Archive of SID.ir

Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 52, No 3, Autumn 2021 (743-754)
DOI: 10.22059/ijhs.2020.301474.1794

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۰ (ص ۷۵۴-۷۴۳)

نشریه پژوهشی:

تأثیر نیتریک اکسید بر سمیت کادمیم با مطالعه برخی از صفات مرفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تاج خروس (*Celosia argentea* var. plumosa)

فاطمه بنی اسدی[۱]، مسعود ارغوانی[۲*]، وحیدرضا صفاری[۳] و مهدی منصوری[٤]
۱ و ۲. دانشجوی دکتری و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۳. دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
٤. استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/٦/۱۰)

چکیده
به منظور مطالعه اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان آزادکننده نیتریک اکسید (NO) بر برخی صفات مرفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه تاج خروس تحت تنش کادمیم، پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (گلدان حاوی خاک لومی شنی) در بهار و تابستان سال ۱۳۹٦در گلخانه با متوسط دمایی ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی٦۰ درصد با طول روز متوسط ١٤ ساعت انجام شد. فاکتور اول شامل کاربرد خاکی کادمیم از منبع نیترات کادمیم در دو سطح (۳۰ و ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و عدم کاربرد کادمیم و فاکتور دوم شامل محلول پاشی برگی SNP در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) بود. نتایج نشان داد با افزایش غلظت کادمیم فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی و مقادیر پراکسیدهیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید و کادمیم ریشه و شاخساره افزایش یافت، ولی میزان کلروفیل‌کل و وزن‌خشک ریشه و شاخساره کاهش یافت. از طرف دیگر کاربرد ۱۰۰ میکرومولارSNP در بالاترین سطح کادمیم نسبت به عدم مصرف آن، به طور موثری به ترتیب موجب افزایش وزن‌خشک‌ریشه (۲/٤ برابر)، کادمیم ریشه (۵۱ درصد)، کلروفیل‌کل (۵۰ درصد) ، پرولین (٧٤ درصد) و همچنین موجب کاهش مقدار پراکسیدهیدروژن (۲۸ درصد) و مالون‌دی‌آلدئید (٤۱ درصد) گردید. به نظر می‌رسد کاربرد این ماده جدا بر انباشت بیشتر کادمیم در ریشه و جلوگیری از انتقال آن به اندام هوایی، با کاهش صدمات اکسیداتیو می‌تواند تا حدی مقاومت این گیاه را برای رشد در خاک های آلوده به کادمیم افزایش دهد.

واژه های کلیدی: آنزیم های آنتی اکسیدان، پراکسیداسیون لیپید، پرولین، عناصر سنگین.

Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity by studying some of morphophysiological and biochemical characteristics of cock's comb (*Celosia argentea* var. plumosa)

Fatemeh Baniasadi[1], Masoud Arghavani[2*], Vahid Reza Saffari[3] and Mehdi Mansouri[4]
1, 2. Ph. D. Candidate and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
3. Associate Professor, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
4. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
(Received: May 08, 2020- Accepted: Aug. 31, 2020)

ABSTRACT
In order to evaluate the effect of sodium nitroprusside (SNP) as nitric oxide donor (NO) on some morphophysiological and biochemical characteristics of cock's comb plant under cadmium stress, this experiment was designed as a complete randomized factorial design with three replications (pot with sand loamy soil) in greenhouse condition (temperature 25-30 °C, relative humidity 60%, and a 14/10 light-dark cycle) in spring and summer 2017. The first factor included two levels of Cd (30 and 60 $mg.kg^{-1}$) with noncontaminated soil, and the second factor included three levels of SNPfoliar application (0,100 and 200µM). The results showed that with increasing Cd concentration, the activity of antioxidant enzymes, amount of hydrogen peroxide (H_2O_2), malondialdehyde (MDA), Cd in roots and shoots increased, while the content of total chlorophyll, shoot and root dry weight decreased. On the other hand, the pplication of 100 µM SNP at the highest level of cadmium, compared to non-application, dramatically increased root dry weight (2.4 fold), cadmium concentration in the roots (51%), total chlorophyll (50%), proline (74%), and also, decreased H_2O_2 (28%) and MDA (41%). It seems that the application of this material caused further uptake of cadmium in the roots and prevent its translocation towards the shoots, can improve the adverse effects of cadmium by a reduction in oxidative damage.

Keywords: Antioxidant enzymes, heavy metal, lipid peroxidation, proline.

* Corresponding author E-mail: arghavani@znu.ac.ir

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

مقدمه

امروزه به دلیل فعالیت‌های انسانی و توسعه روز افزون صنعت، آلودگی محیط زیست با فلزات سنگین به طور قابل توجهی افزایش یافته است که نه تنها منجر به اختلال جدی در اکوسیستم شده بلکه بخش کشاورزی را هم تحت تأثیر قرار داده است (Beata *et al*., 2018). کادمیم یکی از رایج‌ترین فلزات سنگین است که به صورت گسترده در همه خاک‌های جهان وجود دارد و از طریق فعالیت‌های صنعتی مانند حفر معادن، ذوب فلزات، استفاده گسترده از علف‌کش‌ها و کودهای شیمیایی تولید می‌شود. همچنین به دلیل کاربرد وسایل الکترونیکی متعدد در شهرها و برگشت پسماند این وسایل به زباله‌ها، آلودگی کادمیم در محیط کشت فضای سبز شهری نیز افزایش یافته است. آن‌چنان‌که در سال های اخیر انتشار کادمیم به دلیل فعالیت‌های انسانی حدود ۸۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ تن در سال بوده که به یک مشکل اساسی تبدیل شده است. این عنصر به راحتی توسط گیاه جذب و انباشته و در نهایت وارد زنجیره غذایی حیوان و انسان شده و تهدیدی جدی برای همه موجودات زنده است (Huang *et al*., 2020). بنابراین استفاده از روش های مناسب برای پالایش کادمیم از خاک برای حفظ سلامتی انسان ضروری است. یکی از روش‌های مقرون به صرفه جهت پالایش کادمیم، استفاده از تکنولوژی سبز گیاه‌پالایی است که در این روش از گیاهان خاص به عنوان انباشتگر برای جذب آلودگی آب و خاک استفاده می‌شود (Cunningham & David, 1996; Verbruggen *et al*., 2013). از سوی دیگر انتخاب گیاه مناسب که قابلیت تجمع بالایی دارد از اهمیت بسیاری برخوردار است، اما تعدادکمی ازگیاهان به عنوان گیاهان بیش‌انباشتگر (Hyperaccumulator) نامیده شده‌اند چرا که قادر به تجمع مقادیر بالایی ازکادمیم (حدود ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک) در اندام‌های هوایی خود بدون هیچ گونه علائمی از سمیت می‌باشند (Verbruggen *et al*, 2013). با توجه به اینکه اکثر گیاهان تجمع‌دهنده کادمیم رشد و زیست‌توده کمی دارند برخی از محققان تمرکزشان بر گیاهان زینتی است زیرا علاوه بر انباشت زیاد این عنصر در اندام‌های خود، زیست‌توده زیادی تولید می‌کنند و به راحتی تکثیر می‌شوند. از سوی دیگر پرورش این گیاهان در فضای سبز شهری می‌تواند سودمند باشد چرا که این گیاهان وارد زنجیره غذایی انسان نمی‌شوند و می‌تواند در پالایش خاک‌های آلوده این مناطق مورد استفاده قرارگیرند (Nakbanpote *et al*., 2016). از سوی دیگرگزارش‌های متنوعی نشان داده‌اند که گیاه زینتی تاج خروس متعلق خانواده آمارانتاسه (Amaranthaceae) توانایی خوبی برای استخراج کادمیم در خاک‌های آلوده دارد (Golchin *et al*., 2019; Liu *et al*., 2018). بنابراین به نظر می‌رسد این گیاه می‌تواند گزینه مناسبی برای مطالعه پالایش آلودگی در محیط‌های آلوده باشد.

کادمیم بیش از حد در روابط آبی گیاه، متابولیسم یون، جذب مواد معدنی و سایر فرایند های متابولیکی اختلال ایجاد کرده و منجر به تنش اکسیداتیو، آسیب به غشای سلولی، تخریب DNA و پروتئین‌ها و در نهایت موجب مرگ گیاه می‌گردد (Shanying *et al*., 2017). گیاهان روش‌های متنوعی را برای مهار کردن سمیت کادمیم به کار می‌گیرند که شامل کاهش انتقال به اندام های حساس، انتقال کادمیم به غشای دیواره سلولی، کلات کادمیم با ملاتیونین و فایتوکلات‌ها، نگه‌داری کادمیم در واکوئل و فعال‌کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Lin & Aarts, 2012). گزارش شده است که برخی از محرک‌های زیستی می‌تواند مکانیسم‌های فوق را با افزایش زیست‌توده گیاه و افزایش سیستم جذب و انتقال عناصر سنگین در گیاهان تقویت کنند. بنابراین پیدا کردن تنظیم کننده‌ای که توانایی پالایش گیاه را بهبود ببخشید بسیار مهم است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند نیتریک اکسید (NO) یک مولکول گازی است که می‌تواند با مولکولهای مختلف زیستی از جمله لیپیدها، نوکلئیک‌ها و پروتئین‌ها واکنش نشان‌دهد (Leterrier *et al*., 2012). همچنین این ماده در فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف گیاهان نقش دارد و پاسخ دفاعی در زمان تنش را در گیاهان افزایش می‌دهد. بنابراین ممکن است این ترکیبات طبیعی در تنظیم پتانسیل گیاه‌پالایی گیاهان به‌کار برده شوند. این مولکول در فرایندهای متنوعی در واکنش‌های سازگاری گیاه تحت تنش کادمیم دخالت دارد. برای مثال کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان آزاد کننده NO در گیاه

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

تنش اکسیداتیو را در گیاهان گوجه فرنگی، بادام زمینی و شبدر سفید کاهش داده است (Ahmad *et al.*,2017; Dong *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2015). این گزارش‌ها اهمیت کاربرد خارجی آزاد کننده های NO را در محافظت در برابر اثر مضر کادمیم نشان می‌دهد و مکانیسم‌هایی را نشان می‌دهد که کاربرد خارجی آزاد کننده‌های NO به گیاهان در برابر تنش کادمیم کمک می‌کند (Sharma *et al.*, 2020). یکی از مکانیسم‌های این ماده دخالت در افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی با مهار مستقیم ROS تولید شده توسط تنش کادمیم و تأثیرگذاری بر اجزای دیواره ریشه می باشد. برخلاف آن، گزارش شده است که مقدار زیاد NO می‌تواند با با O_2^- ترکیب شود و رادیکال پراکسید نیتریت را تشکیل دهد ($ONOO^-$) و باعث تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شود (Leterrier *et al.*, 2012). این ماده هم می‌تواند نقش حفاظتی و هم سمیتی داشته باشد که بستگی به غلظت و مکان عمل آن در سلول گیاه دارد (Chen *et al.*, 2018). بنابراین کاربرد غلظت بهینه آن در انجام آزمایش از اهمیت بالایی برخوردار است. با توجه به اینکه در کشور ایران به ویژه استان کرمان معادن مس متعدد (معدن مس سرچشمه و معدن مس میدوک) وجود دارد و عموما آلودگی کادمیم در خاک های اطراف این معادن قابل توجه است بنابراین بررسی گیاهانی که قابلیت زیست پالایی دارند در شرایط کنترل شده جهت کاربرد در این مناطق می‌تواند مفید باشد. از طرف دیگر تاکنون تأثیر NO بر مقاومت و کارایی پالایش این گیاه بررسی نشده است، لذا هدف از این تحقیق، علاوه بر مطالعه توانایی گیاه پالایی گیاه تاج خروس، ارزیابی تأثیر سدیم نیترو پروساید به همراه تنش کادمیم بر رشد و برخی از صفات مرفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه بود. مسلما نتایج حاصل از این پژوهش می تواند زمینه ای برای مدیریت پالایشگری با استفاده از گیاهان جهت کشت وکار در این مناطق باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش ابتدا نمونه خاک لومی شنی از مزرعه دانشگاه شهید باهنر کرمان که توسط فلزات سنگین آلوده نشده بود تهیه و برخی ازخصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک شامل بافت به روش هیدرومتری، ماده آلی به روش اکسایش مرطوب، pH در گل اشباع به‌وسیله pH متر، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع به‌وسیله هدایت‌سنج الکتریکی جنوی مدل ۴۵۱۰ و برخی از عناصر مهم چون فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، روی، مس و منگنز اندازه‌گیری شد. همچنین مقدار کادمیم خاک با استفاده از محلول DTPA اندازه‌گیری شد (Lindsay & Norvell, 1978)، که نتایج آن در جدول۱ نشان داده شده است و بیان کننده وضعیت عادی خاک از نظر عناصر غذایی می باشد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و در سه تکرار در سال۱۳۹۶درگلخانه‌های تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنرکرمان با متوسط دمایی ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی۶۰ درصد با طول روز متوسط ۱۴ ساعت (شدت نور طبیعی ۸۰۰ میکروفوتون بر سانتی متر مربع بر ثانیه) انجام گرفت. فاکتور اول شامل کاربرد خاکی کادمیم از منبع نیترات کادمیم با دو سطح (۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و عدم کاربرد کادمیم و فاکتور دوم شامل محلول پاشی برگی سدیم نیتروپروساید (SNP) در دو سطح (۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) و شاهد بود. سطوح مختلف کادمیم بر اساس پیش آزمایش انجام گرفته انتخاب گردیدند. قبل از انجام آزمایش، خاک‌ها با سطوح مختلف کادمیم آلوده گردیدند. نحوه آلوده سازی خاک به این صورت بود که ابتدا هر کیلوگرم خاک با سطوح مختلف از محلول نیترات کادمیم کاملا آغشته و سپس برای هر تیمار ۳ کیلوگرم خاک در نظر گرفته شد که صورت جداگانه بسته بندی و به مدت یک ماه نگهداری شدند (Bi *et al.*, 2019). در طول این مدت جهت حفظ تعادل شیمیایی خاک با کادمیم، رطوبت خاک در حد رطوبت ظرفیت زراعی حفظ گردید. سپس بذر گل تاج خروس (*Celosia argentea* var. plumosa) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و به مدت ۱۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد ضدعفونی شدند و پس از شستشو با آب مقطر

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

در گلدان‌های نشا کشت شدند. هنگامی‌که نهال‌ها به مرحله چهار برگ رسیدند، نهال‌های یکنواخت به داخل‌گلدان‌هایی با مقدار ۳ کیلوگرم خاک حاوی نمونه های خاک آلوده با غلظت‌های مختلف کادمیم و شاهد منتقل شدند (هر گلدان حاوی یک نشا). تمام گلدان‌ها در حدود ۷۰ درصد از ظرفیت زراعی در طول دوره رشد گیاهان، سیراب شدند. چهارده روز پس از انتقال نهال‌ها به گلدان، سطح برگ کل گیاهان با استفاده از سم پاش دستی با غلظت‌های مورد نظرSNP محلول پاشی شدند. مقدار SNP به کار برده شده ۲۰ میلی لیتر برای هر گیاه بود و این تیمارها در فواصل ده روز دو بار دیگر نیز تکرار شدند. پانزده روز بعد ازآخرین محلول‌پاشیSNP نمونه برگی برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی چون کلروفیل، پرولین، پراکسیداسیون لیپیدها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برداشت شدند. سپس۷۰ روز پس از انتقال نهال‌ها به گلدان، گیاهان برداشت شدند و با آب مقطر استریل شستشو داده، سپس به ریشه و شاخساره تقسیم شدند و وزن خشک آن‌ها محاسبه گردید. همچنین در پایان آزمایش به منظور تعیین مقدارکادمیم در ریشه و شاخساره ها، ابتدا خاکستر موادگیاهی در دمای۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تهیه و پس از عصاره‌گیری با هیدروکلریک اسید یک نرمال، غلظت کادمیم توسط دستگاه جذب اتمی SpectrAA.220 شرکت Varian اندازه‌گیری شد (Emami, 1996). مقدارکادمیم شاخساره و ریشه بر اساس وزن‌خشک استفاده شده جهت عصاره‌گیری بر حسب میلی‌گرم برکیلوگرم گزارش شدند.

برای سنجش و اندازه‌گیری کلروفیل‌کل با استفاده از روش Lichtenthaler (1987) و برای عصاره گیری از استون ۸۰ درصد استفاده شد و میزان جذب در طول موج ۴۷۰ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری UV-VSI مدل Cary50 قرائت گردید. جهت اندازه‌گیری میزان پرولین برگ از روش توضیح داده شده توسط Bates (1973) استفاده شد و عصاره گیری با استفاده از از سولفوسالیسیلیک ۳ و اسید ناین هیدرین انجام و میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. جهت تعیین مقدار مالون‌دی آلدئید از روش Heath & Packer (1968) از تری کلرواستیک اسید (TCA) یک درصد و محلول TCA ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتیوریک اسید (TBA) برای عصاره‌گیری استفاده شد. میزان جذب در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید و ضریب خاموشی معادل $mM^{-1}cm^{-1}$ ۱۵۵ بود. همچنین برای سنجش میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از روش Velikova *et al.* (2000) و با کاربرد تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد، فسفات پتاسیم ۱۰ میکرومولار pH=۷ و یدید پتاسیم (KI) یک مولار، میزان جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید. برای تهیه عصاره آنزیمی بافت برگ از بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میکرومولار (pH=۷) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) یک درصد، فنیل متان سولفونیل فلورید (PMSF) یک میلی‌مولار و EDTA یک میلی مولار بود، استفاده شد. برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، پس از تهیه عصاره آنزیمی، بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میکرومولار (pH=۷) و پراکسید هیدروژن ۳ درصد به آن اضافه و میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش در ۲۴۰ نانومتر پس از ۳ دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی معادل $mM^{-1}cm^{-1}$ ۲۹/۴محاسبه گردید (Aebi, 1984). همچنین، برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار به عصاره آنزیمی اضافه و میزان جذب تتراگایاکول (حاصل از اکسید شدن گایاکول) در ۴۷۰ نانومتر در لحظه شروع واکنش پس از اضافه نمودن عصاره آنزیمی و پس از یک دقیقه خوانده شد. با استفاده از تغییرات جذب در یک دقیقه و ضریب خاموشی $mM^{-1}cm^{-1}$ ۲۵/۵ مقدار تتراگایاکول تشکیل شده محاسبه گردید (Plewa *et al.*, 1991).

جدول ۱. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک.
Table 1. Some physical and chemical properties of soil.

Texture	pH	Ec ($dS.m^{-1}$)	Mg ($meq.l^{-1}$)	Ca ($meq.l^{-1}$)	P	K	Fe	Cu ($mg.kg^{-1}$)	Zn	Cd	Mn
Sandy loam	8	2.8	10.8	11.2	11.1	209	2.4	0.48	0.53	0.20	1.1

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

در این پژوهش از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی برای تجزیه وتحلیل داده‌ها استفاده شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار JMP (13.0.1, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون توکی در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک ریشه و شاخساره

نتایج مقایسه میانگین این تحقیق بیانگر این مطلب بود که با افزایش مقدار کادمیم در محیط کشت، وزن خشک‌ریشه و شاخساره کاهش یافت (شکل a-۱) و جدول ۲). همچنین اثر متقابلSNP و کادمیم تأثیری بر وزن خشک شاخساره گیاه تاج خروس نداشت، ولی به تنهایی موجب افزایش وزن‌خشک شاخساره گردید، به طوری‌که تیمار ۱۰۰ میکرومولار SNP موجب افزایش ۲۱ درصدی وزن‌خشک شاخساره نسبت به عدم کاربرد آن گردید (جدول ۲). این در حالی بود که کاربرد SNP موجب کاهش اثر نامطلوب کادمیم بر وزن‌خشک ریشه گردید به طوری‌که تیمار ۱۰۰ میکرومولار SNP در خاک های آلوده به کادمیم ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم به ترتیب موجب افزایش ۸۵ درصد و ۲/۴ برابری این صفت نسب به عدم مصرف SNP گردید (شکل a-۱). در شرایط عدم وجود کادمیم، تیمار ۲۰۰ میکرو مولار SNP نسبت به عدم مصرف آن، موجب افزایش ۳۳ درصد وزن خشک ریشه گردید (شکل a-۱). کاهش رشد گیاه تحت شرایط کادمیم ممکن است ناشی از تغییر جذب مواد مغذی، تولید ROS و تغییر در سوخت‌وساز انرژی و غیره باشد (Wang *et al*., 2013). به‌طوری‌که در برخی مطالعات غلظت‌های یکسان یا بالاتر کادمیم برای مشاهده پاسخ فیزیولوژی گیاهان مختلفی چون جعفری، گل حنا، بابونه گاوی، بادام زمینی و کاهو استفاده شد و رشد این گیاهان به طور مشابه با نتایج ما کاهش یافت (Wei *et al*., 2012; Hojati *et al*., 2017; Dong *et al*., 2019; Valizadeh Ghale Beig *et al*., 2021). در حالی‌که گیاه *Amaranthus caudatus* هیچ‌گونه‌کاهش رشدی در خاک‌های آلوده به کادمیم نشان نداد (Cay, 2016). همچنین در این پژوهش کاربرد SNP (به‌عنوان آزادکننده NO) در تعدیل کاهش وزن خشک ریشه گیاه تاج خروس تحت شرایط کادمیم موثر واقع گردید که بیانگر نقش محافظتی NO در پاسخ به تنش کادمیم است. قبلا نیز تأثیر محرک آزادکننده NO بر رشد سایرگیاهان نیزگزارش شده است (Zhao *et al*, 2016; Wang *et al*., 2013; Wei *et al*., 2020). NO به عنوان یک مولکول فعال زیستی و پیام‌رسان در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژی در رشد و سوخت‌وساز گیاه نقش مهمی را ایفا می‌کند (Leterrier *et al*., 2012). با این‌حال مطالعات نشان داده‌اند که این ماده هم می‌تواند نقش حفاظتی و هم سمیت داشته باشد که بستگی به غلظت و محل فعالیت آن دارد (Chen *et al*., 2018). در این تحقیق دیده شد تأثیر ۱۰۰ میکرو مولارSNP بر تعدیل اثر نامطلوب کادمیم بر وزن خشک ریشه بارزتر از ۲۰۰ میکرمولار SNP بود (شکل a-۱). گزارش شده است که غلظت بهینه NO ممکن است علاوه بر افزایش تشکیل ریشه های جانبی و انتهایی، بر دیواره سلولی نیز تأثیر گذاشته و نهایتا موجب رشد و توسعه دیواره سلولی گردد. اثرات حد واسطه این ماده بر ریشه می‌تواند تحت کنترل هورمون گیاهی اکسین باشد (Lombardo *et al*., 2006). در این پژوهش به نظر می‌رسد SNP می‌تواند نقش مثبتی در افزایش زیست‌توده ریشه گیاه تاج خروس رشد کرده در خاک‌های آلوده به کادمیم داشته باشد.

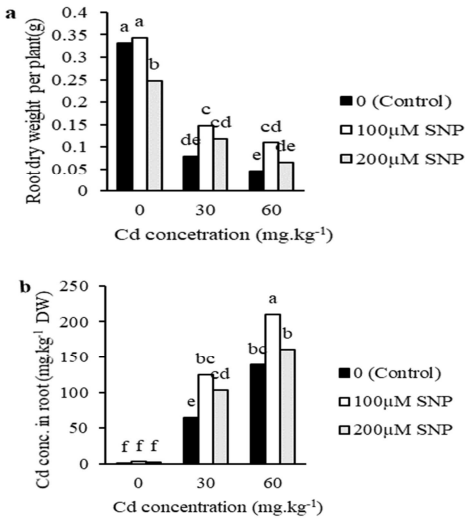
غلظت کادمیم در شاخساره و ریشه

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم در خاک، مقدار کادمیم ریشه به طوری معنی‌داری افزایش یافت و غلظت آن در ریشه چندین برابر بیشتر از شاخساره بود (شکل b-۱) و جدول ۲). همچنین میزان جذب کادمیم ریشه با کاربرد غلظت‌های مختلف SNP بیشتر شد، به‌طوری‌که بیشترین غلظت کادمیم در ریشه گیاهان رشد کرده درخاک‌های آلوده با ۶۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیم که با ۱۰۰ میلی‌مولار SNP تیمار شده بودند دیده شد. به موجب کاربرد این غلظت از SNP تجمع کادمیم در ریشه ۵۱ درصد نسبت به عدم مصرف آن در همان غلظت کادمیم افزایش یافت که حاکی از تأثیر بیشتر۱۰۰ میکرومولار SNP در افزایش جذب کادمیم ریشه نسبت به تیمار ۲۰۰ میکرومولار SNP بود (شکل

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

b-۱). این درحالی بود که کاربرد SNP در تیمارهای مختلف کادمیم در جذب کادمیم شاخساره تأثیر گذار نبود (جدول ۲). از طرف دیگر با افزایش غلظت کادمیم مقدار کادمیم شاخساره نیز افزایش یافت آن‌چنان‌که، بیشترین مقدار کادمیم شاخساره ۲۴/۰۴ میلی گرم بر کیلوگرم بود که در تیمار ۶۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیم دیده شد (جدول ۲) که در مقایسه با ریشه این مقدار بسیار کم بود به طوری که مقدار کادمیم در ریشه گیاهان تیمار شده با غلظت مشابه ۱۷۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که حدود ۷/۰۷ برابر بیشتر از شاخساره بود (جدول ۲ و شکل b-۱). اصولاً انتقال کادمیم از طریق غشای‌سلولی‌ریشه توسط ناقل‌های پروتئینی کلسیم، منیزیم، آهن، روی، منگنز، و مس صورت می‌گیرد و ناقل اختصاصی ندارد. از کل یون‌هایی که در اطراف ریشه قرار می‌گیرند فقط قسمت اندکی جذب گیاه می‌شود و قسمت اعظم این یون‌ها به طور فیزیکی جذب دیواره سلولی می‌شوند و نمی توانند وارد سلول شده و در نهایت نمی‌توانند به قسمت‌های هوایی گیاه منتقل شوند. یکی دیگر از دلایل افزایش میزان کادمیم در ریشه گیاهان ممکن است تجمع آنها در واکوئل سلول‌های ریشه باشد که منجر به کاهش انتقال آن به قسمت‌های هوایی شده و به همین دلیل مقدار این عنصر در ریشه بیشتر از اندام‌های هوایی باشد (Beata *et al*., 2018; Ghosh & Roy, 2019). نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش غلظت کادمیوم در محیط الزاما منجر به انتقال بیشتر آن به بخش های هوایی تاج خروس نمی‌گردد و احتمالا این گیاه در مواجه با غلظت‌های بالاتر کادمیوم در محیط از مکانیسم‌های ذکر شده برای ممانعت از انتقال بیشتر آن به بخش‌های هوایی استفاده می‌کند که برای درک این مطلب مطالعه دقیق ناقل‌های درگیر در جذب و انتقال کادمیم ضروری می‌باشد. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسدکه گیاه تاج خروس استاندارهای یک گیاه بیش‌انباشتگر را نشان نمی‌دهد، چرا که این گیاهان معمولا بیش از ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن‌خشک خود کادمیم را در اندام هوایی بدون‌کاهش رشد تجمع می‌دهند (Shanying *et al*., 2017). به نظر می‌رسد گیاه مورد مطالعه با تجمع کادمیم در ریشه می‌تواند به طور موثر کادمیم را از خاک خارج کند. از طرف‌دیگر در مطالعه حاضر کاربردSNP موجب افزایش تجمع کادمیم در ریشه گیاهان رشد کرده در غلظت های مختلف کادمیم شد. گزارش‌های متعددی نشان داده‌اند که کاربرد خارجی آزاد کننده NO می‌تواند محتوای یون‌های کادمیم را تعدیل دهد و یا برعکس افزایش دهد. برای مثال کاربرد خارجی SNP موجب افزایش تجمع کادمیم در ریشه گیاهان برنج و لوبی (Xiong *et al*., 2009; Zhao *et al*., 2016) و برعکس موجب کاهش تجمع کادمیم در ریشه و برگ‌های گیاهان گوجه فرنگی، شبدر سفید و ماش گردید (Nahar et al., 2016; Ahmad *et al*., 2017; Liu *et al*., 2015).



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیم و سدیم نیتروپروساید (SNP) بر وزن‌خشک ریشه (a) و مقدارکادمیم ریشه (b) تاج خروس.

Figure 1. Mean comparison interaction effect of cadmium and sodium nitroprusside (SNP) on root dry weight (a), and Cd concentration in root (b) of cock's comb.

درحالی‌که در گزارش دیگر بیان شده این ماده تأثیری بر مقدار کادمیم اندام هوایی‌گوجه فرنگی نداشت (Wang *et al*., 2016). همچنین گزارش شده است یکی از دلایل افزایش تجمع کادمیم در دیواره سلول ریشه و کاهش تجمع کادمیم در محلول برگ برنج با کاربرد آزاد کننده NO می‌تواند ناشی از افزایش پکتین و همی سلولز در دیواره سلول ریشه برنج باشد (Xiong *et al*., 2009). با این‌حال مطالعات دقیق تر برای تعیین اینکه آیا کاربرد

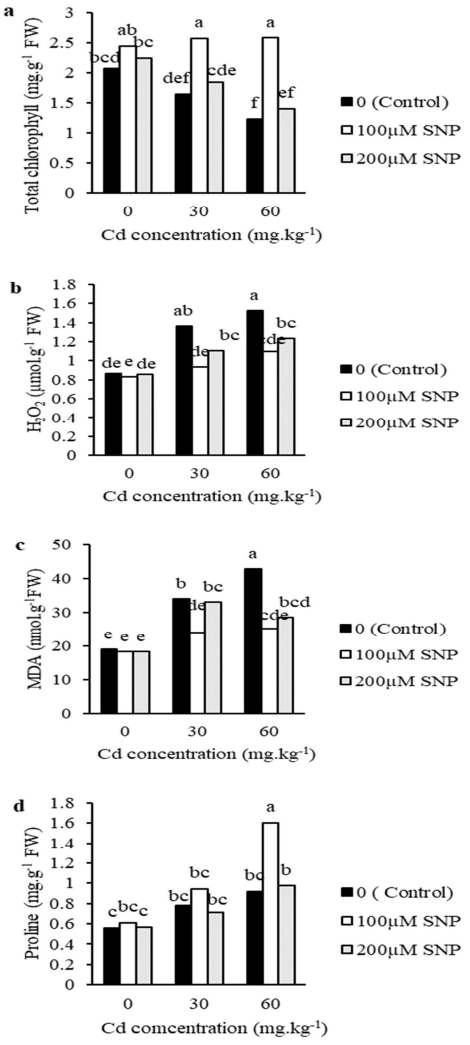
Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

خارجی آزادکننده NO در تنظیم محتوای کادمیم در اندام های مختلف گیاهی تحت شرایط کادمیم موثر است یا نه مورد نیاز است.

مقدارکلروفیل کل

همانطور که در شکل (a-۲) دیده می‌شود، مقدار کلروفیل عموماً با افزایش غلظت کادمیم کاهش یافت و کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP تأثیری بسزایی در افزایش مقدار کلروفیل کل نسبت به ۲۰۰ میکرومولارSNP در شرایط تیمار با غلظت‌های۳۰ و۶۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیم داشت به‌طوری‌که بالاترین مقدار کلروفیل در گیاهان تیمارشده با ۱۰۰ میکرومولار SNP هم در خاک‌های آلوده به کادمیم و هم در خاک‌های بدون کادمیم دیده شد (شکل a-۲). به موجب این غلظت کاربردی، افزایش ۲۰ و ۵۰ درصد به ترتیب در گیاهان تیمار شده در غلظت های ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیم نسبت به عدم مصرف آن دیده شد. همچنین کمترین مقدار کلروفیل در گیاهان تیمار شده با بالاترین غلظت کادمیم به کار رفته و بدون کاربرد SNP دیده شد (شکل a-۲). کاهش کلروفیل در غلظت بالای کادمیم ممکن است به دلیل اکسیداسیون کلروفیل و آسیب به ساختار کلروپلاست باشد. همچنین تجمع فلزات سنگین باعث تغییر سنتز رنگدانه های کلروفیل با تغییر واسطه های بیوسنتتیک کلروفیل و در نتیجه عملکرد مجموعه رنگدانه های پروتئین می‌شود (Chen et al., 2018). قبلا نیز کاهش کلروفیل در سایر گیاهان تیمار شده با کادمیم نیز گزارش شده‌است (Liu et al., 2015; Ahmad et al., 2017; Mahdavi *et al.*, 2018). با این وجود در مطالعه حاضر کاربرد SNP موجب کاهش اثرات نامطلوب کادمیم بر کلروفیل کل شد که با مطالعات انجام شده بر سایرگیاهان همسو است (Dong *et al.*, 2019). تأثیر مثبت NO بر افزایش مقدار کلروفیل ممکن است به دلیل سنتز مجدد کلروفیل‌ها، محافظت از غشای فتوسنتزی، پروتئین Rubisco، سیتوکروم b6 / f و پروتئین D1 و D2 که از تخریب رنگدانه های فتوسنتزی جلوگیری می‌کنند و یا ناشی کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن باشد (Ahmad *et al.*, 2017; Dong *et al.*, 2019; Nahar *et al.*, 2016). بنابراین کاربرد این ماده ممکن است موجب کاهش تأثیر منفی گونه های فعال اکسیژن بر رشد و مقدار کلروفیل شده و نهایتا مقاومت گیاه را به کادمیم افزایش دهد.



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیم و سدیم نیتروپروساید (SNP) بر مقدارکلروفیل‌کل (a)، میزان پراکسیدهیدروژن (b)، اندازه مالون‌دی‌آلدئید (c)، و مقدار پرولین (d) تاج خروس.

Figure 2: Mean comparison interaction effect of cadmium and sodium nitroprusside (SNP) on total chlorophyll (a), hydrogen peroxide (b), malondialdehyde (c), and proline (d) of cock's comb.

مقدار مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن

مقدار مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن به طور معنی‌داری با افزایش مقدار کادمیم افزایش یافت، این درحالی بودکه محلول پاشی SNP درکاهش مقدار مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن درگیاهان رشدکرده

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

درخاک‌های آلوده به کادمیم موثر بود. همان‌طور در شکل های (۲-b,c) دیده می‌شود، بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید در تیمار ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم دیده می‌شود که به طور مشابه بیشترین مقدار پراکسید هیدروژن را نیز به خود اختصاص داد. هر چند که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۶۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیم بر میزان پراکسیدهیدروژن دیده نشد. همچنین کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP به ترتیب موجب کاهش ۲۹ و ۴۱ درصد مالون‌دی‌آلدئید به ترتیب در گیاهان تیمار شده با ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیم نسبت به عدم کاربرد آن گردید. علاوه بر این تیمار مذکور موجب کاهش ۳۱ و ۲۸ درصد پراکسید هیدروژن به ترتیب در گیاهان رشد کرده در ۳۰ و ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیم نسبت به عدم مصرف آن شد (شکل‌های ۲-b,c). کمترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن در گیاهان رشد کرده در خاک های بدون آلودگی چه با کاربرد SNP و چه بدون کاربرد این ماده دیده شد، که نشان می‌دهد در شرایط عدم آلودگی کاربرد غلظت های مختلف SNP تأثیری بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن نداشت (شکل های ۲-b, c). افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در اثر تنش فلزات سنگین تعادل طبیعی سلول را برهم زده و موجب تنش اکسیداتیو شده که با تأثیرگذاری بر تمام مولکول‌های زیستی، موجب اختلال های متعددی مانند اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها، نشت یونی، آسیب به غشا، جهش DNA و مرگ سلول در گیاهان می‌گردد (Sharma *et al.*, 2020). نتایج ما نشان داد افزایش تولید پراکسیدهیدروژن همزمان با افزایش غلظت مالون دآلدئید در گیاهان تحت تنش کادمیم مطابق با سایر یافته‌هاست (Ahmad *et al.*, 2017; Nahar *et al.*, 2016). همچنین پراکسیداسیون لیپیدها یک ویژگی مهم است که به طورگسترده برای اندازه‌گیری میزان تنش اکسیداتیو به کار گرفته می‌شود و عمدتا به دلیل افزایش فعالیت لیپوکسیژناز است که به موجب آن، پراکسیداسیون لیپیدها بیشتر صورت می‌گیرد (Ghosh & Roy, 2019). کاربردSNP در این مطالعه در کاهش تأثیر منفی کادمیم قابل توجه بود و از آسیب به یکپارچگی غشا جلوگیری کرد که این نتایج با مطالعات انجام شده برگیاهان گوجه فرنگی و شبدر سفید مطابقت دارد (Ahmad *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2015). در این مطالعه کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در گیاهان تیمارشده با SNP ممکن است ناشی از تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی است که به سرعت گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسیدهیدروژن را از بین می‌برند.

مقدار پرولین

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم مقدار پرولین عموماً افزایش یافت و کاربرد SNP درغلظت ۱۰۰ میکرو مولار نقش مثبتی در روند افزایش این صفت در بالاترین غلظت کادمیم مصرفی داشت، به‌طوری‌که بیشترین مقدار پرولین (۱،۶ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) را به خود اختصاص داد و به موجب آن، مقدار پرولین ۷۴ درصد افزایش یافت (شکل ۲-d). این درحالی بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین کاربرد غلظت‌های مختلف SNP در غلظت های ۰ و ۳۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیم دیده نشد و کمترین مقدار پرولین در گیاهان رشد کرده در خاک‌های آلوده نشده به کادمیم دیده شد (شکل۲-d). تجمع پرولین در شرایط تنش می‌تواند ناشی از فعالیت آنزیم های سنتز کننده پرولین به همراه کاهش سوخت‌وساز پرولین باشد و یا نقش آن در کلیت کردن فلزات در سیتوپلاسم باشد (Schat *et al.*, 1997). از طرف دیگر پرولین یک تنظیم کننده اسمزی است و عامل حفاظت کننده ساختمان غشا و در جاروب کننده گونه های فعال اکسیژن نقش دارد (Khan *et al*, 2015). تجمع پرولین در شرایط تنش کادمیم توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Ahmad *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2015). افزایش تجمع پرولین با کاربرد SNP در تحقیق حاضر می‌تواند بیانگر نقش محافظتی NO در برابر کادمیم باشد. هر چند که نتایج مربوط به تأثیر NO بر تجمع اسمولیت ها در شرایط تنش کادمیم کافی نیست، اما یافته‌های مشابه‌ای را در گیاهان شبدر سفید و لوبی گزارش کرده اند (Liu *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2016). تجمع پرولین وابسته به فعالیت آنزیم Δ1-پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) است و افزایش تجمع این ماده با کاربرد آزاد کننده NO ممکن است

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

ناشی از افزایش بیان ژن P5CS باشد که می‌تواند بیانگر نقش واسطه ای NO در تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی داخل سلول گیاهان باشد (Verslues & Sharma, 2010). رابطه دقیق کاربرد خارجی NO و تجمع پرولین در این تحقیق هنوز ناشناخته است و نیاز به بررسی دقیق مسیر بیوسنتز پرولین دارد.

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نشان داد که مقدار فعالیت این دو آنزیم به طور چشم‌گیری با افزایش غلظت کادمیم افزایش یافت (جدول ۲). این درحالی بود که کاربرد غلظت های مختلف SNP به همراه سطوح مختلف کادمیم تأثیر معنی داری بر فعالیت این آنزیم‌ها نداشت، اما کاربردSNP به تنهایی موجب افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز گردید. با توجه به جدول۲ بیشترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تیمار ۶۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیم دیده شد، که به ترتیب موجب افزایش ۲/۷ و ۴/۸ برابری فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به شاهد گردید. همچنین تأثیر ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار SNP بر فعالیت آنزیم‌کاتالاز یکسان بود و به موجب آن، این صفت ۱۸ درصد نسبت به عدم کاربرد SNP افزایش یافت. این درحالی بود که تأثیر ۱۰۰ میکرومولار SNP بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتر از ۲۰۰ میکرومولار بود و موجب افزایش ۲۶ درصدی این صفت نسبت به عدم مصرف آن شد (جدول ۲). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش کادمیم ممکن است برای جلوگیری از تنش اکسیداتیو به عنوان یک راهکار دفاعی خود به خودی در گیاهان باشد (Sytar *et al.*, 2013). آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز از تشکیل رادیکال فعال اکسیژن جلوگیری می‌کنند و از مسیرهای مشخصی H_2O_2 را به H_2O و O_2 تبدیل می‌کنند. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز با افزایش غلظت کادمیم در این پژوهش با مطالعات انجام شده درگیاهان پروانش و گوجه فرنگی همسو است (Ahmad *et al.*, 2017; Abnosi *et al.*, 2015). در حالی‌که درگیاه گندمی فعالیت این آنزیم‌ها ابتدا با افزایش غلظت کادمیم افزایش و سپس کاهش یافت (Wang *et al.*, 2012). هر چند که کاربرد سطوح مختلف SNP به همراه غلظت‌های مختلف کادمیم بر فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی گیاهان تاج خروس بی تأثیر بود، ولی کاربرد این ماده به تنهایی فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد این درحالی است که مشارکت NO در تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از تنش کادمیم به طور گسترده توسط بسیاری از مطالعات بیان شده است (Wei *et al.*, 2020). برای مثال کاربرد آزاد کننده NO در شرایط کادمیم موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گوجه فرنگی، شبدرسفید و به طور معکوس موجب کاهش آن‌ها در گیاه لویی شده است و همچنین تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی جو نداشت (Ahmad *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2016; Wei *et al.*, 2020). این یافته ها نشان می‌دهد که SNP به عنوان آزادکننده NO تا حدودی در مقابله با اثر سمی کادمیم درگیاه تاج خروس نقش داشت زیرا با وجود اینکه در تنظیم سیستم‌آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی تحت تنش کادمیم موثر بوده است، اما تأثیر بر سیستم آنزیم آنتی‌اکسیدانی در بهبود تنش کادمیم نداشت.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیم و سدیم نیتروپروساید (SNP) بر وزن خشک شاخساره، مقدار کادمیم شاخساره، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز تاج خروس.

Table 2. Mean comparison interaction effect of cadmium and sodium nitroprusside (SNP) on shoot dry weight, Cd concentration in shoot, catalase and peroxidase activity of cock's comb.

Cd ($mg.kg^{-1}$)	Shoot dry weight (g)	Cd concentration in shoot ($mg.kg^{-1}$)	Catalase (U. mg^{-1} protein)	Peroxidase (U.mg^{-1} protein)
0	1.85a	0.33c	20.17c	11.07c
30	0.37b	10.84b	35.86b	38.45b
60	0.15c	24.04a	55.90a	53.50a
SNP (µM)				
0	0.73b	12.49a	34.4b	30.49b
100	0.89a	11.20a	40.4a	38.45a
200	0.75b	11.51a	40.39a	34.59ab

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

In each column means within a same letter, are not significantly different at probability 5% level.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج به دست آمده در این مطالعه در ارتباط با تجمع کادمیم در ریشه، به نظر می‌رسد گیاه تاج خروس می‌تواند پتانسیل لازم را در استخراج زیستی کادمیم از خاک های آلوده داشته باشد، چرا که مقدار کادمیم ریشه بیش از شاخساره بود و از طرفی این گیاه با افزایش پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند اثرات سمی کادمیم را نیز کاهش دهد. همچنین کاربرد SNP به عنوان آزاد کننده No هر چندکه نقش موثری در پالایش کادمیم شاخساره نداشت، ولی می‌تواند با افزایش زیست‌توده، جذب و تجمع عنصرکادمیم را در ریشه گیاه تاج خروس افزایش داده و در بهبود استخراج کادمیم در خاک های آلوده به کادمیم تا حدودی موثر باشد. همچنین دانستن راه کارهای مولکولی خاص از اینکه چه مقدار، کجا و چه زمانی کادمیم در گیاه تاج خروس تجمع پیدا می‌کند ممکن است برای تحقیقات بعدی مهم و خاص باشد. علاوه بر این، SNP در تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی گیاه تاج خروس مانند پرولین با کاهش گونه های فعال اکسیژن در شرایط تنش کادمیم نقش دارد. این دیدگاه ممکن است برای پرورش سایر محصولاتی که در شرایط مشابه‌ای از نظر حضور کادمیم در خاک کشت می‌گردند، مورد توجه باشد. به طور کلی، تأثیر ۱۰۰ میلی‌مولار SNP نسبت به ۲۰۰ میلی‌مولار SNP بر گیاهان رشدکرده در خاک‌های آلوده به کادمیم بارزتر بود. تاکنون مطالعات اندکی در مورد تأثیر این ماده در انباشت کادمیم انجام شده است، اما اینکه چطور این ماده در این شرایط موثر است هنوز در ابتدای کار است و نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

REFERENCES

1. Abnosi, M., Amirjani, M., Mahdiyeh, M. & Moradipoor, H. (2015). Biochemical and cellular response of Catharanthus roseus callus cells to cadmium toxicity. *Journal of Genetic Resources*, 1(2), 101-114.
2. Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
3. Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., Wijaya, L. & Alam, P. (2017). Exogenous application of nitric oxide modulates osmolyte metabolism, antioxidants, enzymes of ascorbate-glutathione cycle and promotes growth under cadmium stress in tomato. *Environmental Science and Pollution Research,* 255(1), 79-93.
4. Bates, L. S., Waldern, R. P. & Tears, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
5. Beata, J., Ryszard, K. & Michał, M. (2018). Pollution indices as useful tools for the comprehensive evaluation of the degree of soil contamination-A review. *Environmental Geochemistry and Health,* 40 (6), 2395–2420.
6. Bi, D., Yuan, G., Wei. J., Xiao, L., Feng, L, Meng F. & Wang, J. (2019). A soluble humic substance for the simultaneous removal of cadmium and arsenic from contaminated soils. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(24), p.4999.
7. Cay, S. (2016). Enhancement of cadmium uptake by *Amaranthus caudatus*, an ornamental plant, using tea saponin. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(6), p.320.
8. Chen, W., Dong, Y., Hu, G. & Bai, X. (2018). Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity and antioxidative system in perennial ryegrass. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 18(1), 129-143.
9. Cunningham, S. D. & David, W. O. (1996). Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*, 110(3), 715-719.
10. Dong, Y., Chen, W., Bai, X., Liu, F. & Wan, Y. (2019). Effects of exogenous nitric oxide and 24-epibrassinolide on the physiological characteristics of peanut seedlings under cadmium stress. *Pedosphere*, 29(1), 45-59.
11. Emami, A. (1996). *Methods of plant analysis*. Agricultural Research and Education Organization. Soil & Water Research Institute, Agricultural Research and Education Organization, Ministry of Agriculture, Tehran, Iran. Publication No. 982. (In Farsi).
12. Ghosh, R. & Roy, S. (2019). Cadmium toxicity in plants unveiling the physicochemical and molecular aspects. In: Hasanuzzaman *et al* (Ed.), *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants*. (pp. 223-246.) Academic Press.
13. Golchin, A., Mosalla, L. & Khadem Moghdam Igdelou, N. (2019). Investigation of cadmium uptake and transfer ability of three ornamental plants for remediation of cadmium contaminated soils. *Iranian Journal of Soil and Water Research,* 50, 2401-2659. (In Farsi).

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

14. Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 125(1), 189-198.
15. Hojati, M. & Modarres-sanavy, S. A. M. (2017). Cadmium and copper induced changes in growth, oxidative metabolism and terpenoids of *Tanacetum parthenium*. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(13), 12261-12272.
16. Huang, X., Duan, S., Wu, Q., Yu, M. & Shabala, S. (2020). Reducing cadmium accumulation in plants: structure-function relations and tissue-specific. *Planta*, 9 (2), 223.
17. Khan, M. I. R., Nazir, F., Asgher, M., Per, T. S. & Khan, N. A. (2015). Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium-induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. *Journal of Plant Physiology*, 173, 9-18.
18. Leterrier, M., Valderrama, R., Chaki, M. & Airaki, M. (2012). Function of nitric oxide under environmental stress conditions. In: Khan *et al* (Ed), *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. (pp. 99-113.) Springer.
19. Lichtenthaler, H. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol*, 148, 350-382.
20. Lin, Ya-Fen. & Aarts, M. G. M. (2012). The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences,* 69(19), 3187-3206.
21. Lindsay, W. L. & Norvell, W. A.(1978). Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*. 42(3), 421-428.
22. Liu, J., Mo, L., Zhang, X., Yao, S. & Wang, Y. (2018). Simultaneous hyperaccumulation of cadmium and manganese in *Celosia argentea* Linn. *International Journal of Phytoremediation*, 20(11), 1106-1112.
23. Liu, S., Yang, R., Pan, Y., Ma, M., Pan, J., Zhao, Y. & Zhang, L. (2015). Nitric oxide contributes to minerals absorption, proton pumps and hormone equilibrium under cadmium excess in *Trifolium repens* L. plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 119, 35-46.
24. Lombardo, M. C., Graziano, M., Polacco, J. C. & Lamattina, L. (2006). Nitric oxide functions as a positive regulator of root hair development. *Plant Signaling and Behavior,* 1(1), 28-33.
25. Mahdavi, M., Esmaielpour, B. & Fatemi, H. (2018). Effect of Silicon nutrition on growth and physiology of spearmint (*Mentha spicata* L.) under cadmium stress condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49, 183-196. (In Farsi).
26. Abnosi, M., Amirjani, M., Mahdiyeh, M. & Moradipoor, H. (2015). Biochemical and cellular response of *Catharanthus roseus* callus cells to cadmium toxicity. *Journal of Genetic Resources*, 1(2), 101-114.
27. Nakbanpote, W., Meesungnoen, O. & Prasad, M. N. (2016). Potential of ornamental plants for phytoremediation of heavy metals and income generation. In: M. N.V. Prasad (Ed), *Bioremediation and Bioeconomy*. (pp. 179-217.) Elsevier.
28. Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., Rahman, A., Suzuki, T. & Fujita, M. (2016). Polyamine and nitric oxide crosstalk: Antagonistic effects on cadmium toxicity in mung bean plants through upregulating the metal detoxification, antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126, 245-255.
29. Plewa, M. J., Smith, S. R. & Wagner, E. D. (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*, 247(1), 57-64.
30. Schat, H., Sharma, S. S., & Vooijs, R. (1997). Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 101(3), 477-482.
31. Shanying, H. E., Xiaoe, Y., He, Z. & Baligar, V. C. (2017). Morphological and physiological responses of plants to cadmium toxicity: a review. *Pedosphere: An International Journal*, 27(3), 421-438.
32. Sharma, A., Soares, C., Sousa, B., Martins, M. & Kumar, V. (2020). Nitric oxide-mediated regulation of oxidative stress in plants under metal stress : a review on molecular and biochemical aspect. *Physiologia Plantarum,* 168, 318-344.
33. Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzałka, K. & Prasad, M. N. V. (2013). Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(4), 985-999.
34. Valizadeh ghale beig, A., Nemati, S. H., Emami, H. & Aroie, H. (2021). The effect of glayol biochar on some of morphological traits and heavy metals uptake in lettuce (*Lactuca sativa* L. cv Syaho). *Iranian Journal of Horticultural Science,* 51, 773-784. (In Farsi).
35. Velikova, V., Yordanov, I. & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of endogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66.
36. Verbruggen, N., Juraniec, M., Baliardini, C. & Meyer, C. L. (2013). Tolerance to cadmium in plants: The special case of hyperaccumulators. *BioMetals*, 26(4), 633-638.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

37. Verslues, P. E. & Sharma, S. (2010). Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, *8*.
38. Wang, Y., Yan, A., Dai, J., Wang, N. & Wu, D. (2012). Accumulation and tolerance characteristics of cadmium in *Chlorophytum comosum*: a popular ornamental plant and potential Cd hyperaccumulator. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184(2), 929-937.
39. Wang, Q., Liang, X., Dong, Y., Fan, Z. & Fan, J. H. Á. Z. (2013). Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity, element contents and antioxidative system in perennial ryegrass. *Plant Growth Regulation*, 69(1), 11-20.
40. Wang, Y., Dong, Y. Wang, J. & Cui, X. (2016). Alleviating effects of exogenous NO on tomato seedlings under combined Cu and Cd stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(5), 4826-4836.
41. Wei, J., Lai, H. & Chen, Z. (2012). Chelator effects on bioconcentration and translocation of cadmium by hyperaccumulators, *Tagetes patula* and *Impatiens walleriana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, 173-178.
42. Wei, L., Zhang, J., Wang, C. & Liao, W. (2020). Recent progress in the knowledge on the alleviating effect of nitric oxide on heavy metal stress in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 147, 161-171.
43. Xiong, J., An, L., Lu, H. & Zhu, C. (2009). Exogenous nitric oxide enhances cadmium tolerance of rice by increasing pectin and hemicellulose contents in root cell wall. *Planta*, 230(4), 755–765.
44. Zhao, H., Jin, Q., Wang, Y. & Chu, L. (2016). Effects of nitric oxide on alleviating cadmium stress in *Typha angustifolia*. *Plant Growth Regulation*, 78(2), 243-251.

Archive of SID.ir