extract Marigold extract Humicacid least affected and most of was found in concentrations of CdCl2 200 ppm.

Key words: Essential oils and extracts, phytochemical parameters, lead, cadmium, humic acid, Marigold