بررسی اثر کادمیم بر میزان پرولین و برخی پارامترهای ریشه در گیاه سنجد خوراکی(Elagnus angostifolia)

بررسی اثر کادمیم بر میزان پرولین و برخی پارامترهای ریشه در گیاه سنجد خوراکی
(Elagnus angostifolia)

نسیبه میرزایی [1*]، اصغر مصلح آرانی [2]، حمید سودایی‌زاده [2]، هدایت الله میرشمسی [3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد. ۲- استادیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد، یزد. ۳- کارشناسی ارشد اداره کل منابع طبیعی استان یزد.

amosleh@yazduni.ac.ir

چکیده:

امروزه رشد روز افزون جمعیت و افزایش فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی میزان عناصر سنگین محیط را افزایش داده است. حضور عناصر سنگین (Pb، Cd، Zn،Cr و...) در طبیعت آلودگی‌های زیست محیطی را به همراه دارد زیرا این عناصر در معرض فرآیندهای تخریب نیستند و در محیط باقی می‌مانند. به منظور بررسی تاثیرکادمیم بر گیاهان، پژوهش حاضر در غالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. در این آزمایش تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیم (۰ (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر مقدار پرولین، اندازه‌ی طول و وزن ریشه در گیاه سنجد خوراکی مورد بررسی قرار گرفت. مقدار پرولین به روش Bates اندازه-گیری شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد با افزایش غلظت کادمیم مقدار پرولین در ریشه سنجد به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. مقدار پرولین در نمونه شاهد سنجد برابر با حدود ۶,۳ میلی‌گرم بر گرم ماده تر بود که بر اثر تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم به حدود ۱۹,۸ میلی‌گرم بر گرم رسید. همچنین میزان طول ریشه با حضورکادمیم در خاک بر اساس این آزمون کاهش معنی‌داری پیدا کرد این میزان در گیاه شاهد ۳۷ سانتی‌متر بود که در غلظت ppm ۴۰۰ به ۲۳ سانتی متر رسید. وزن تر ریشه نیز با افزایش غلظت کادمیم مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصله بیان‌گر کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه در غلظت ۱۰۰ و ppm۴۰۰ نسبت به شاهد است.). بر اساس نتایج تحقیق می‌توان چنین نتیجه گرفت که سنجد با افزایش پرولین می‌تواند با سمیت کادمیم مقابله کند.

کلمات کلیدی: پرولین، سنجد، کادمیم، گیاه پالایی

مقدمه

امروزه رشد روز افزون جمعیت و افزایش فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی میزان عناصر سنگین محیط را افزایش داده است.حضور عناصر سنگین (Pb، Cd، Zn،Cr و...) در طبیعت آلودگی‌های زیست محیطی را به همراه دارد زیرا این عناصر در معرض فرایندهای تخریب نیستند ودر محیط باقی می‌مانند. (Doumett و همکاران، ۲۰۰۸). کادمیم اگرچه 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 مریستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد (Das, *et al.*, 1997). کادمیم سبب کلروز و نکروز برگها (Zhang, *et al.*, 2002) ، کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a وb و کاروتنوئیدها در گیاهان آلی (Sanita and Gabbrielli, 1999 و Sheoran, et al., 1990) و باعث اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها نیز می‌شود (Gouia, et al., 2001). مهمترین دلیل اثر تخریبی کادمیم این است که این عنصر باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های آزاد سوپراکساید (O_2^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (-OH) و پراکسید - هیدروژن (H_2O_2) می‌شود. این رادیکال‌ها به سرعت با DNA، چربی‌ها و پروتئین‌ها واکنش کرده و موجب تخریب سلول‌ها می-گردند. در بین آنتی‌اکسیدانهای غیر آنزیمی گیاهان پرولین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پرولین آنتی اکسیدانی است که پاک کننده 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. گونه‌های مختلف گیاهی می‌توانند به عنوان فیلترهای زیستی نقش مهمی را در حذف آلودگی‌های محیطی به عهده داشته باشند. (آفتاب طلب، ۱۳۸۶ و خداکرمی، ۱۳۸۶). این روش رفع آلودگی، باعث حفظ 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). گیاه‌پالایی (Phytoremediation) به فلزات سنگین شامل دو فرایند اصلی است. یکی گیاه تثبیتی (Phytostabilization) است که به تثبیت فلزات در خاک یا ریشه گفته می‌شود و دیگری گیاه استخراجی (Phytoextraction) به معنای جذب آلاینده‌ها توسط گیاه از محیط خاک و انتقال آن از ریشه به اندامهای هوایی است. (Pivetz, 2001). به منظور بررسی این اثر، در این پژوهش تاثیر غلظت‌های متفاوت فلز کادمیم بر میزان پرولین و طول و وزن ریشه در گونه سنجد خوراکی مورد بررسی قرار گرفت.

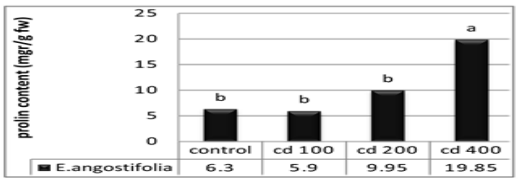
مواد و روش ها :

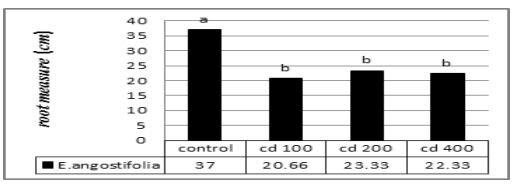
نهال‌های یک ساله و هم‌اندازه‌ی سنجد از نهالستان شهرستان یزد تهیه و در یک طرح کاملا تصادفی در سه تکرار قرار داده شد. برای تهیه تیمار کادمیم، نیترات کادمیم در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ساخته شد. نهال‌ها ۵۰ روز تحت تنش بودند. پس ازدرآوردن نهال‌ها از خاک طول ریشه با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازگیری شد. وزن تر ریشه با ترازوی با دقت ۰,۰۰۱ توزین شد. برای اندازه‌گیری میزان پرولین مقدار ۰/۵ گرم از ریشه گیاهان را توزین و در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفو سالیسیلیک ساییده و سپس نمونه‌ها صاف گردید. آن‌گاه ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک خالص به نمونه‌ها افزوده شد و لوله‌ها در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد، سپس لوله‌ها در حمام یخ به مدت نیم ساعت قرار گرفتند.آن گاه به هر لوله آزمایش ۴ میلی لیتر تولوئن افزوده و آن‌ها را خوب تکان داده و میزان جذب لایه رنگی فوقانی(حاوی تولوئن و پرولین) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید (Bates, et al., 1973).

نتایج :

با افزایش غلظت کادمیم میزان پرولین ریشه در سنجد افزایش یافت (شکل ۱). بر اساس آزمون دانکن حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰,۰۵ است. کادمیم بویژه در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین در ریشه سنجد گردید. میزان پرولین در نمونه شاهد سنجد برابر با حدود ۶,۳ میلی‌گرم بر گرم ماده‌ی تر بود که بر اثر تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم به حدود ۱۹,۸۵میلی‌گرم بر گرم رسید. در تیمار ۱۰۰ و۲۰۰ میلی گرم بر لیتر میزان پرولین تفاوت معنی‌داری با شاهد ندارد.

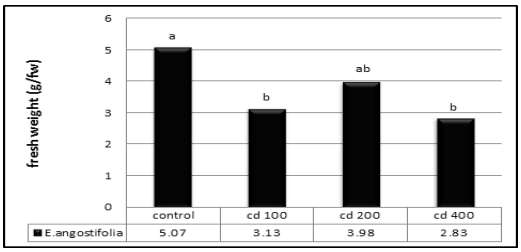
همچنین میزان طول ریشه با حضورکادمیم در خاک کاهش معنی‌داری پیدا کرد. این کاهش در غلظت‌های مختلف کادمیم اختلاف زیادی نداشت. این میزان در گیاه شاهد ۳۷ سانتی‌متر بود که در غلظت ppm ۴۰۰ به ۲۲ سانتی متر رسید. وزن تر ریشه نیز با افزایش غلظت کادمیم مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳). که نتایج حاصله بیان‌گر کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه در غلظت ۱۰۰ و ppm۴۰۰ نسبت به شاهد است.





شکل ۱ : روند تغییرات میزان پرولین ریشه با افزایش غلظت کادمیم

شکل ۲ : روند تغییرات طول ریشه با افزایش غلظت کادمیم



شکل ۳ : روند تغییرات وزن تر ریشه

بحث:

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم وزن و طول ریشه سنجد کاهش می‌یابد که به دلیل مسمومیت ناشی از حضور کادمیم در خاک است. نتایج مشابه نشان داد که تولید پایین تر زیست توده (به خصوص در برگ) و ریشه های کوتاه تر از علائم مسمومیت کادمیوم درگیاهان گوجه هستند(chaffei et al., 2004). تحریک کادمیوم، وزن تر و خشک، ارتفاع گیاهان، طول ریشه، سطح برگ و سایر پارامترهای بیومتریک را مهار می کند و تقریبا در همه تحقیقات، گزارش شده است (Vassilev and Yordanove, 1997). طبق این تحقیق میزان پرولین در سنجد افزایش یافت. 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 غیر سمی تبدیل نماید. Sun و همکاران (۲۰۰۷) تجمع پرولین در گیاه *Solanum nigrum* را به دلیل نقش این ماده در کیلات کردن کادمیم و تشکیل ترکیب غیر سمی پرولین- کادمیم می‌دانند. Sharma و همکاران (۱۹۹۸) نیز تجمع پرولین در محیط کشت حاوی کادمیم را به دلیل نقش این ماده در کیلات کردن کادمیم و تشکیل یک کمپلکس غیر سمی از پرولین- کادمیم می‌دانند. Pandy و Sharma (۲۰۰۲) نشان دادند که نیکل، کبالت و کادمیم باعث تجمع پرولین شده و پیشنهاد نمودند که افزایش پرولین با تغییرات رژیم آبی گیاه مورد مطالعه مرتبط می‌باشد. Schat و همکاران (۱۹۹۷) نیز تجمع پرولین در گیاه *Silene vulgaris* را به کمبود آب که در نتیجه‌ی اثر عناصر سنگین حاصل می‌شود نسبت داده‌اند. پرولین می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپید خطر رادیکال‌های آزاد را کاهش داده باعث حفظ تمامیت غشاها گردد (Mehta and Gaur, 1999 و Alia and Saradhi, 1991). مشابه این نتایج Parlak و Yilmaz (۲۰۱۱) بر روی گیاه *Groenlandia densa* نشان دادند که میزان پرولین با افزایش غلظت کادمیم به طور تدریجی افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم به دست آمد. Dinakar و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که تحت تأثیر کادمیم میزان پرولین در ریشه و برگ در گیاه *Arachis hypogaea* افزایش یافت. این محققین نشان دادند که میزان پرولین در گیاه سویا (*Soya been*) با افزایش غلظت کادمیم در محیط کشت افزایش یافت. Alia و Saradhi (۱۹۹۱) نیز تجمع پرولین را تحت تأثیر کادمیم در چند گیاه نشان دادند. تجمع پرولین در لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) نیز تحت

تأثیر کادمیم گزارش شده است. (Zengin and Munzuroglu, 2005) . کادمیم همچنین باعث افزایش میزان پرولین در گیاه *Atriplex halimus* شد (Nedjimi and Daoud, 2009). بر اساس نتایج تحقیق می‌توان چنین نتیجه گرفت که سنجد با افزایش پرولین می‌تواند با سمیت کادمیم مقابله کند. البته حضور کادمیم حتی در غلظت ppm۱۰۰ به دلیل سمیت بالای آن برای گیاهان باعث کاهش وزن و طول ریشه می شود.

منابع

آفتاب طلب، ن.، ۱۳۸۶. بررسی توان پالایش دو عنصر سمی کادمیوم و سرب بوسیله نهالهای دوسالهٔ دو گونهٔ چنار و سرو سیمین. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۱۳۰، ص.

خداکرمی، ی.، ۱۳۸۶. ارزیابی توان زیست پالایی خاک در دو گونه بلوط ایرانی و بنه، *(Quercus brantii & Pistacia atlantica)* پایان نامه کارشناسی ارشد، .دانشکده منابع. طبیعی دانشگاه تهران، .۱۴۶ ص.

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.

Das, P., Samantaray, S., Rout, G.R., 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. Environmental Pollution, 98, 29–36.

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.

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.

Gouia, H., Ghorbal, M.H. and Meyer, C., 2001. Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiology, 38:629-638.

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.

Alia, G., Srivastava, P.S. and Iobal, M., 2001. Responses of bacopa moniera cultures to cadmium toxicity. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 66: 342-349Pulford, I.D. and Watson, C., 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by tree- a review, Environment International, 29: 529-540.

Pivetz, B.E., 2001. Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous sites, Ground Water Issue, EPA/540/S-01/500. 59 pp.

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.

Chaffei C,Pageauk, Suzukia, Gouia H, Ghorbel MH, 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.

Vassilev A, and Yordanov I. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium treated plants: a review. Bulgarian Jornal of Plant Physiology 23:114-113.

Sun, Q., Ye, Z.H., Wang, X.R., 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.

Sharma, S.S., Schat, H. and Vooijs, R., 1998. In vitro alleviation of heavy metal- induced enzyme inhibition by proline. Phytochemistry, 49: 1531-1535.

Sanita, L. & R. Gabbrielli, 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, 41: 105-130.

Pandey, N. and Sharma, C.P., ۲۰۰۲. effect of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and matabolism of cabbage. Plant Science, 163: 753-758.

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.

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.

Alia, S.P.P., 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. Journal of Plant Physiology, 138: 504-508.

Yilmaz, D.D. and Parlak, K.U., 2011. Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme activities in *Groenlandia densa* under cadmium stress. Ecological Indicators, 11: 417-423.
Dinakar, N., Nagajyothi, P.C., Suresh, S., Udaykiran, Y. and Damodharam, T., 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlines. Journal of Environmental Sciences, 20: 199-206.
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 Biological Cracoviensia Series Botanica, 47(2): 157-164.
Nedjimi, B. and Daoud, Y., 2009. Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp.Schweinfurthii and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. Flora, 204: 316-324.

The effect of cadmium on prolin and root parameter in Eleagnus angostifolia

N.mirzaee[1],A. mosleh arani[2],H.sodaee zade[2],H.mirshamsi[3]
1-MS Student in Forestry, Faculty of Natural Resources, Yazd University
2- Associate Prof., Faculty of Natural Resources, Yazd University(Fax and Tel: 0351 8210312)
(amosleh@yazduni.ac.ir).
3- Ph.D in Forestry, Natural Resources Office,Yazd Province

Abstract
Today, the ever-increasing population and the increase in industrial and agricultural activities have intensified the amount of the heavy elements in the environment. The very presence of the heavy elements--Zn, Cr, Cd, Pb, to mention a few--in the environment would result in ecological and environmental pollution, because these elements will never undergo decomposition and remain intact in the environment. To investigate the effect of Cd on plants, the present study was conducted in three true random replications design. In this experiment the effects of different concentrations of Cd (0, 100,200 and 400) on the amount of Proline, the length and weight of roots in these plants, was investigated. The Proline was measured by Bates method respectively. The results of the Dunken Test revealed that when the concentration of Cd increased, the amount of Proline in the root of this plant meaningfully and significantly increased. The amount of Proline increased from 6.3 to19.8 when the concentration of Cd was 400 in the control group. Moreover, the length of the root meaningfully decreased in the presence of Cd in the soil. This amount was 37 cm in the control plant which became 23 cm in 400 ppm concentration. Further, the relationship between the weight of the root of fresh plant and the increase in the concentration of Cd was explored. The findings showed a meaningful decrease in the weight of the root of the fresh plants with 100 ppm and 400 ppm concentrations.