

علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره بیست و دوم، شماره چهار، تیر ماه ۹۹

## ارزیابی توان گیاه پالایی آب تره (*Nasturium officinale L.*) در

### رفع آلودگی کادمیوم

مریم جعفر زاده رزمی<sup>۱</sup>

مهناز اقدسی\*<sup>۲</sup>

[Aghdasi1346@gmail.com](mailto:Aghdasi1346@gmail.com)

احمد عبدال زاده<sup>۳</sup>

حمیدرضا صادقی پور<sup>۴</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۶/۳۰

#### چکیده

**زمینه و هدف:** آلودگی محیط زیست به فلزات سنگین از مهمترین مسائلی است که می‌تواند بر روی رشد و نمو گیاهان و جانوران تاثیر بسزایی داشته باشد. کادمیوم یک فلز آلاینده محیطی است که اثراتی سو بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهان دارد. هدف از این پژوهش بررسی امکان رفع آلودگی آب‌های آلوده به کادمیوم با استفاده از گیاه آب‌تره است.

**روش بررسی:** در این پژوهش اثر سطوح مختلف کلرید کادمیوم (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار) بر خصوصیات فیزیولوژیکی و توان جذب گیاه آب تره انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف تیمار کادمیوم بر خصوصیات فیزیولوژیکی و میزان کادمیوم در گیاه معنی‌دار بود. به طوری که وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، ارتفاع ریشه و اندام هوایی، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه با افزایش سطوح کادمیوم روند کاهشی داشتند. همچنین هرچه سطوح کادمیوم در محیط کشت افزایش یافت، غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی گیاه افزایش یافت. بیش‌ترین محتوای کادمیوم در هر دو اندام ریشه و ساقه گیاه آب تره در غلظت ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم مشاهده شده است.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج حاضر نشان داد که گیاه آب‌تره توانایی پالایش کادمیوم از آب‌های آلوده به این فلز را دارد.

**واژه‌های کلیدی:** آب‌تره، آلودگی، کادمیوم، رشد، گیاه پالایی.

۱- کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران (مسئول مکاتبات)

۳- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

۴- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

## Evaluation of Phytoremediation Potential of *Nasturtium Officinal L.* for Cadmium Contamination Elimination

Maryam Jafarzadeh Razmi<sup>1</sup>

Mahnaz Aghdasi<sup>2\*</sup>

[Aghdasi1346@gmail.com](mailto:Aghdasi1346@gmail.com)

Ahmad Abdolzadeh<sup>3</sup>

HamidReza Sadeghipour<sup>4</sup>

Accepted: 2018.02.07

Received: 2017.09.21

### Abstract

**Background and Objective:** One of the most fundamental problems that may affect growth and development of plants and animals are environmental pollution by some heavy metals. Cadmium is a contaminant metal which has harmful effects on the physiological activity of the plant. The aim of this study was to investigate the possibility of using the *Nasturtium officinal* plants for clarifying of contaminated water and evaluation of this plant ability for phytoremediation.

**Method:** In this study the effect of different concentrations of Cadmium (including 10, 50, 100, 300 and 500  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$ ) was investigated on physiological parameters and Cadmium absorption of *Nasturtium officinal* plant. The experiment was carried out in completely randomized design with three replications.

**Findings:** The obtained result showed that the effects of Cd was significant on growth, physiological characters and the amount of Cadmium in plants, so that fresh and dry weight of shoot and root, height of shoot and root and the photosynthetic pigments increased as levels of Cadmium increased in nutrient solution. By increasing Cadmium concentration in medium culture, the amount of Cadmium was enhanced in roots and shoots. The highest Cadmium content in both root and shoot organs was observed in 500 $\mu\text{M}$  cadmium treatment.

**Discussion and Conclusion:** The current results revealed that *Nasturtium officinal* plants have certain ability for Cd phytoremediation.

**Key words:** *Nasturtium Officinal L.*, Contamination, Phytoremediation, Growth, Cadmium.

---

1 - M.Sc., Plant Physiology, Golestan University, Gorgan, IRAN

2- Associate Professor, Dept. of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, IRAN \* (Corresponding Author)

3 - Professor, Dep. of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, IRAN

4 - Associate professor, Dept. of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, IRAN

## مقدمه

امروزه آلودگی محیط زیست به عنوان یکی از مباحث بسیار مهم در زندگی بشر مطرح است. فلزات سنگین از منابع آلاینده محیط زیست از جمله آب و خاک می‌باشند که در صورت تجمع در خاک و جذب به وسیله گیاه، به زنجیره‌های غذایی وارد شده و در گیاهان و یا افراد تغذیه‌کننده از آن‌ها مسمومیت ایجاد می‌کنند (۱). کادمیوم یک فلز آلاینده محیطی است که در طبیعت منتشر می‌شود. منابع مختلف مانند فاضلاب شهری و مواد سوختی، غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند. همچنین استفاده از کودهای شیمیایی مخصوصاً کودهای فسفاته مقدار این عنصر را در خاک افزایش می‌دهد (۲). کادمیوم به راحتی به وسیله ریشه گیاه جذب می‌شود. این عنصر هیچ نقش بیولوژیکی در گیاهان ندارد، اما بیش‌ترین سمیت را برای گیاهان و جانوران ایجاد می‌کند. سمیت این عنصر ۲۰ برابر بیش‌تر از سایر فلزات سنگین است (۳).

این عنصر به علت سمیت و تحرک زیاد یک آلاینده اساسی به شمار می‌رود. عوامل مهمی در جذب کادمیوم توسط گیاهان تأثیر دارند که از آن جمله می‌توان به غلظت کادمیوم خاک و میزان در دسترس بودن آن، تغییر شکل در حضور مواد آلی دیگر، pH خاک، پتانسیل احیاکنندگی، دما و غلظت سایر فلزات اشاره کرد. یون کادمیوم به شکل  $Cd^{2+}$  بیش‌ترین شکل کادمیوم قابل جذب توسط گیاه است (۴). این عنصر به دلیل رقابت با عنصر کلسیم سبب اختلال در جذب ریشه‌ای کلسیم می‌شود. توانایی جایگزینی کادمیوم با روی سبب می‌شود که این عنصر در بسیاری از فرآیندهای متابولیسمی و ژنتیکی از جمله اکسیداسیون اسیدهای چرب، فعالیت RNA پلیمرز و در واکنش‌های آنزیمی اختلال ایجاد کند. علائم جذب کادمیوم در گیاه را به صورت بروز لکه‌های زرد، خشکیدگی بر روی برگ و ریزش برگ‌ها، جلوگیری از فتوسنتز کامل و جذب و انتقال عناصر معدنی در گیاه، چوب‌پنبه‌ای شدن، صدمه به ساختمان داخلی و خارجی ریشه و اختلال در تنفس به وقوع خواهد پیوست. از طرفی دیگر کادمیوم اثرات

زیان‌باری بر سلامت انسان دارد. شیوع برخی بیماری‌ها در انسان به کادمیوم نسبت داده شده است. تجمع کادمیوم در کلیه باعث دفع زیاد پروتئین‌ها می‌شود. همچنین شواهد نشان داده که کادمیوم عامل بروز برخی از انواع سرطان نظیر سرطان پروستات و ریه است (۵).

آب‌تره با نام علمی *Nasturium officinale L.* گیاهی گلدار از خانواده شب‌بو است که در کنار جوی‌ها و باتلاق‌ها می‌روید. آب‌تره با نام‌های بولاغ‌اوتی، علف چشمه، شاهی‌آبی و ترتیزک آبی نیز شناخته می‌شود. این گیاه به ارتفاع ۱۰ تا ۶۰ سانتی‌متر با برگ‌های کوچک به رنگ سبز تیره و گل‌های کوچک سفید و ساقه‌های خزنده است که به صورت وحشی در بسیاری از نقاط آسیا و اروپا می‌روید (۶). آب‌تره مقدار قابل توجهی آهن، کلسیم و اسید فولیک در خود دارد. این گیاه هم به دلیل خاصیت‌های دارویی و هم مزه تند و خوش‌گوار آن مورد علاقه بسیاری بوده است. میزان ید در این گیاه بالا بوده و لذا درمان بیماران مبتلا به کم کاری تیروئید سودمند ساخته است. از این گیاه در بهبود سرفه و گلودرد، هضم غذا، رفع شکنندگی پوست، کاهش حساسیت، برونشیت، طاسی سر، زیباشدن صورت، تصفیه خون، سوءهاضمه، نقرس، رماتیسم، رفع جوش‌های صورت، لکه‌های آفتاب‌زدگی، گواتر، اگزما، گلودرد، ازدیاد شیر، رفع خونریزی، دردهای سیاتیک و پیسی استفاده می‌شود (۷).

تاکنون روش‌های متعددی برای حذف آلاینده های زیست محیطی پیشنهاد شده است که می‌توان به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی اشاره کرد. روش‌های فیزیکی و شیمیایی ضمن آن‌که بسیار پر هزینه می‌باشند، خصوصیات خاک را تغییر داده، تنوع زیستی را از بین برده و در نهایت خاک را به یک محیط بی‌فایده و غیرقابل استفاده برای رشد گیاهان تبدیل می‌کنند (۸). اما گیاه پالایی روشی کم هزینه بوده و نیازی به افراد با تخصص بالا ندارد. ضمن آنکه این روش قابلیت پالایش ترکیبات آلی و غیر آلی را داشته و در مقایسه با سایر روش‌ها

چنانچه گیاه آب‌تره به مدت ۱۴ روز در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر از عنصر کروم رشد کند، توانایی انباشتن این فلز را تا ۷۶۲ میکروگرم در هر گرم وزن خود دارد. همچنین گزارش‌های دیگری در ارتباط با انباشتن عناصری مانند روی (Zn)، مس (Cu) و نیکل (Ni) توسط این گیاه منتشر شده است (۱۵).

با توجه به آن‌که امروزه آلودگی آب‌ها به فلزات سنگین به عنوان یک مشکل جدی در دنیا مطرح است، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه آب‌تره و نیز توانایی این گیاه در پالایش آب‌های آلوده از فلز سنگین کادمیوم طرح‌ریزی شده است.

#### مواد و روش‌ها:

**جمع آوری نمونه و شرایط کشت:** گیاهچه‌های تازه روییده آب‌تره از روستای کلو در ۵ کیلومتری شهرستان آزادشهر در استان گلستان جمع‌آوری و با آب مقطر شستشو شدند. سپس گیاهچه‌ها به محیط کشت ۱/۲ هوگلند انتقال داده شدند. pH محیط کشت به طور روزانه اندازه‌گیری و بر روی عدد ۷ تنظیم شد. بعد از ۴ هفته رشد، سطوح مختلف تیمار کلرید کادمیوم (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار) بر روی گیاهچه‌ها در محیط کشت هوگلند آغاز شد. کلیه آزمایشات در طرح کاملاً تصادفی انجام شد. گیاهچه‌های آب‌تره پس از ۷ روز تیماردهی جمع‌آوری و جهت اندازه‌گیری فاکتورهای مختلفی مانند وزن تر و خشک، طول ساقه و ریشه، رنگیزه‌های فتوسنتزی و عنصر کادمیوم به آزمایشگاه انتقال یافتند.

**اندازه‌گیری وزن تر و خشک گیاه:** ریشه گیاهچه‌ها بعد از برداشت با آب مقطر شسته شده و با دستمال کاغذی خشک شدند. سپس ریشه‌ها از بخش هوایی جدا و وزن هر کدام به طور جداگانه اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری وزن خشک، اندام‌های ریشه و بخش هوایی به طور جداگانه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ °C در آون خشک شده و سپس توزین شدند.

مانع از تخریب خاک خواهد شد. گیاه‌پالایی یکی از به روزترین روش‌ها برای رفع آلودگی محیط زیست به فلزات سنگین، ترکیبات آلی، علف‌کش‌ها و هیدروکربن‌های نفتی و مواد رادیواکتیو است که با استفاده از گیاهان صورت می‌گیرد. گزارش‌ها نشان داده که از گیاهان آبی برای پاک‌سازی آب‌های آلوده در مناطق هسته‌ای روسیه استفاده شده است. این نتایج نشان داد که برخی از گیاهان قادر هستند بعضی از انواع فلزات-سنگین را بدون نشان دادن علائم سمیت، در بافت‌هایشان ذخیره کنند (۹). گیاهان بر حسب گونه، توانایی جذب و نگهداری برخی از انواع فلزات سنگین را در خود دارند و از این طریق می‌توانند سبب پاک‌سازی آلاینده‌های محیط زیست شوند (۱۰). مطالعات پیشین نشان داد که برخی انواع گیاهان آبی و جلبک‌ها قادر به انباشتن فلزات سنگین نظیر (کادمیوم، کروم، سرب، کبالت، نقره، سلنیوم و جیوه) هستند (۱۱). اگرچه انباشتن بیش از اندازه فلزات سنگین می‌تواند برای بیشتر گیاهان سمی باشد، اما برخی از گونه‌های گیاهی قادر به انباشتن و نیز تحمل این فلزات هستند (۱۲). به عنوان مثال آزولا از جمله گیاهانی است که قادر به جذب و انباشتن فلزات سنگین از آب‌های آلوده بوده و نسبت به آن متحمل است. گزارش‌ها نشان داده که خانواده‌های سیب‌زمینی، آفتابگردان، شببو و اسفناج توانایی بالایی در انباشتن کادمیوم دارند. بررسی‌های انجام شده بر روی برخی از گیاهان خانواده شببو نشان داده که گیاهانی نظیر شلغم، خردل سیاه و خردل سفید توانایی بالایی در جذب کادمیوم دارند (۱۳). از طرفی دیگر گزارش‌هایی مبنی بر استفاده از دست‌ورزی‌های ژنتیکی به منظور افزایش سازگاری گیاهان به تنش فلزات سنگین منتشر شده است. از طرفی دیگر نشان داده شده که با انتقال ژن ترهالوز-۶-فسفات سنتتاز (*AtTPSI*) از گیاه آرابیدوپسیس به گیاه تنباکو میزان مقاومت این گیاه به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد (۱۴).

پیش از این توانایی جذب برخی از انواع فلزات سنگین توسط گیاه آب‌تره مورد بررسی گرفته است. این گزارش نشان داده که

فاکتورانتقال (TF) گیاه با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد. در این فرمول C نشان‌دهنده غلظت فلز است (۱۸).

$$CFS = \frac{C_{shoot}}{C_{soil}}$$

$$BCFR = \frac{C_{root}}{C_{soil}}$$

$$TF = \frac{C_{shoot}}{C_{root}}$$

آنالیزهای آماری: آنالیز و تجزیه داده‌ها از نرم‌افزار Excel و SAS و همچنین بررسی معنی‌دار بودن داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس و تست دانکن استفاده شد.

#### یافته‌ها

##### اثر تیمار کلرید کادمیوم بر صفات رشد

گیاهچه‌های آب‌تره پس از یک هفته تیمار با سطوح مختلف کلرید کادمیوم تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر رشد با یکدیگر نشان دادند. با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت هوگلند رشد گیاهچه‌ها در مقایسه با شاهد (غلظت صفر میکرومولار) کمتر شده و برگ‌ها به رنگ قرمز درآمدند (شکل ۱). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کلرید کادمیوم طول ساقه و ریشه کاهش می‌یابد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان طول ریشه و ساقه در غلظت صفر و ۵۰۰ میکرومولار دیده شده است. بررسی اثر تیمار غلظت-های مختلف کادمیوم بر وزن تر ریشه نشان داد که کمترین میزان وزن تر در غلظت ۵۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم دیده می‌شود. این نتایج نشان داد که تیمار غلظت‌های مختلف کادمیوم تفاوت معنی‌داری را در وزن تر ریشه در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد کرده است. کمترین میزان وزن تر بخش هوایی در تیمار ۵۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم دیده شده که نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری داشته است. بررسی اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر گیاهچه آب‌تره نشان داد که با افزایش میزان کادمیوم در محیط کشت وزن خشک بخش هوایی کاهش می‌یابد. این نتایج نشان داد که تیمار گیاهچه‌ها با غلظت ۵۰۰

استخراج عصاره گیاهی: ۰/۰۵ گرم از پودر خشک گیاه را در لوله آزمایش ریخته و به آن ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شدند. پس از یک هفته عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دمای اتاق سانتریفوژ شدند. عصاره به دست آمده جهت سنجش قند محلول مورد استفاده قرار گرفت.

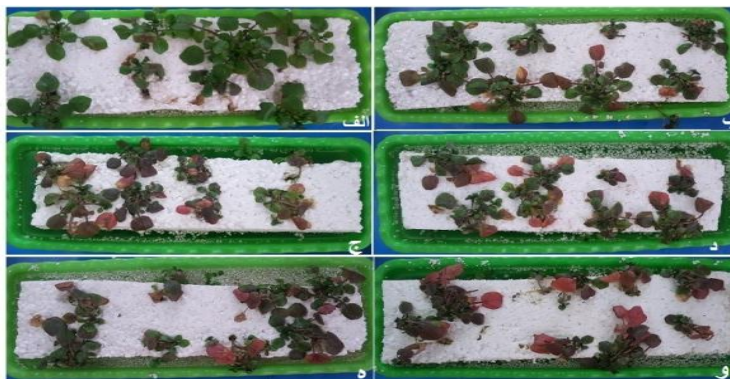
سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید: ابتدا مقدار ۰/۰۵ گرم بافت تازه گیاهی در ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ ساییده شده و سپس مخلوط به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت فاز استونی فوقانی برای سنجش کلروفیل و کاروتنوئید جدا شد. جذب عصاره‌ها با استفاده از دستگاه اسپکترومتر (ShimadZU UV-۱۶۰A) در پنج-طول موج ۴۷۰، ۶۴۵، ۶۴۶، ۶۶۳، ۶۶۳/۲ و ۶۶۳ نانومتر نسبت به شاهد (استون ۸۰٪) اندازه‌گیری شد (۱۶).

اندازه‌گیری کادمیوم: پس از شستشوی نمونه گیاهی با آب مقطر، قطعات گیاهی در کاغذ فویل آلومینیوم پیچیده شده و به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شدند. سپس به ۰/۰۵ میلی‌گرم از نمونه گیاهی ۲۵ میلی‌لیتر محلول HNO<sub>3</sub> اضافه و به مدت یک شب در اسید قرار داده شد. در مرحله بعدی نمونه‌ها در ظروف در باز در دمای ۲۵۰ °C حرارت داده شدند تا محتوای مایع ظروف بخار و تقریباً خشک شود. به منظور تکمیل مرحله هضم ۵ میلی‌لیتر دیگر از پراکسید هیدروژن ۳۰٪ به نمونه‌ها اضافه و مجدداً نمونه‌ها حرارت داده شد تا تمامی محلول تبخیر شود. سپس دیواره ظروف حاوی نمونه‌ها با آب مقطر شسته شده و مخلوط تا جوشیدن حرارت داده شد. محتوای ظروف بعد از خنک شدن به ظروف استاندارد ۲۵ میلی‌لیتری منتقل و با آب مقطر به حجم رسانده شدند. اندازه‌گیری میزان کادمیوم نمونه‌های گیاهی با دستگاه جذب اتمی مدل Spectra AA-10 محصول شرکت Varian از کشور استرالیا انجام شد (۱۷).

اندازه‌گیری فاکتور تجمع زیستی و فاکتور انتقال: فاکتور تجمع زیستی بخش هوایی (CFS) و ریشه (BCFR) و

میکرومولار کلرید کادمیوم مشاهده شده است (جدول ۱). نتایج آنالیز واریانس داده‌های بدست آمده نشان داد که اثر تیمار کادمیوم بر صفات مورد بررسی وزن تر بخش هوایی و ریشه، وزن خشک بخش هوایی و ریشه و طول ریشه و ساقه در سطح ۱٪ معنی دار است (جدول ۲).

میکرومولار کلرید کادمیوم سبب کاهش قابل ملاحظه در وزن خشک ریشه در مقایسه با نمونه شاهد می‌شود. همچنین این نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت وزن خشک بخش هوایی کاهش می‌یابد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان وزن خشک بخش هوایی به ترتیب در تیمار صفر و ۵۰۰



شکل ۱- گیاهچه‌های آب‌تره پس از یک هفته تیمار با الف) صفر، ب) ۱۰، ج) ۵۰، د) ۱۰۰، ه) ۳۰۰ و و) ۵۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم.

**Figure 1- *Nasturium officinale* seedlings after one week treatment by A) 0, B) 10, C) 50, D) 100, E) 300 and F) 500  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$**

جدول ۱- اثر تیمار غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر طول و وزن ریشه ساقه گیاهچه‌های آب‌تره در محیط کشت هوکلند.

**Table 1- The effect of different concentrations of  $\text{CdCl}_2$  treatment on length and weight of root and stem of *Nasturium officinale* seedlings in Hogland culture medium.**

وزن خشک بخش هوایی (گرم)	وزن تر بخش هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	طول ساقه (میلی‌متر)	طول ریشه (میلی‌متر)	کادمیوم (میلی مولار)
۱/۱۴±۰/۳۴ <sup>a</sup>	۱۷/۷۸±۰/۳۳۵ <sup>a</sup>	۱/۲۳±۲/۹۵ <sup>a</sup>	۱۹/۷۳±۳/۱۷۹ <sup>a</sup>	۶۰±۱/۱۵۴ <sup>a</sup>	۱۲۲±۱/۲۰۱ <sup>a</sup>	۰
۱/۰۳±۰/۲۸ <sup>b</sup>	۱۴/۰۶±۰/۱۰۴ <sup>b</sup>	۱/۱±۲/۹۴ <sup>b</sup>	۱۶/۱۵±۲/۰۵۵ <sup>b</sup>	۵۵±۰/۸۸۱ <sup>a</sup>	۱۲۰±۳/۷۸۵ <sup>a</sup>	۱۰
۰/۸۱±۰/۱۲ <sup>c</sup>	۱۳/۴۲±۰/۹۴ <sup>b</sup>	۰/۸۱±۲/۸۴ <sup>c</sup>	۱۳/۹۷±۲/۰۲۷ <sup>c</sup>	۵۰±۱/۴۵۲ <sup>b</sup>	۱۱۴±۰/۵۷۷ <sup>a</sup>	۵۰
۰/۷۵±۰/۲۴ <sup>d</sup>	۱۱/۸۱±۰/۶۷۹ <sup>c</sup>	۰/۵±۲/۷۲ <sup>d</sup>	۱۲/۸۴±۰/۳۳۳ <sup>c</sup>	۴۹±۱/۴۵۲ <sup>b</sup>	۱۰۵±۰/۱۵۴ <sup>b</sup>	۱۰۰
۰/۵۱±۰/۱۱ <sup>e</sup>	۱۰/۶۸±۰/۳۱۸ <sup>d</sup>	۰/۲۴±۲/۷۱ <sup>e</sup>	۱۰/۹۴±۰/۳۳۳ <sup>d</sup>	۴۱±۰/۸۸۱ <sup>c</sup>	۹۹±۱/۱۵۴ <sup>b</sup>	۳۰۰
۰/۴۱±۰/۰۳۴ <sup>f</sup>	۹/۲۴±۰/۵۰۷ <sup>d</sup>	۲/۶۹±۰/۱۱ <sup>f</sup>	۹/۱۵±۱ <sup>d</sup>	۳۴±۰/۸۸۰ <sup>c</sup>	۸۳±۱/۸۵۵ <sup>c</sup>	۵۰۰

احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

ستون‌های حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح

جدول ۲- آنالیز واریانس اثر تیمار کلرید کادمیوم بر برخی فاکتورهای رشد

Table 2- Analysis of variance of effect of CdCl<sub>2</sub> on some growth parameters

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر بخش هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	طول ریشه	طول ساقه
کلرید کادمیوم	۳	۰/۱۸۰۷*	۰/۰۰۱۵*	۰/۰۰۰۱۲*	۰/۰۰۰۰۲*	۰/۰۰۰۵*	۰/۰۰۰۱۶*
خطا	۱۵	۰/۱۰۱۴	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۲

\*در سطح کم تر از ۱ درصد معنی دار است.

### رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج حاصل نشان داد که بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در تیمار صفر و ۵۰۰ میکرومولار دیده شده است. اما بین تیمارهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار تفاوت معنی داری در میزان کلروفیل a دیده نمی‌شود. همچنین تیمار گیاهچه‌های آب تره با غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم سبب کاهش میزان کلروفیل b و کلروفیل کل شده است. بررسی میزان کاروتنوئیدها در گیاهچه‌های تیمار شده نشان داد که بین غلظت‌های مختلف به کار برده شده تفاوت معنی داری دیده نمی‌شود (جدول ۳). نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم، بر میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و میزان کاروتنوئید در سطح ۵٪ معنی دار بوده، اما بر میزان کلروفیل b در سطح ۱٪ معنی دار است (جدول ۴).

### میزان کادمیوم

نتایج حاصل از سنجش میزان کلرید کادمیوم در بخش هوایی گیاهچه آب تره نشان داد که در تیمار صفر میکرومولار، میزان کادمیوم تقریباً ناچیز می‌باشد. در حالی که با افزایش غلظت کلرید

کادمیوم در محیط کشت، میزان کادمیوم در بخش هوایی افزایش یافته است. بیشترین میزان کادمیوم در تیمار ۵۰۰ میکرومولار دیده شده است. در تیمار صفر میکرومولار میزان کادمیوم در ریشه شاهد تقریباً ناچیز بوده در حالی که با افزایش غلظت - کادمیوم در محیط کشت، میزان کادمیوم این اندام افزایش یافته است. بیشترین میزان کادمیوم در اندام ریشه نیز در تیمار ۵۰۰ میکرومولار دیده شده است (جدول ۳). نتایج آنالیز واریانس داده‌های به دست آمده نشان داد که تیمار غلظت‌های مختلف کلرید - کادمیوم اثر معنی داری در سطح ۵٪ بر میزان کادمیوم بخش هوایی گیاهچه‌های آب تره داشته در حالی که بر میزان کادمیوم انباشته شده در ریشه در سطح کم تر از ۱٪ معنی داری است (جدول ۵). محاسبه فاکتور تجمع زیستی کادمیوم نشان داد که بین اندام ریشه و بخش هوایی تفاوت چندانی وجود ندارد. اما محاسبه فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به بخش هوایی در گیاه آب تره نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت این فاکتور از ۰/۷۵ به ۱/۱۱ افزایش می‌یابد (جدول ۶).

جدول ۳- اثر تیمار غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و میزان کادمیوم در بخش ریشه و بخش هوایی گیاه‌چه‌های آب‌تره در محیط کشت هوگلند.

Table 4- The effect of different concentrations of CdCl<sub>2</sub> treatment on the amount of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid and the amount of cadmium in root and aerial part of *Nasturium officinale* seedlings in Hogland culture medium.

کادمیوم (میلی مولار)	کلروفیل a (میلی گرم/گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم/گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم/گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی-گرم/گرم وزن تر)	کادمیوم ریشه (میکروگرم/گرم وزن خشک)	کادمیوم هوایی (میکروگرم/گرم وزن خشک)
۰	۸۰/۷۷±۰/۳ <sup>a</sup>	۱۶۷/۲۸۸±۴/۷۰ <sup>a</sup>	۲۷۰/۸۱±۰/۲۸ <sup>a</sup>	۷۹/۵۶±۲/۳۳ <sup>a</sup>	۰	۰
۱۰	۸۰/۷۷±۰/۳ <sup>a</sup>	۱۲۳/۶۰±۱/۰۴ <sup>a</sup>	۲۴۶/۸۷±۵/۷۲ <sup>b</sup>	۷۹/۱۲±۳/۱۳ <sup>ab</sup>	۶۹۳/۸±۱۴/۲۱ <sup>b</sup>	۶۸۷/۱±۱۱/۰۴ <sup>b</sup>
۵۰	۷۷/۵۶±۴/۹۴ <sup>b</sup>	۱۱۶/۰۱±۶/۲۰ <sup>b</sup>	۲۲۵/۴۹±۱۰/۲۶ <sup>c</sup>	۷۸/۱۹±۵/۰۸ <sup>ab</sup>	۷۳۲/۱±۱۲/۲۰ <sup>c</sup>	۸۱۲/۷±۶/۲۰ <sup>b</sup>
۱۰۰	۷۷/۰۸±۲/۴۴ <sup>b</sup>	۱۱۰/۹۸±۷/۲۷ <sup>b</sup>	۲۲۹/۱۹±۱۰/۳۶ <sup>c</sup>	۶۷/۸۴±۲/۶۳ <sup>ab</sup>	۸۷۰/۵۰±۱۷/۲۷ <sup>d</sup>	۸۹۰/۵۰±۷/۲۷ <sup>c</sup>
۳۰۰	۷۶/۵۷±۲/۹۶ <sup>b</sup>	۱۱۲/۰۵±۳/۴۲ <sup>c</sup>	۲۱۷/۶±۵/۳۲ <sup>c</sup>	۶۴/۴۷±۳/۷۷ <sup>ab</sup>	۹۳۵/۵±۱۰/۴۲ <sup>d</sup>	۹۰۰/۵±۱۳/۴۲ <sup>d</sup>
۵۰۰	۵۴/۴۱±۲/۵۵ <sup>c</sup>	۹۸/۰۱±۴/۱۰ <sup>d</sup>	۱۸۹/۷۸±۸/۰۱ <sup>e</sup>	۶۴/۳۷±۲/۹۳ <sup>ab</sup>	۹۵۸/۲±۱۸/۱۰ <sup>e</sup>	۹۵۱/۳±۱۴/۱۰ <sup>d</sup>

ستون‌های حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۴- آنالیز واریانس داده‌های مربوط به میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در تیمارهای مختلف کلرید کادمیوم

Table 2- Analysis of variance of effect of different treatments of CdCl<sub>2</sub> on photosynthetic pigments

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
کلرید کادمیوم	۱	۰/۰۹۷**	۰/۰۰۴*	۰/۱۴**	۰/۰۰۶**
خطا	۸	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱

\* در سطح کمتر از ۱ درصد معنی‌دار است. \*\* در سطح کمتر از ۵ درصد معنی‌دار است.

جدول ۵- آنالیز واریانس اثر متقابل کلرید کادمیوم بر میزان جذب کادمیوم تحت تاثیر تیمار کلرید کادمیوم در گیاه آب‌تره

Table 3- Analysis of variance of interaction of CdCl<sub>2</sub> on the amount of absorbed cadmium by *Nasturium officinale* seedlings in different concentrations of CdCl<sub>2</sub> treatments.

منابع تغییرات	درجه آزادی	کادمیوم بخش هوایی	کادمیوم ریشه
تیمار کلرید کادمیوم	۳	۰/۳۱۰۲**	۰/۰۱۱۴*
خطا	۱۶	۰/۰۶۲**	۰/۰۰۰۹*

\* در سطح کمتر از ۱ درصد معنی‌دار است. \*\* در سطح کمتر از ۵ درصد معنی‌دار است.



جدول ۶- مقایسه غلظت کادمیوم در محیط کشت هوگلند، اندام ریشه و بخش هوایی، فاکتور تجمع زیستی کادمیوم در ریشه و بخش هوایی و فاکتور انتقال کادمیوم از ریشه به بخش هوایی در گیاه آب تره.

**Table 4- Comparison of cadmium concentration in Hogland culture medium, root organ and aerial part, root and aerial part bioconcentration factor and cadmium transport factor from root to aerial part in *Nasturium officinale* seedlings.**

فاکتور انتقال از ریشه به بخش هوایی	فاکتور تجمع زیستی		غلظت کادمیوم (میکروگرم در گرم بافت خشک)		غلظت کادمیوم در محلول غذایی (میکرومولار)
	ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	
۰/۷۵	۰	۰	۰/۰۴	۰/۰۳	۰
۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵۰	۱۰
۱/۱۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۶	۰/۰۷۰	۵۰
۱/۱۴	۰/۰۰۷	۰/۰۰۸	۰/۰۷	۰/۰۸۰	۱۰۰
۱/۱۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۸	۰/۰۹۰	۳۰۰
۱/۱۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۹	۰/۱۰۰	۵۰۰

### بحث و نتیجه گیری

فتوستتزی، فلورسانس کلروفیل و جذب عناصر معدنی می‌شود (۲۰). به نظر می‌رسد که فلزات سنگین با کاهش ویسکوزیته و قابلیت ارتجاع دیواره سلولی رشد طولی ریشه را کاهش می‌دهند (۲۱).

نتایج حاضر نشان داد که تیمار کادمیوم سبب کاهش رنگیزه‌های فتوستتزی می‌شود که این نتایج با گزارش سایر محققان مشابه است (۲۲ و ۲۳). دیگر محققان نشان داده‌اند که تیمار کادمیوم سبب کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل در برخی از انواع علف‌های هرز می‌شود. انتقال کادمیوم به اندام‌های هوایی و انباشته شدن آن در سلول‌های برگ سبب تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان می‌شود. یکی از بارزترین این تغییرات، تغییر رنگ برگ‌ها است (۱۵). از طرفی دیگر تیمار کادمیوم میزان کاروتنوئید را در گیاهان کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد این کاهش به دلیل برهم کنش کادمیوم و یون منگنز در سلول‌های گیاهی باشد. برهم کنش کادمیوم و

فلزات سنگین از جمله مهم‌ترین آلاینده‌های اکوسیستم‌های آبی می‌باشند. ورود کادمیوم به منابع آبی ممکن است از منابع کشاورزی یا صنعتی باشد. کادمیوم یک عنصر ضروری برای رشد گیاه نیست، اما به طور محدود به جوانه‌ها انتقال می‌یابد. زمانی که گیاهان در معرض مقادیر سمی فلزات سنگین قرار می‌گیرند، مکانیسم‌های مولکولی، شیمیایی و فیزیکی که مسئول تحمل و سازگاری آن‌ها به تنش‌های محیطی است تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۹). نتایج حاضر نشان داد که تیمار کادمیوم سبب کاهش رشد در گیاه آب تره می‌شود. نتایج بدست آمده بیان‌گر آن است که با افزایش میزان کلرید کادمیوم در محیط کشت، میزان وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه کاهش می‌یابد. کاهش وزن اندام هوایی و زیرزمینی به عنوان اولین پاسخ فیزیولوژیک به عوامل تنش‌زای محیط رشد است. پیش از این نیز گزارش‌ها نشان داده‌اند که حضور کادمیوم در برگ‌ها سبب کاهش رشد و نمو،

به پیشنهاد این محققان گیاهان انباشته کننده به گیاهانی اطلاق می‌شود که فاکتور  $BCF$  در آن‌ها بالاتر از ۱ باشد. در تحقیق حاضر  $BCF$  برابر با  $1/8$  به دست آمده است که نشان‌دهنده توانایی گیاه آب‌تره در انباشتن کادمیوم می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که بتوان از این گیاه در رفع آلودگی آب از فلزات سنگین نظیر کادمیوم استفاده کرد. اگرچه باید توجه داشت که میزان جذب فلزات سنگین به گونه گیاهی، مرحله رشد گیاه و انتقال آن متفاوت است (۲۹). دیگر گزارش‌ها نیز نشان داده که آب‌تره توانایی جذب سایر فلزات سنگین نظیر کروم، کبالت و مس را دارد (۳۰).

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه گلستان به دلیل حمایت مالی این تحقیق نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

#### References

1. Antoniadis, N. and Alloway, B.J. 2001. Availability of Cd, Ni and Zn to rye grass in sewage sludge treated soils at different temperatures. *Water, Air and Soil Pollution, Vol. 132, pp. 201–204.*
2. Baryla, A., Carrier, P., Frank, F., Coulomb, C., Sahut, C., Havaux, M. 2001. Leaf chlorosis oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta, Vol. 212, pp. 696-709.*
3. Baszynki, T., Wajda, L., Krol, M., Wolinska, D., Krupa, Z., Tukendorf, A. 1980. Photosynthetic activities of cadmium-treated tomato plants. *Physiologia Plantarum, Vol. 48, pp. 365-370.*
4. Benavides, M.P., Gallego, S.M., Tomaro, M.L. 2005. Cadmium toxicity

یون منگنز سبب مهار انتقال الکترون در سطح کمپلکس شکستن آب شده و در نهایت سبب کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود (۲۳). از طرفی نشان داده شده که کشت گیاه آب‌تره در خاک حاوی غلظت‌های مختلف ۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک سبب کاهش بیوماس ریشه و برگ شده و برگ‌ها به تدریج زرد می‌شوند. در این تحقیق نیز رنگ گیاهچه‌ها قرمز شده که نشان‌دهنده تنش در این گیاهان است (۲۴). نتایج مشابهی توسط دیگر محققان در گیاه نعنای گزارش شده است (۲۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار کادمیوم سبب انباشتگی کادمیوم در بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاه آب‌تره می‌شود. تاکنون نتایج متفاوتی از انباشتگی کادمیوم در گیاه آب‌تره منتشر شده است. به عنوان مثال لی جین و همکاران در سال ۲۰۱۵ آب‌تره را در خاک حاوی غلظت‌های مختلف ۰ و ۲۰ و ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک کشت داده و نشان دادند که با افزایش میزان کادمیوم خاک، میزان این عنصر در ریشه و اندام هوایی گیاه افزایش می‌یابد. نتایج این محققان نشان داد در شرایطی که میزان کادمیوم خاک  $100 \text{ mg/kg}$  باشد میزان انباشتگی کادمیوم در بخش هوایی گیاه حدود  $214,18 \text{ mg/kg}$  خواهد بود (۲۶). اما نتایج دومان و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که گیاه آب‌تره پس از ۷۲ ساعت کشت در محیط هوگلند حاوی ۲ میلی‌مولار کلرید کادمیوم تنها قادر است  $78 \text{ mg/g}$  کادمیوم در خود انباشته کند. از نظر این محققان آب‌تره گیاه انباشته کننده کادمیوم نیست (۲۷). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش غلظت کلرید کادمیوم در محیط کشت هوگلند (از صفر تا ۵۰۰ میکرومولار) میزان کادمیوم در اندام‌های هوایی و ریشه به طور تدریجی افزایش یافته است. یکی از عواملی که می‌تواند به قضاوت در این مورد کمک کند استفاده از فاکتور  $BCF$  (Bioconcentration Factor) است (۲۸).

$$BCF = \frac{\text{غلظت فلز در گیاه (میکروگرم بر گرم وزن خشک)}}{\text{غلظت فلز در محیط کشت (میلی مولار)}}$$

12. Banuelos, G.S. and Meeks, D.W. 1990. Accumulation of selenium in plant grown on selenium-treated soil. *Journal Environment Quality*, Vol. 19, pp.722-777.
13. Kumar, P., Dushnekoy, V., Motto, H., Raskin, I. 1995. Phytoextraction- the use of plants to reove heavy metals from soils. *Environmental Science Technology*, Vol. 29, pp. 1232-1238.
14. Martins, L.L., Pedro Mourato, M. Ries, R., Carvalheiro, F., Almeida, A.M., Fevereiro, P., Cuypers, A., 2014. Responce to oxidative stress induced by cadmium and copper in tobacco plants (*Nicotiana tabacum*) engineered with the trehalose-6-phosphate synthase gene (*AtTPS1*). *Acta Physiology Plan*, Volt. 36, pp. 755-765.
15. John, R., P. Ahmad, K., Sharma, S. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemnapolyrrhiza*L. *Plant Soil Environment*. 54: 262–270.
16. Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, Vol. 24, pp. 1-15.
17. Sekabira, K., Oryem- Origa, H., Mutumba, G., Kakudidi, E., Basamba, T.A. 2011. Heavy metal phytoremediation by *Commelina benghalensis* (L) and *Cynodondactylon* (L) growing in Urban stream sediments. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 3, pp.133-142.
18. Cluis, C. (2004). Junk-greedy greens: phytoremediation as a new option for in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Vol.171, pp.21-34.
5. Swaddiwudhipong, W., Nguntra, N., Kaewnate, Y., Mahasakpan, P. Limpatanachote, P., Jeekeeree, W., Punta, B., Funkhiew, T., Phopueng, I.m. 2015. Human health effects from cadmium exposure. *Southeast Asian Journal Trop Med Public Health*, Vol.1,pp. 133-142.
6. Mozafarian, V. 2013. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of IRAN. Research Institute of Forest and Rangelands press. pp. 333-335 (*Persian*).
7. Salehi Sormaghi, M.H., 2010. Medicinal Plants. Doyaye Taghzieh press (*Persian*).
8. Broos, K., Beyens, H., Smolders, E. 2005. Survival of rhizobia in soil is sensitive to elevated zinc in the absence of the host plant. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol.37, pp.573–579.
9. Chaney, R.L. 1983. Plant uptake of inorganic waste constituents. In: Parr, J.F., Marsh, P.B., Kla, J.M. (Eds.), *Land Treatment of Hazardous Waste*. Noyes Data Corporation, Park Ridge, NJ: 50–76.
10. Kara, Y. 2005. Bioaccumulation of Cu, Zn, and Ni from the wastewater by treated *Nasturirium officinalis*. *International Journal of Science and Technology*, Vol.2, pp.63-67.
11. Duman, F., Cicek, M., Sezen, G. 2007. Seasonal changes of metal accumulation and distribution in common club-rush (*Schoenoplectuslacustris*) and common reed (*Phragmitesaustralis*). *Ecotoxicology*, Vol. 16, pp. 457– 463

- mycorrhiza fungi on the relation of plant growth, internal phosphorus concentration and phosphate analyses. *European Journal of Soil Science*, Vol.31, pp.655-672.
26. Li-Jin, L., Li, L., Miang-an, L., Xiao, Z., Dai-yu, Y. 2015. Cadmium accumulation characteristic emerged plant *Nasturtium Officinale*. *Resource and Environment in the Yangtze basin*, Vol. 4, pp.1-4.
27. Duman, F., Leblebici, Z., Aksoy, A. 2009. Growth and bioaccumulation characteristics of watercress (*Nasturtium officinale* R. BR.) exposed to cadmium, cobalt and chromium. *Chemistry Speciation and Bioavailability*, Vol.2, pp.256-264.
28. Shin, H.W., Sidharthan, M., Young, K.S. 2002. Forest fire ash impact on micro- and macroalgae in the receiving waters of the east coast of South Korea. *Mar. Pollution Bulletin*, Vol.45, pp. 203-209.
29. Deng, H., Ye, Z.H., Wong, M.H. 2004. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environment Pollution*, Vol. 132, pp. 29-40.
30. Zurayk, R., Sukkariyah, B., Baalbaki, R. 2001. Common hydrophytes as bioindicators of Ni, Cr and Cd pollution. *Water Air Soil Pollution*, Vol.127, pp. 373- 388.
- soil decontamination. *Biotechnology Journal*, Vol.2, pp. 61 – 67.
19. Nocito, F., Lancilli, C., Crema, B., Fourcroy, P., Davidian, J., Attilio Sacchi, G. 2006. Heavy Metal Stress and Sulfate Uptake in Maize Roots. *Plant Physiology*, Vol. 141, pp. 1138-1148.
20. Mishra, V.K., Tripathi, B.D. 2008. Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes. *Bioresource Technology*, Vol. 99, pp.7091-7097.
21. Ma, L. Q., Angela, L., Rao, G.N. 1997. Effect of incubation and phosphate rock on lead extractability and speciation in contaminated soils. *Journal Environment Quality*, Vol. 26, pp.801-807.
22. Ewaise, E.A. 1997. Effects of cadmium nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weed. *Biological Plantarum*, Vol. 39, pp.403-410.
23. Jeliaskova, E.A., Craker, L.E. Xing, B. 2003. Seed germination of anise, caraway, and fennel in heavy metal contaminated solutions. *Journal Herbs, Spices and Medicine Plants*, Vol. 10, pp. 83-93.
24. Ludevid, D. Hofte, H., Himelblau, E., Chrispeels, M.J. 1992. The expression pattern of the tonoplast intrinsic protein Y-TIP in *Arabidopsis thaliana* is correlated with cell enlargement. *Plant Physiology*, Vol.100, pp.1633 – 1639.
25. Stribley, D.P., Tinker, P.B., Snellgrove, R.C. 2006. Effect of vesicular