Archive of SID

نشریه زراعت و فناوری زعفران
جلد ۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴ ص. ۹۶-۸۳

Saffron Agronomy & Technology
Vol. 3, No. 2, Summer 2015, P. 83-96

بررسی اثر فلزات سنگین مختلف بر صفات فیزیولوژیک گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.)

مجید رستمی[۱*]، رویا کرمیان[۲]، زهرا جولایی[۳]

تاریخ دریافت: ۲۶ دی ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: ۲۰ خرداد ۱۳۹۴

چکیده

افزایش غلظت فلزات سنگین نظیر سرب، مس، نیکل و سایر فلزات سنگین در آب، خاک و هوا می‌تواند به دلیل تأثیر منفی بر کل بوم نظام باعث اثرات زیانباری برای سلامت همه موجودات زنده گردد. مهم‌ترین منبع این آلودگی‌ها در بیشتر قسمت‌های دنیا معادن، پساب‌های صنعتی، کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها می‌باشند. به‌منظور بررسی اثر فلزات سنگین مختلف بر روی تعدادی از ویژگی‌های فیزیولوژیک زعفران همچون میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، پرولین، کروسین و کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد فلزات سنگین به‌صورت نمک‌های نیترات نقره، سولفات منگنز، نیترات نیکل، نیترات روی، کربنات مس، نیترات سرب و شاهد بودند. قبل از کاشت هر یک از فلزات موردنظر با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم استفاده شد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و همچنین نسبت کلروفیل a به b معنی‌دار بود ولی اثر این تیمارها بر میزان کاروتنوئیدهای برگ زعفران معنی‌دار نبود. میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول برگ به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت ولی اثر تیمارها بر میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده معنی‌دار نبود. تیمارهای آزمایشی همچنین تأثیر معنی‌داری بر میزان کروسین موجود در کلاله زعفران داشتند و در همه تیمارها به‌غیر از نیترات نیکل میزان کروسین کلاله از تیمار شاهد بیشتر بود.

کلمات کلیدی: پرولین، تنش‌های محیطی، کربوهیدرات‌ها، متابولیت‌های ثانویه.

مقدمه

زعفران[۴] (*Crocus sativus* L.) گیاهی علفی و از تیره زنبق[۵] می‌باشد که جزء قدیمی‌ترین گیاهان ادویه‌ای و دارویی بشمار می‌رود (Alizadeh et al., 2009). بیش از ۹۰ درصد زعفران جهان در ایران تولید می‌شود. این گیاه در یونان، ایتالیا، اسپانیا، هند، مراکش و آذربایجان نیز کشت می‌شود. این محصول در مناطقی از ایران که زمستان‌های سرد و تابستان‌های گرم دارند، رشد می‌کند (Koocheki et al., 2006). زعفران به‌عنوان یکی از کارآمدترین گیاهان زراعی از لحاظ مصرف آب در جهان شناخته شده است و از نظر عناصر غذایی، گیاهی کم‌توقع می‌باشد (Kafi et al., 2006).

عوامل متعددی می‌توانند صفات فیزیولوژیک و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار دهند که ازجمله آن‌ها می‌توان به حضور

۱ – استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ملایر.
۲ – استاد گروه زیست شناسی، دانشگاه بوعلی سینا همدان.
۳ – دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه ملایر.
(*– نویسنده مسئول: majidrostami7@yahoo.com)

4- Saffron
5- Iridaceae

www.SID.ir

Archive of SID

فلزات سنگین[1] در خاک مزرعه اشاره کرد. فلزات سنگین از آلاینده‌های زیست‌محیطی هستند که به مقدار کم در طبیعت وجود دارند و در غلظت‌های بالا برای انسان و سایر موجودات زنده سمی می‌باشند. این فلزات ماندگاری بالایی در خاک دارند (Gallego et al., 1996). فلزات سنگین ضروری و غیرضروری، هردو، در سطح بالای سمیت می‌توانند باعث آسیب رساندن به غشا سلولی، تغییر ویژگی آنزیم، مختل کردن وظایف سلول و آسیب رساندن به ساختمان DNA شوند (Bruins et al., 2000). از معروف‌ترین فلزات سنگین می‌توان به: کادمیوم، کروم، کبالت، مس، آهن، جیوه، منگنز، مولیبدن، نیکل، سرب، تیتانیوم، روی و نقره اشاره کرد.

حضور فلزات سنگین در منطقه ریزوسفر و ورود آن‌ها به گیاه باعث کاهش رشد شده و متابولیسم سلولی را بر هم می‌زند. بنابراین بر فرایندهای مهمی مانند انتقال آب، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، فتوسنتز و مقدار کلروفیل اثر منفی می گذارد (Vitoria et al., 2005). اثرات مستقیم فلزات سنگین بر واکنش‌های نوری فتوسنتز شامل تأثیر بر احیا NADP و فسفریلاسیون نوری و اثرات غیرمستقیم آن بر فرآیند سنتز و تجزیه کلروفیل، تغییر در نسبت کلروفیل a به b و رقابت با سایر فلزات ضروری می‌باشد (Aggarwal et al., 2011). یافته‌های برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فلزات سنگین می‌توانند در غلظت‌های پائین سبب افزایش میزان کلروفیل a و b (John et al., 2008; Ghorbanli & Kiapour, 2012) و در غلظت-های بالا موجب کاهش این رنگدانه‌ها شوند (John et al., 2009).

در تنش‌های گوناگون، تجمع پرولین در گیاه پاسخی در برابر القا تنش می‌باشد و تولید بالای این اسیدآمینه می‌تواند سبب تحمل گیاه در مقابل تنش شود (Theriappan et al., 2011). این اسیدآمینه به‌عنوان یک ماده اسمزی، برای خنثی کردن اثر تنش (از جمله تنش فلزات سنگین) در گیاه تجمع می‌یابد. به این صورت که گیاه آب درون بافتی خود را در سطح بالایی نگه می-دارد و می‌تواند اعمال حیاتی خود را انجام دهد. بدین منظور و با سنتز و انباشت ترکیبات آلی مانند انواع کربوهیدرات‌های محلول (گلوکز، فروکتوز) برخی از اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین آزاد و پتاسیم غلظت سیتوپلاسم را بالا می‌برد و از طرف دیگر، یون‌های مسموم‌کننده جذب شده از محیط را در واکوئل‌ها ذخیره کرده و محیط سیتوپلاسم را برای انجام فعالیت‌های زیستی از راه تنظیم اسمز درون‌سلولی آماده می‌سازد. علاوه، پرولین سه نقش مهم را به‌عنوان کلاته کننده فلز، مولکول دفاعی آنتی‌اکسیداتیو و مولکول پیام‌رسان در طول تنش ایفا می‌کند (Hayat et al., 2012). افزایش میزان پرولین در تنش فلزات مختلف و در گیاهان گوناگون گزارش شده است اما نتایج برخی تحقیقات کاهش میزان آن را در مراحل مختلف رشد گیاه و غلظت‌های متفاوت از فلز موردنظر نشان داده‌اند (Azmat & Khan, 2011).

افزایش میزان کربوهیدرات در گیاه نشان‌دهنده کاهش میزان آب در سلول‌ها می‌باشد و کاهش میزان آب نیز عامل مهمی در کاهش رشد گیاه بشمار می‌رود (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2011). بسیاری از فلزات سنگین فعالیت پروتئین‌های کانالی آب را در گیاهان تغییر می‌دهند، روزنه‌های برگ را می‌بندند و درنتیجه جریان آب در گیاه را متوقف می-سازند. در شرایط تنش، افزایش کربوهیدرات‌های محلول به حفظ متابولیسم پایه مطلوب کمک می‌کند (Verma & Dubey, 2001). نتایج مربوط به تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که میزان کربوهیدرات محلول و نامحلول در گیاهان رشد یافته تحت تنش فلزات سنگین، با توجه به غلظت بکار رفته از فلزات در آزمایش، می‌تواند افزایش یا کاهش یابد (Gubrelay et al.,

1- Heavy Metals

www.SID.ir

Archive of SID

2013; John et al., 2008). در گیاهان عالی، تنش‌های زیستی و غیر زیستی (مانند تنش فلزات سنگین) سبب سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه مشابهی می‌شوند که در گیاه نقش دفاعی دارند. گیاهان در طول تکامل برای سازگاری با محیط زیست خود متابولیت‌های ثانویه را تولید کرده‌اند، زیرا آن‌ها باید خود را با تغییرات محیط وفق داده و در محیط زیستی که دستخوش تغییر شده است، مخصوصاً در تنش‌های محیطی، توانایی بقا را که یک وظیفه اکولوژیکی ضروری برای آن‌ها بشمار می‌آید، افزایش دهند (Xiong et al., 2013). تنش‌های زیستی و غیر زیستی مکانیسم‌های دفاعی گیاه را کاهش می‌دهند و پردازش بسیاری از کمپلکس‌های بیوشیمیایی را تحریک می‌کنند (Holopainen & Gershenzon, 2010). دفاع شیمیایی در گیاهان شامل بکار گرفتن متابولیت‌های ثانویه گوناگون می‌شود. ترکیباتی نظیر فیتوالکسین‌ها، مخدرها و فلاون‌ها از این دسته‌اند که برای دفاع در برابر گیاهخواران و پاتوژن‌ها بکار می‌روند (Marrs, 2011). تنش فلزات سنگین نیز با توجه به نوع فلز، غلظت فلز در محیط رشد گیاه و زمان اعمال تنش، سبب افزایش (Izbianska et al., 2014; Najafi & Jamei, 2014) و یا کاهش (Hawrylak et al., 2007) سنتز متابولیت‌های ثانویه مختلف در گیاهان می‌شود. ازآنجاکه مطالعات اندکی درزمینه امکان کاشت و تولید زعفران در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین وجود دارد این آزمایش با هدف بررسی تغییرات فیزیولوژیک این گیاه در شرایطی که غلظت فلزات سنگین در محیط رشد ریشه زیاد است انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ملایر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل شاهد و کاربرد ۶ فلز سنگین نیترات نقره ($AgNO_3$)، نیترات نیکل ($Ni(NO_3)_2$)، نیترات روی ($Zn(NO_3)_2$)، نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$)، کربنات مس ($CuCO_3$) و سولفات منگنز ($MnSO_4$) به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (خاک) بودند و فلزات سنگین مختلف یک هفته قبل از کاشت به خاک افزوده شد. خلاصه مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. در هر گلدان بزرگ با قطر دهانه ۴۰ سانتی‌متر تعداد ۱۰ عدد بنه درشت با میانگین وزن ۹ گرم، پس از ضدعفونی کردن با قارچ‌کش کاشته شد. وزن خاک مورد استفاده در هر گلدان ۱۸ کیلوگرم بود و بر همین مبنا نیز میزان آب موردنیاز برای رسیدن به ظرفیت زراعی محاسبه شد. اولین آبیاری در هفته اول مهرماه انجام شد و پس از آن نیز آبیاری‌های بعدی به‌صورت هفتگی و به‌منظور رسیدن به ظرفیت زراعی انجام شد. به‌منظور جلوگیری از شسته شدن فلزات سنگین و کاهش غلظت آن‌ها در محیط رشد ریشه در زیر هر گلدان یک عدد زیرگلدانی قرار گرفت و در صورت خروج زه‌آب با فاصله زمانی دو ساعت مجدداً محتوی زیرگلدانی‌ها به هر گلدان اضافه شد. در طول فصل رشد نیز صفات فیزیولوژیک مختلف مورد سنجش قرار گرفتند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از روش لیختن تالر (Lichtenthaler, 1987) انجام شد. طول موج‌های بکار گرفته شده برای سنجش رنگیزه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JENUS UV-1200) عبارت‌اند از:

۶۶۳/۲ نانومتر برای سنجش کلروفیل a

۶۴۶/۸ نانومتر برای سنجش کلروفیل b

۴۷۰ نانومتر برای سنجش کاروتنوئید و گزانتوفیل

غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره گیاهی و با روابط زیر محاسبه گردید:

$$Chl.a = (12.25A663.2 - 2.79A616.8)$$

$$Chl.b = 21.21A646.8 - 5.1A663.2)$$

$$Chl.T\ (a+b) = 7.15A663.2 + 18.71A646.8$$

$$Car = \frac{(1000A470 - 1.8\ Chl.a - 85.02\ Chl.b)}{198}$$

A = طول موج جذب به‌دست‌آمده از اسپکتروفتومتر، Chl = کلروفیل، Car = کاروتنوئید

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- بعضی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1- Some of physicochemical properties of soil

بافت خاک	روی	آهن	منگنز	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	ماده آلی	شاخص واکنش	هدایت الکتریکی
	Zn	Fe	Mn	K	P	N	OC	pH	EC
Soil texture	mg.kg^{-1}					٪			(dS.m^{-1})
لومی سیلتی Silt loam	1.2	3.8	9.4	217	5.3	0.14	0.68	7.8	1.4

سنجش پرولین به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) انجام شد. جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل JENUS UV-1200 در طول موج ۵۲۰ نانومتر از نمونه‌ها گرفته شد. مقدار میکرومول پرولین در گرم وزن تر نمونه با رابطه زیر محاسبه شد:

$$proline\ \mu mol/g = \frac{\left(prolin\ \frac{\mu g}{ml} \times Toluene\ ml\right)}{\frac{115.5}{0.5\ g\ sample}}$$

برای سنجش میزان کروسین توسط دستگاه HPLC از روش عبدالیو و همکاران (Abdullaev et al., 2002) استفاده گردید. بر اساس اعداد به‌دست‌آمده از نمودارهای حاصل از HPLC، مقدار نهایی کروسین بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک کلاله محاسبه شد.

برای استخراج کربوهیدرات‌های محلول از روش عصاره-گیری الکلی استفاده شد و از عصاره حاصل جهت سنجش کربوهیدرات‌های احیاکننده و محلول استفاده شد (Patumi et al., 1990). روش بکار رفته برای سنجش کربوهیدرات‌های احیاکننده، روش نلسون (Nelson, 1944) بود. جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و در نهایت مقدار کربوهیدرات‌های احیاکننده براساس منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید. آنالیز داده‌ها نیز توسط نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تأثیر فلزات سنگین بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کلروفیل a در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. میزان کلروفیل a در تمام تیمارها بیشتر از شاهد بود و به غیر از تیمار نیترات نقره، سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان دادند. بیشترین میزان کلروفیل a نیز در تیمار کاربرد سولفات منگنز مشاهده شد (شکل ۱). اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کلروفیل b نیز در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. هرچند میزان کلروفیل b در همه تیمارها بیشتر از شاهد بود ولی فقط تیمار سولفات منگنز، اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. پس از تیمار شاهد کمترین میزان کلروفیل b در تیمار کاربرد نیترات نقره مشاهده شد (شکل ۲). نتایج آزمایش نشان داد که اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کلروفیل کل در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد، کربنات مس، نیترات نیکل و نیترات نقره دیده نشد. بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به سولفات منگنز بوده و کمترین میزان آن در شاهد مشاهده شد (شکل ۳). اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر میزان کاروتنوئید برگ زعفران در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود. بااین‌حال بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار شاهد و کمترین میزان آن در تیمار کاربرد سولفات منگنز مشاهده شد. این نتایج کاملاً بر عکس نتایج مربوط به کلروفیل کل بود. از بین تیمارهای آزمایشی مختلف فقط کاربرد سولفات منگنز تأثیر معنی‌داری (در مقایسه با تیمار شاهد) بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b داشت و کمترین

www.SID.ir

Archive of SID

میزان این نسبت در این تیمار مشاهده شد (شکل ۴).

در برخی از مطالعات مختلف کاهش در میزان کلروفیل a و b تحت تنش فلزات سنگین گزارش‌شده است. برای مثال، کادمیم کلروفیل‌ها و دیگر رنگیزه‌های فتوسنتزی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) را کاهش داده و این امر سبب کاهش فتوسنتز و رشد شده و علایم کمبود را به‌صورت کلروز در برگ‌های گیاه ظاهر می‌کند (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2011). گزارش‌شده که رشد گیاه تربچه (*Raphanus sativus*) درخاک‌هایی که دارای غلظت بالایی از فلزات کادمیم و روی هستند باعث کاهش محتوای کلروفیل برگ شد (Alipour et al., 2009). از طرف دیگر کمبود فلز روی سبب آسیب به کلروفیل می‌شود. روی جزء اصلی آنزیم‌های متعددی در گیاه است (Seregin & Kozhevnikova, 2006) و بنابراین افزایش و کاهش مقدار این فلز (نسبت به حد طبیعی مورد نیاز برای گیاه) بر فتوسنتز تأثیرگذار است.

فلز مس در تعدادی از واکنش‌های زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی و تنفس موردنیاز بوده و افزایش غلظت آن سبب کاهش مقدار کلروفیل a و b در گیاه آتریپلکس (*Atriplex halimus*) می‌شود (Brahim & Mohamed, 2011). در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) نیز با افزایش غلظت سولفات مس (صفر تا ۱۵۰۰ میکرومول) میزان کلروفیل‌های a و b کاهش نشان داد (Ghorbanli & Kiapour, 2012).

نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش حاضر نشان دهنده افزایش محتوای کلروفیل (a، b و کل) برگ زعفران نسبت به شاهد در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از نیترات روی و کربنات مس می‌باشد. کاهش نیافتن محتوای کلروفیل برگ زعفران را می‌توان به مکانیسم‌های دفاعی مختلف که در مقابل تنش فلزات توسط گیاه بکار گرفته می‌شود، نسبت داد. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که برای خنثی‌سازی سمیت یون روی (Zn^{+}) و مس (Cu^{2+}) این یون‌ها سنتز متالوتیونین‌ها[1] و فیتوکلاتین‌ها[2] را در سلول‌های گیاهی القا می‌کنند (Hall, 2002). همچنین، روی به همراه برخی یون‌های فلزی دیگر می‌توانند در واکوئل تجمع داده شوند (Seregin & Kozhevnikova, 2006).

غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات نیکل، نیز موجب افزایش کلروفیل‌های برگ زعفران شد. این فلز در غلظت‌های بالا میزان کلروفیل تربچه (*Raphanus sativus*) را کاهش می‌دهد (Alipour et al., 2009). نیکل بر واکنش‌های نوری فتوسنتز اثر می‌گذارد (Seregin & Kozhevnikova, 2006). فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهان گوناگون در غلظت‌های مختلف نیکل افزایش یا کاهش نشان می‌دهند. برای مثال غلظت ۰/۵ میلی‌مولار از فلز نیکل فعالیت برخی آنزیم‌های برنج (*Oryza sativa*) را افزایش می‌دهد (Ros et al., 1990)؛ بنابراین میزان فتوسنتز در گیاهان مختلف که تحت تنش نیکل رشد یافته‌اند، با توجه به غلظت این فلز می‌تواند افزایش یا کاهش یابد.

یون نقره در گیاه با مس و سلنیوم برهمکنش متابولیکی داشته و سبب آزاد شدن H_2 از گروه‌های سولفیدریل آنزیم‌های فتوسنتزی می‌شود و به این وسیله ساختمان آن‌ها را تغییر داده و این آنزیم‌ها را غیرفعال می‌کند (Salisbury & Ross, 1991). از طرف دیگر، نتایج برخی از آزمایش‌ها اثر افزایشی نقره بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی را نشان می‌دهد. برای مثال، نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۵۰ میزان کلروفیل a و b را در برگ‌های ماش سبز (*Vigna radiata*) به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش می‌دهند (Najafi & Jamei 2014). در آزمایش حاضر نیز نیترات نقره میزان کلروفیل a، b و کل را نسبت به شاهد افزایش داد. آزمایش بر روی توتون (*Nicotiana tabacum*) و پنبه (*Gossypium hirsutum*) نشان داد که اثر سمیت نقره بر رشد و فیزیولوژی این دو گیاه شدیداً به شکل

1- metallothioneins
2- phytochelatins

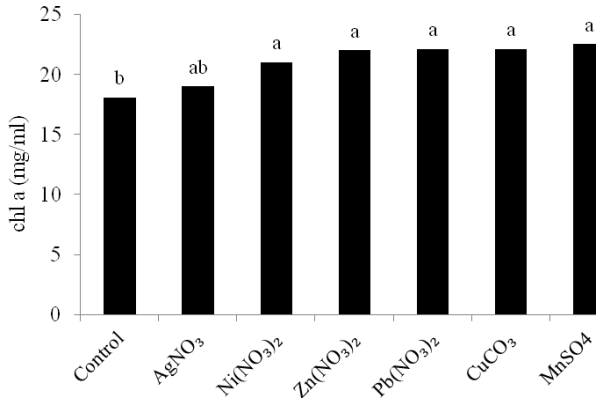
www.SID.ir

Archive of SID

شیمیایی و غلظت نقره وابسته است (Ouzounidou & Constantinidou, 1999).

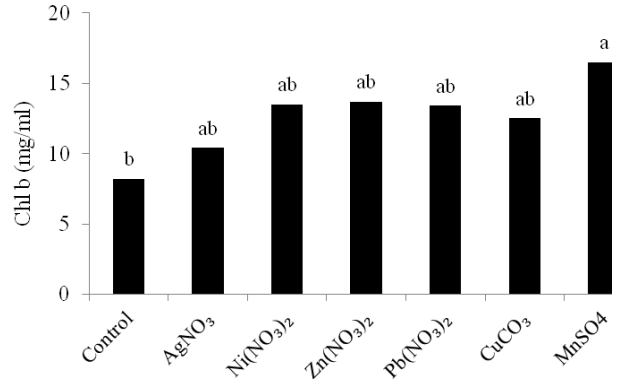
سرب از آپوپلاست به سلول گیاهی جذب می‌شود و می‌تواند در واکوئل تجمع یافته و یا بر واکنش‌های نوری فتوسنتز تأثیر گذارد (Seregin & Kozhevnikova, 2006). کاربرد نیترات سرب با غلظت ۱۲۰ ppm باعث شد که میزان کلروفیل b در برگ‌های ماش سبز (*Vigna radiata*) نسبت به شاهد افزایش یابد (Najafi & Jamei, 2014). نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد که نیترات سرب سبب افزایش میزان کلروفیل (a، b و کل) در برگ زعفران می‌شود.

فلزات سنگین می‌توانند در غلظت‌های پائین سبب افزایش میزان کلروفیل و در غلظت‌های بالا موجب کاهش آن شوند. گزارش شده که مقدار کلروفیل عدسک (*Lemna polyrrhiza* L.) در غلظت‌های اندک کادمیم و سرب (۱ppm) افزایش می‌یابد؛ اما با افزایش غلظت کادمیم و سرب و همچنین افزایش زمان قرار گرفتن در شرایط تنش میزان هر سه کلروفیل (a و b و کل) در عدسک کاهش می‌یابد (John et al., 2008). در خردل هندی (*Brassica juncea* L.) غلظت‌های صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار سرب و غلظت‌های صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ میکرومولار کادمیم، طی مدت ۴۰ روز تیمار، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل و نیز میزان کاروتنوئیدها در مرحله گلدهی را افزایش داد اما با تداوم شرایط تنش و گذشت زمان، میزان این رنگدانه‌ها کاهش یافت (John et al., 2009).



شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل a برگ زعفران

Figure 1- The effect of different treatments on Chlorophyll a content.

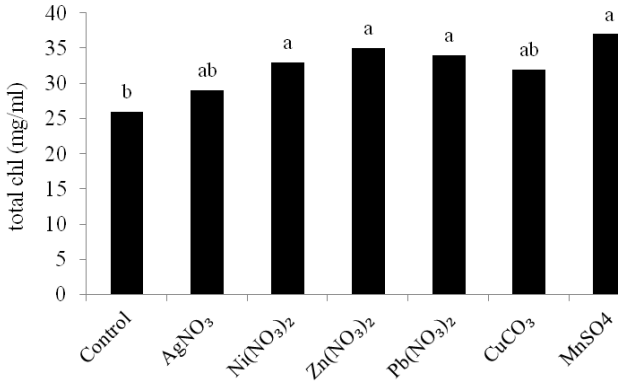


شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل b برگ زعفران

Figure 2- The effect of different treatments on Chlorophyll b content.

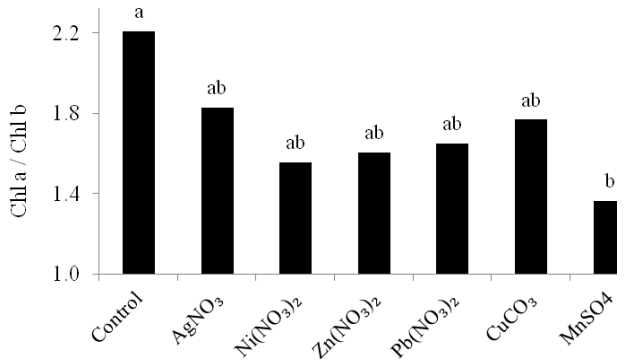
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کل کلروفیل برگ زعفران

Figure 3- The effect of different treatments on total chlorophyll content of saffron leaf.



شکل ٤- اثر تیمارهای مختلف بر نسبت بین کلروفیل a و b در برگ زعفران

Figure 4- The effect of different treatments on chlorophyll a/ chlorophyll b of saffron leaf.

غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از فلزات به‌کار رفته در آزمایش حاضر، نسبت کلروفیل a به b را در مقایسه با شاهد کاهش داد. در گیاه چمن‌شور (*Aeluropus littoralis*) نیز غلظت ۱۰۰ میکرومولار سرب سبب کاهش نسبت کلروفیل a به b شد (Rastgoo & Alemzadeh, 2011). این نسبت در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر نیترات نقره در عدسک آبی *Spirodela polyrhiza* تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نمی‌دهد اما با افزایش غلظت از ۱ تا ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (Jiang et al., 2012). میزان کاروتنوئید در گیاهان مختلف با بالا رفتن غلظت فلز می‌تواند افزایش یا کاهش نشان دهد. در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) با افزایش غلظت سولفات مس (تا ۱۵۰۰ میکرومول) میزان کاروتنوئیدها روند افزایشی نشان داد (Ghorbanli & Kiapour, 2012).

غلظت‌های صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار سرب و صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ میکرومولار کادمیم، طی مدت ۴۰ روز تیمار، میزان کاروتنوئیدهای خردل هندی (*Brassica juncea* L.) را در مرحله گلدهی افزایش داده و با گذشت ۲۰ روز دیگر از اعمال تیمار و همچنین غلظت‌های ۹۰۰، ۱۲۰۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار سرب و غلظت‌های ۶۰۰، ۷۵۰ و ۹۰۰ میکرومولار کادمیم، طی ۶۰ روز تیمار، کاروتنوئیدها کاهش نشان می‌دهند (John et al., 2009). غلظت ۰/۵ گرم در کیلوگرم از فلزات بکار رفته در آزمایش حاضر نیز محتوای کاروتنوئید برگ زعفران را کاهش داد.

www.SID.ir

Archive of SID

تأثیر فلزات سنگین بر میزان پرولین

واکنش پرولین برگ زعفران به فلزات سنگین مختلف، متفاوت بود. به‌طوری‌که در غلظتی ثابت از فلزات، در برخی تیمارها افزایش و در برخی کاهش میزان این اسیدآمینه دیده شد. تنها تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد، میان میزان پرولین تیمارهای نیترات نقره و شاهد بود. به غیر از نیترات روی و نیترات نیکل، سایر تیمارها نیز میزان پرولین بیشتری نسبت به شاهد داشتند اما تفاوت آن‌ها با شاهد معنی‌دار نبود. کمترین میزان پرولین مربوط به نیترات نیکل و بیشترین میزان آن مربوط به نیترات نقره بود (شکل ۵).

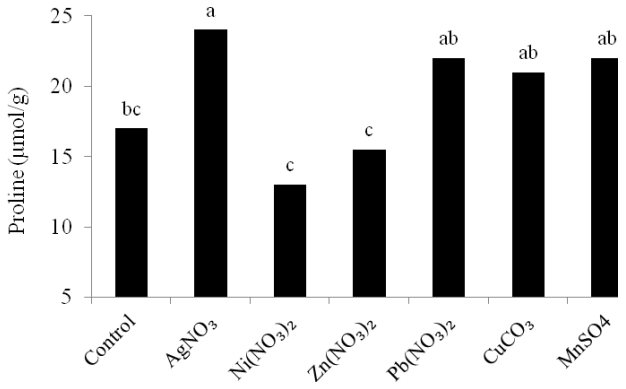
در گونه‌های گیاهی مختلف که تحت تنش فلزات سنگین قرار گرفته‌اند، تجمع اسیدآمینه پرولین مشاهده می‌شود (Shah & Dubey, 1998). برای مثال، کادمیم سبب افزایش میزان پرولین در نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.)، (Al-Hakimi, 2007) جیوه، سرب و کادمیم سبب افزایش محتوای پرولین برگ لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)، (Zengin & Munzuroglu, 2005) و کبالت و کادمیم سبب افزایش تجمع این اسیدآمینه در برگ‌های کلم (*Brassica oleracea* L.)، (Pandey & Sharma, 2002) می‌شوند. همچنین غلظت‌های ۳، ۵ و ۷ میکرومول بر لیتر نیترات سرب موجب افزایش میزان پرولین چغندرقند می‌شود (Naderi et al., 2013). با افزایش غلظت نیترات نقره از صفر به ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز میزان پرولین در عدسک آبی (*Spirodela polyrhiza*) افزایش یافت (Jiang et al., 2012). نتایج ذکرشده با یافته‌های این تحقیق در ارتباط با افزایش پرولین برگ زعفران در تیمار نیترات سرب و نیترات نقره مطابقت دارند.

برخی پژوهش‌های انجام‌شده در مورد تجمع پرولین در تنش فلزات سنگین نشان داده‌اند که میزان این اسیدآمینه در شرایط تنش، به غلظت فلز و مرحله رشد گیاه بستگی دارد و میزان پرولین با توجه به این دو عامل می‌تواند افزایش یا کاهش یابد. به‌عنوان مثال، در مرحله گلدهی خردل هندی (*Brassica juncea* L.) با افزایش غلظت کادمیم (تا ۴۵۰ میکرومولار) میزان پرولین نیز افزایش می‌یابد اما در غلظت‌های ۷۵۰ و ۹۰۰ میکرومولار کادمیم، میزان این اسیدآمینه کاهش پیدا می‌کند (John et al., 2009).

میزان پرولین تحت تنش فلزات سنگین به نوع گیاه نیز بستگی دارد گزارش شده که فلز مس تا حد ۰/۳ میکرومولار میزان پرولین برگ لوبیا را افزایش می‌دهد (Zengin & Munzuroglu, 2005) اما میزان پرولین در گیاه ماش سبز (*Vigna radiata*) با افزایش غلظت سولفات مس تا ۲۵ ppm، کاهش می‌یابد (Azmat & Khan, 2011). کاهش میزان پرولین در ریشه و اندام‌هوایی در گیاهانی که با مس تیمار شده‌اند احتمالاً نتیجه کاهش بیوسنتز یا تسریع فعالیت پروتئاز یا فرآیندهای کاتابولیکی می‌باشد (Zengin & Munzuroglu, 2005). در آزمایش حاضر، کربنات مس محتوای پرولین برگ زعفران را افزایش داد. نتایج پژوهشگران دیگر نشان داده که فلز روی و نیکل موجب افزایش پرولین در گیاهچه و برگ‌های گل‌کلم می‌شود (Theriappan et al., 2011; Pandey & Sharma, 2002)، اما نتایج آزمایش حاضر نشان داد که نیترات نیکل و نیترات روی پرولین برگ زعفران را کاهش می‌دهند. با توجه به اینکه یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین، انباشته کردن این فلزات در واکوئل‌ها به‌منظور کاهش سمیت فلزات در سلول می‌باشد، می‌توان کاهش میزان پرولین برگ زعفران در تیمارهای نیترات نیکل و نیترات روی را به این موضوع نسبت داد. از طرف دیگر، همان‌طور که در نتایج سایر تحقیقات اشاره شده است، میزان پرولین گیاهان مختلف که تحت تنش فلزات یکسان قرار گرفته‌اند، با توجه به نوع گیاه می‌تواند افزایش یا کاهش نشان دهد. مرحله رشد گیاه و غلظت فلز بکار گرفته شده در آزمایش نیز بر میزان پرولین تأثیرگذار است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵- اثر تیمارهای مختلف بر میزان پرولین در برگ زعفران
Figure 5- The effect of different treatments on proline content in saffron leaf.

تأثیر فلزات سنگین بر میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده و محلول

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کربوهیدرات‌های احیاء کننده معنی‌دار نبود بااین‌حال بیشترین میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار سولفات منگنز مشاهده شد ($P\leq0.05$).

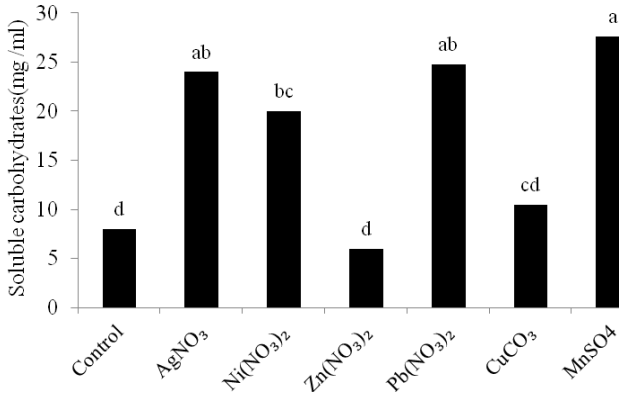
تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر میزان کربوهیدرات-های محلول داشتند. بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در تیمار سولفات منگنز و کمترین میزان آن در نیترات روی دیده شد. تفاوت میان تیمارهای نیترات نقره، نیترات نیکل، نیترات سرب و سولفات منگنز با شاهد معنی‌دار شد (شکل ۶).

بسیاری از شرایط تنش‌زای محیطی بر متابولیسم کربوهیدرات‌های گیاهان در حال رشد اثر می‌گذارند. علاوه بر تنش فلزات سنگین، افزایش مقدار کربوهیدرات‌های احیاکننده تحت تنش شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است (Osareh & Shariat, 2009). با افزایش غلظت کلرید کادمیوم از صفر به ۶۰۰ میکرومولار، کربوهیدرات‌هایپ محلول ریشه و اندام‌های هوایی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) افزایش پیدا می‌کند (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2011). در ریشه و برگ کلزا (*Brassica napus* L.) نیز غلظت‌های ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومول کادمیم افزایش میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده را نشان می‌دهد (Soltani et al., 2006). همچنین افزایش غلظت این فلز از صفر به ۵۰ میکرومولار کاهش کربوهیدرات محلول در نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) را در پی دارد (Al-Hakimi, 2007). میزان کربوهیدرات ریشه، ساقه و برگ گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) همزمان با افزایش غلظت کلرید کادمیم (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌مولار) کاهش پیدا می‌کند (Gubrelay et al., 2013). غلظت ۰/۵ میلی‌مول بر لیتر نیکل و ۰/۱ میلی‌مول بر لیتر کادمیم سبب افزایش میزان نشاسته، کربوهیدرات‌های محلول و ساکارز در اندام هوایی برنج می‌شود (Moya et al., 1993). در آزمایش حاضر نیز کاربرد نیترات نیکل میزان کربوهیدرات‌های محلول در برگ زعفران را نسبت شاهد افزایش داد.

در آزمایشی اثر غلظت‌های ۱۵۰، ۲۸۰ و ۶۰۰ppm از روی و مس به‌صورت جداگانه بر میزان کربوهیدرات برگ گندم نان (*Triticum aestivum* L.) مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که غلظت ۶۰۰ppm از این فلزات سبب کاهش کربوهیدرات کل برگ می‌شود. این کاهش در تیمارهای مربوط به مس بیشتر از تیمارهای روی می‌باشد (Kumar et al., 2012).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٦- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ زعفران

Figure 6- The effect of different treatments on soluble carbohydrates of saffron leaf.

در آزمایش حاضر نیز با کاربرد نیترات روی میزان کربوهیدرات‌های محلول و الیگوساکاریدهای غیر احیاکننده برگ زعفران کاهش یافت. با کاربرد کربنات مس نیز میزان کربوهیدرات احیاکننده برگ زعفران کاهش و میزان کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافت.

در گیاه عدسک آبی (*Spirodela polyrhiza*) غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر نیترات نقره میزان کربوهیدرات محلول را نسبت به شاهد افزایش و غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان این کربوهیدرات‌ها را کاهش داد (Jiang et al., 2012). نتایج مشابهی نیز در این آزمایش مشاهده شد و با اعمال تیمار کاربرد نیترات نقره نیز میزان کربوهیدرات محلول برگ زعفران افزایش یافت.

با توجه به یافته‌های تحقیقات مختلف می‌توان چنین نتیجه گرفت که تغییر میزان کربوهیدرات کل در گیاهان گوناگون، به غلظت فلز مورد استفاده بستگی دارد. در آزمایش حاضر میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ زعفران (به‌جز تیمار نیترات روی) نسبت به شاهد افزایش و میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده نسبت به شاهد کاهش نشان دادند.

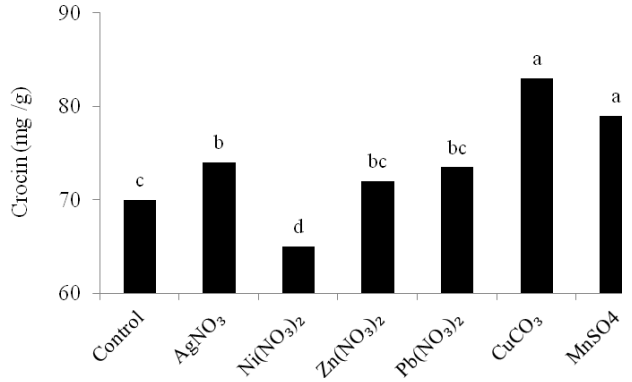
تأثیر فلزات سنگین بر میزان کروسین

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کروسین کلاله معنی‌دار بود ($P\leq0.05$). بیشترین میزان کروسین در تیمار کربنات مس و کمترین میزان کروسین در تیمار نیترات نیکل اندازه‌گیری شد. تیمار اخیر، تنها تیماری بود که موجب کاهش کروسین در مقایسه با شاهد شد (شکل ۸). در پاسخ به تنش‌های مختلف، میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان ممکن است افزایش یا کاهش نشان دهد.

فلزات نقره و سرب می‌توانند سبب کاهش و یا افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان شوند. برای مثال نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۵۰ و نیترات سرب با غلظت ppm ۱۲۰ میزان فلاونوئید و فنل کل را در ماش سبز (*Vigna radiata*) به ترتیب افزایش و کاهش دادند (Najafi & Jamei, 2014). در لپه‌ها و ریشه‌های لوپین زرد(*Lupinus luteus* L.) نیز غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات سرب میزان فلاونوئید را افزایش داد (Izbiańska et al., 2014). نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد که میزان کروسین کلاله زعفران در شرایط اعمال تنش نیترات سرب و نیترات نقره افزایش می‌یابد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان کروسین کلاله

Figure 7- The effect of different heavy metal treatments on crocin content of stigma.

همچون موارد قبل اثر فلزات روی و مس بر تولید متابولیت-های ثانویه در گیاهان مختلف، متفاوت است. در فلفل قرمز (*Capsicum annuum*) غلظت‌های ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سولفات روی و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سولفات مس میزان فنل و فلاونوئید را نسبت به شاهد به ترتیب کاهش و افزایش می‌دهند. اثر این فلزات بر میزان آنتوسیانین میوه فلفل قرمز در غلظت‌های مختلف، متفاوت است. به این صورت که افزایش غلظت سولفات مس از صفر به ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان آنتوسیانین را افزایش می‌دهد اما در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقدار آنتوسیانین به شدت کاهش می‌یابد. افزایش غلظت سولفات روی از ۱ به ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز میزان آنتوسیانین میوه را به‌تدریج کاهش می‌دهد (stavreva-veselinovska et al., 2010). نیترات روی و نیترات مس با غلظت ۰/۵ گرم در کیلوگرم سبب افزایش کروسین کلاله زعفران شدند.

نیکل سمیت اندکی برای بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) نشان می‌دهد زیرا محتوای فنل کل در برگ تحت تیمار با این فلز (تا حد ۱۲۰ میکرومولار)، تغییری نشان نداد (Kovácik et al., 2009)؛ اما تنش این فلز (۵۰ میکرومولار) سطح آنتوسیانین را در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) به‌طور معنی‌داری کاهش داد (Hawrylak et al., 2007)، در آزمایش حاضر نیز نیترات نیکل میزان کروسین کلاله زعفران را کاهش داد.

نتیجه‌گیری

مطابق نتایج آزمایش غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از نیترات نقره، نیترات نیکل، نیترات روی، نیترات سرب، کربنات مس و سولفات منگنز محتوای کلروفیل (a، b، کل) برگ زعفران را افزایش و نسبت کلروفیل a به b را کاهش داد اما اثری بر میزان کاروتنوئید برگ نداشت. نیترات نیکل و نیترات روی مقدار پرولین کمتری را نسبت شاهد نشان دادند. درصورتی‌که سایر تیمارها میزان این اسیدآمینه را در برگ افزایش دادند. میان تیمارهای آزمایش و شاهد برای میزان کربوهیدرات احیاکننده برگ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما همه تیمارها به غیر از نیترات روی، میزان کربوهیدرات‌های محلول و الیگوساکاریدهای غیراحیا کننده را افزایش دادند. تمام تیمارها به غیر از نیترات نیکل، مقدار کروسین کلاله را نسبت به شاهد افزایش دادند؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از فلزات سنگین مورد بررسی در کوتاه‌مدت تأثیر یکسانی بر صفات فیزیولوژیک زعفران ندارد، با

www.SID.ir

Archive of SID

این‌حال به نظر می‌رسد تداوم حضور فلزات در خاک و یا افـزایش غلظت آن‌ها در محیط رشد ریشه می‌تواند بـه‌صـورت مسـتقیم و یا غیرمستقیم از طریق برهمکنش بـا سـایر عوامـل رشـد و نمـو زعفران را تحت تأثیر قـرار دهـد کـه ایـن نکتـه نیـاز بـه انجـام آزمایش‌های تکمیلی به‌ویژه در ارتباط با تعیین میزان انتقـال ایـن فلزات به قسمت‌های مختلف گیاه را ضروری می‌سازد.

منابع

Abdullaev, F.I., Caballero Ortega, H., Riveron Negrete, L., Pereda Miranda, R., Rivera Luna, R., Manuel Harnandez, J., Perez Lopez, I. and Espinosa, Aguirre. 2002. Evaluacion In Vitro Del Potencial Quimiopreventivo Del Azafran. Revista de Investigacion Clınica 54: 430–436.

Aggarwal, A., Sharma, I., Tripathi, B.N., Munjal, A.K., Baunthiyal, M., and Sharma, V. 2011. Photosynthesis: Overviews on Recent Progress & Future Perspective. Metal Toxicity and Photosynthesis. New Delhi: IK International Publishing House.

Al-Hakimi, A.M.A. 2007. Modification of cadmium toxicity in pea seedlings by kinetin. Plant Soil and Environment 53 (3): 129–135.

Alipour Darvari, H., zare Mayvan, H., and Sharifi, M. 2009. Peroxidase activity in *Raphanus sativus* and its relationship to the amount of heavy metals in soil. Journal of Science (University of Tehran) 35 (1): 37-43. (In Persian).

Alizadeh, A., Sayari J., Ahmadian, N., and Mohamadian, A. 2009. Study for zoning the most appropriate time of irrigation of saffron (*Crocus sativus*) in Khorasan Razavi, north and southern provinces. Journal of Water and Soil 23 (1): 109-118. (In Persian with English summary).

Azmat, R., and Khan, N. 2011. Nitrogen metabolism as a bio indicator of Cu stress in *Vigna radiata*. Pakistan Journal of Botany 43 (1): 515-520.

Bates, L.S., Waldern, R.P., and Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Brahim, L., and Mohamed, M. 2011. Effects of copper stress on antioxidative enzymes, chlorophyll and protein content in *Atriplex halimus*. African Journal of Biotechnology 10 (50): 10143-10148.

Bruins, M.R., Kapil, S., and Oehme, F.W. 2000. Microbial resistance to metals in the environment. Ecotoxicology and Environmental Safety 198-207.

Gallego, S.M., Benavides, M.P., and Tomaro, M.L. 1996. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. Plant Science 121: 151- 159.

Ghorbanli, M., and Kiapour, A. 2012. Copper-induced changes on pigments and activity of non-enzimatic and enzymatic systems in *Portulaca oleracea* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28 (2): 235-247. (In Persian).

Gubrelay, U., Agnihotri, R.K., Singh, G., Kaur, R., and Sharma, R. 2013. Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of barley (*Hordeum vulgare* L.). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5 (22): 2743-2751.

Hawrylak, B., Matraszek, R., and Szymanska, M. 2007. Response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. Vegetable Crops Research Bulletin 67: 63-70.

Hayat, SH., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Shafi Wani, A., Pichtel, J. and Aqil Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments. Plant and Behavior 7 (11): 1456–1466.

Holopainen, J.K., and Gershenzon, J. 2010. Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. Trends

www.SID.ir

Archive of SID

in Plant Science 15 (3): 176-184.

Jiang, H.S., Li, M., Chang, F.Y., Li, W., and Yin, L.Y. 2012. Physiological $AgNo_3$ *Spirodela polyrhiza*. Environmental Toxicology and Chemistry 31 (8): 1880–1886.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. Plant Soil and Environment 54 (6): 262–270.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S. 2009. Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters metal accumulation by *Brassica juncea* L. International Journal of Plant Production 3 (3): 65-76.

Kafi, M., Koocheki, A., Rashed, M. H., and Nassiri, M. 2006. Saffron (*Crocus sativus* L.), Production and Processing. Science Publisher.

Koocheki, A., Ganjeali, A., and Abbassi, F. 2006. The effect of duration of incubation and photoperiod on corm and shoot characteristics of saffron plant (*Crocus sativus* L.). Proceedings of the 2nd International Symposium on Saffron Biology and Technology. Mashhad, Iran.

Kovácik, J., Klejdus, B., and Backor, M. 2009. Phenolic metabolism of *Matricaria chamomilla* plants exposed to nickel. Journal of Plant Physiology 166 (13): 1460-1464.

Kumar, V., Awasthi, G., and Chauhan, P.K. 2012. Cu and Zn tolerance and responses of the biochemical and physiochemical system of wheat. Journal of Stress Physiology & Biochemistry 8 (3): 203-213.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Izbiańska, K., Arasimowicz-Jelonek, M., and Deckert, J. 2014. Phenylpropanoid pathway metabolites promote tolerance response of lupine roots to lead stress. Ecotoxicology and Environmental Safety 110: 61-67.

Marrs, K.A. 2011. The Functions and regulation of glutathione s-transferases in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 47: 127–158.

Moya, J.L., Ros, R., and Picazo, I. 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. Photosynthesis Research 36: 75-80.

Naderi, N., Mirzamasoumzadeh, B., and Aghaei, A. 2013. Effects of different levels of lead (Pb) on physiological characteristics of sugar beet. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5 (10): 1154-1157.

Najafi, S., and Jamei, R. 2014. Effect of silver nanoparticles and $Pb(NO_3)_2$ on the yield and chemical composition of mung bean (*Vigna radiata*). Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 10 (1): 316-325.

Noorani Azad, H., and Kafilzadeh F. 2011. The effect of cadmium toxicity on growth, soluble sugars, photosynthetic pigments and some of enzymes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Iranian Journal of Biology 24 (6): 858-867. (In Persian with English summary).

Osareh, M.H., and Shariat, A. 2009. Salinity resistance in germination stage and growth stage in Some Eucalyptus species. Journal Agriculture Science and Natural Resources 15 (6): 145-157. (In Persian with English summary).

Ouzounidou, g., and Constantinidou, H.A. 1999. Changes in growth and physiology of tobacco and cotton under Ag exposure and recovery: are they of direct or indirect nature? Archives of Environmental Contamination and Toxicology 37: 480–487.

Pandey, N., and Sharma, C. 2002. Effect of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of

www.SID.ir

Archive of SID

cabbage. Plant Science 163: 753-758.

Patumi, M., Fontanazza, G. Baldoni, L., Brambilla, I. 1990. Determination of some precursors of lipid biosynthesis in olive fruits during ripening. Acta Horticulturae 286: 199-202.

Rastgoo, L., and Alemzadeh, A. 2011. Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. Australian journal of crop science 5 (4): 375-383.

Ros, R., Cooke, D.T., Burden, R.S., and James, C.S. 1990. Effects of the herbicide MCPA, and the heavy metals, cadmium and nickel on the lipid composition, Mg2+-ATPase activity and fluidity of plasma membranes from Rice, *Oryza sativa* (cv. Bahia) shoots. Journal of Experimental Botany 41: 457–462.

Salisbury, F.B., and Ross, C.W. 1991. Metal toxicity and resistance. In: Plant Physiology.Wadsworth Publishing Company, Belmont, CA. pp 126.

Seregin, I.V., and Kozhevnikova, A.D. 2006. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. Russian Journal of Plant Physiology 53 (2): 257–277.

Shah, K., and Dubey, R.S. 1998. Effect of cadmium on proline accumulation and ribonuclease activity in rice seedlings: role of proline as a possible enzyme protectant. Plant Biology 40: 121–130.

Soltani, F., Ghorbanli, M., and Manoucheri-Kalantari, Kh. 2006. Effect of cadmium on photosynthetic pigments, sugars and malondealdehyde content in (*Brassica napus* L.). Iranian Journal of Biology 19 (2): 136-145. (In Persian with English summary).

Stavreva- veselinovska, S., Zivanovic, J., and Dokic, M. 2010. Toxic influence of excessive concentrations of some heavy metals upon anthocyans, flavonoids, and phenols in pepper (*Capsicum annuum*) as a vegetable. nature montenegrina, Podgorica 7 (2): 527-534.

Theriappan, P., Gupta, A.K., and Dhasarathan, P. 2011. Accumulation of proline under salinity and heavy metal stress in cauliflower seedlings. Journal of Applied Sciences and Environmental Management 15 (2): 251 – 255.

Vitoria, A.P., Cunha, M.Da., and Azevedo, R.A. 2005. Ultra structural changes of Radish leaf exposed to cadmium. Environmental and Experimental Botany 58: 47-52.

Xiong H., Duan C., Xinxiang A., and Chen M., 2013. Response of scutellarin content to heavy metals in *Erigeron breviscapus*. International Journal of Environmental Science and Development 4 (3): 277-281.

Verma, S., and Dubey, R.S. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biologia plantarum 44 (1): 117 – 123.

Zengin, F K., and Munzuroglu O. 2005. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47 (2): 157-164.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of Different Heavy Metals on Physiological Traits of Saffron (*Crocus sativus* L.)

***Majid Rostami*[*1], *Roya Karamian*[2] *and Zahra Joulaei*[3]**

1. Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Malayer, Iran.
2. Professor, Department of Biology, Bu Ali Sina University, Iran.
3. Former M.Sc. Student of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Malayer, Iran.
(-Corresponding Author E-mail: Majidrostami7@yahoo.com)*

Received: 16 January, 2015 **Accepted:** 10 June, 2015

Abstract:

Increasing the concentration of different heavy metals, such as lead, copper, nickel and other heavy metals in air, soil and water can pose negative effects on the entire ecosystem and cause harmful health consequences for all forms of life. The major sources of pollution in many parts of world are overburdens of mine, industrial effluents, fertilizers and pesticides. In order to study the effects of different heavy metals on some of the physiological attributes of saffron such as photosynthetic pigments, Prolin and carbohydrates of leaf and the amount of crocin in the saffron stigmas, an experiment was conducted based on completely randomized design (CRD) with four replications and seven treatments. The experimental treatments were control and six different heavy metals (i.e. nickel nitrate, silver nitrate, zinc nitrate, copper carbonate, lead nitrate and manganese sulfate). Before sowing the corms, all of the heavy metals were added to the soil based on the concentration of 500 $mg.kg^{-1}$ soil. The effects of experimental treatments on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and chlorophyll a/b were significant, but there was no significant effect on leaf carotenoids. Proline and soluble carbohydrates were significantly affected by the treatments. However, the effects of these treatments on reducing carbohydrates were not significant. Heavy metals also had significant effects on crocin content of the saffron stigmas. By using all of the heavy metals except for nickel nitrate, the amount of crocin increased.

Keywords: *Carbohydrates, Environmental stress, Proline, Secondary metabolites.*

www.SID.ir