بررسی محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در سطوح مختلف کادمیوم خاک.

Study of foliar application sodium nitroprusside on quality and quantity characteristics of basil medicinal plant under different levels cadmium of soil.

مهسا وفایی[۱]، میثم اویسی[۲*]، محمد نصری[۳].

۱- گروه اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین، تهران - ایران.
۲- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین، تهران - ایران.
۳- مرکز تحقیقات فنآوری‌های نوین تولید غذای سالم، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، تهران - ایران.

*نویسنده مسوول مکاتبات:

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۲

چکیده

جهت بررسی اثر سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید و کادمیوم، بر رقم سبز ریحان، آزمایشی گلدانی در دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا در سال ۱۳۹۶ به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: سه سطح محلول‌پاشی سدیم نیتروپرووساید به میزان: صفر (شاهد محلول‌پاشی با آب خالص) N_1، ۵۰ میکرومولار N_2، ۱۰۰ میکرومولار N_3 و چهار سطح کادمیوم به مقدار:صفر (شاهد) C_1، ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک C_2، ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک C_3، ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک C_4 بود. نتایج تحقیق نشان داد که اثرات متقابل تیمارها بر صفات مورد بررسی معنی‌دار شد با افزایش کادمیوم از میزان کلروفیل برگ کاسته شد و در نهایت میزان آسیمیلاسیون کاهش یافت و وزن برگ کاسته شد. بالاترین ارتفاع بوته، وزن خشک برگ در بوته، درصد اسانس و عملکرد اسانس درصد متیل کاویکول و از تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروکساید سدیم و شاهد (N_3*C_1) به‌دست آمد و پایین‌ترین میزان ارتفاع بوته، وزن خشک برگ در بوته، پایداری غشای سیتوپلاسمی، درصد اسانس و عملکرد اسانس از تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1*C_4) حاصل شد. نتایج نشان داد با صرف نیترو پروکساید سدیم اثرات منفی تنش کادمیوم تا حدودی زیادی برطرف شد.

واژگان کلیدی: تنش عناصر سنگین، کادمیوم، نیتروپروکساید سدیم، ریحان، عملکرد اسانس.

مقدمه

آلودگی خاک و محصولات کشاورزی به عناصر سنگین، به‌دلیل پیشرفت صنایع و همچنین عدم استفاده صحیح از کودهای شیمیایی و دامی در زمین های کشاورزی، باعث نگرانی های زیادی از نظر کیفیت و امنیت این محصولات و سلامت انسان شده است (Geneva, 2003). از آنجایی که آلوده شدن محصولات کشاورزی با فلزات سنگین از یک طرف منجر به کاهش کیفیت محصولات کشاورزی و از طرف دیگر تهدیدی جدی برای سلامت انسان است، لذا از جنبه های زیست محیطی بسیار حائز اهمیت هستند (نعمت اله ثانی و همکاران، ۱۳۹۱). مفهوم تنش فلزات سنگین را حساسیت بـه غلظت های بالای فلزات که سبب صدمه بـه گیاه یا مرگ آن می‌شود، تعریف می‌کنند (Kafi *et al*., 2006). آلودگی فلزات سنگین به غلظت هایی بالاتر از حد خطرساز اطلاق می‌شود. حضور فلزات سنگین در منطقه ریزوسفر و ورود آنها به گیاه باعث کاهش رشد شده و متابولیسم سلولی را بر هم می‌زند؛ بنابراین روی فرایند های مهمی مانند انتقال آب، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، فتوسنتز و مقدار کلروفیل اثر منفی می گذارد (Vitoria *et al.*, 2015) با این حال برخی گیاهان بیش انباشت کننده که در خاک‌های آلوده با فلزات سنگین رشد می کنند، این توانایی را دارند که این فلزات را توسط ریشه جذب کرده وآنها رادر بخش‌های مختلف خود انباشته کنند (Marciol. *et al*., 2014). در میـان فلزات سـنگین، کـادمیوم نیـز دارای اهمیـت ویـژه‌ای است. کادمیوم ازجمله فلزات سنگین می‌باشد که امروزه به عنوان یک عامل مهم آلوده کننده محیط، با سمیت بسیار بالا برای حیوانات و گیاهان به‌شمار می‌آید. این عنصر در خاک از تحرک بالایی برخوردار است و در صورت حضور در محیط ریشه به راحتی جذب گیاه شده و به اندام‌های هوایی گیاه انتقال می‌یابد (Sanita di Toppi & Gabbrielli, 2003). در بررسی کادمیوم موجب کاهش عملکرد اسانس به‌میزان ۰/۴۹ لیتر در هکتار نسبت به شاهد گیاه ریحان شد. درصد متیل کاویکول و ای-سیترال در ریحان با کاربرد کادمیوم به‌ترتیب ۲/۹۷ و ۰/۳۶ درصد کاهش یافت. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در شرایط کاربرد کادمیوم کاهش یافت (مجنون حسینی، ۱۳۹۱).

تحقیقات متعددی نشان داد وقتی گیاهان در معرض تنش فلزات سنگین خصوصا کادمیوم قرار می گیرند وزن تر و خشک اندام‌های هوایی (Souza Rauser, 2011 &) خصوص برگ‌ها در آنها کاهش می‌یابد (Cheng & Huang, 2012).

خانواده نعناعیان (*Labiatea*) با ۲۲۰ جنس و نزدیک به ۴۰۰۰ گونه در تمام دنیا یکی از بزرگترین و مشخص ترین خانواده ها در میان خانواده های گل دار است (حسین پور و افشاری، ۱۳۹۴). یکی از گیاهان مهم دارویی و زراعی این تیره ریحان (*Ocimum basilicum L.*) است. ریحان گیاهی یک‌ساله است که به‌دلیل عطر، طعم فوق العاده و خواص درمانی مورد کشـــت و کار قرار می‌گیرد. در صنعت پزشکی از ماده موثره آن جهت درمان سردردهای عصبی، آرامش دهنده ی اعصاب، تب بر، درمان اسهال و ضد تهوع و استفراغ کاربرد زیادی دارد (مجنون حسینی، ۱۳۹۱). پیکر رویشی این گیاه حاوی اسانس به مقدار ۱/۵-۰/۵ درصد می‌باشد که به اسانس بازیلیک موسوم است. مهم ترین اجزاء اسانس عبارتند از: متیل کاویکول به مقدار ۵۵٪ و دیگر اجزاء آن شامل استراگول، لینالول، سینئول، اوژنول و غیره می‌باشد (حسین پور و افشاری، ۱۳۹۴).

نیتریک اکســـید به‌عنوان یک سیگنال مهم در فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه نقش دارد. درمراحل مربوط به رشد ونمو، شروع جوانه زنی، گلدهی، رسیدگی میوه ها وپیری اندام‌ها نقـــش دارد (Wieczorek *et al*., 2006). NOمی‌تواند به عنوان واسطه در عمل تنظیم کننده های رشد گیاهی و متابولیسم رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS)شرکت کند و در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که در انتقال پیام و پاسخ به تنش های زیستی و غیرزیستی نیز دخالت دارد (Del Rio *et al*., 2004). این ترکیب در تحریک تقسیم سلول، افزایش میزان کلروفیل و بسیاری ازاعمال دیگر سلول دخالت دارد (Beligni and Lamattina, 2001) و احتمالا از این طریق باعث افزایش فتوسنتز و تعداد میوه در بوته می شود. محققان تاثیر مثبت سدیم نیتروپروساید را در شرایط تنش فلزات سنگین گـــزارش کردند (Hsu and Kao, 2004). محلول‌پاشی نیتروپروکساید سدیم روی گیاهچه های برنج به بهبود روابط آبی گیاه و افزایش تحمل گیاه به تنش کمک می‌کند (Farooq *et al* ., 2009). در مقایسه پیش

تیمار سدیم نیتروپروساید و آرژنین بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گوجه تحت تنش کم آبی نشان دادند که تاثیر کاربرد SNP تاثیری بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی و قند محلول برگ نداشته است. احتمالا نقش NO در این میان ضعیف است و مسیر اصلی سوخت و ساز آرژنین را به طرف پلی آمین ها و پرولین است و از این طریق حفاظت خود را اعمال می‌کند (نصیبی و همکاران، ۱۳۹۰). برخی پژوهش هـا نشان دادند که NO با جانشینی اثر نور و یا شکست خواب بذر سبب افزایش جوانه زنی شـده اسـت(Besson-Bard *et al*., 2008).

این تحقیق با هدف بررسی تاثیرات سطوح مختلف نیتروپروساید بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک گیاه دارویی ریحان تحت سطوح مختلف آلودگی کادمیوم خاک صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی اثر سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید بر رقم سبز ریحان تحت تنش سطوح مختلف کادمیوم خاک، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی به صورت گلدانی در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامس واحد ورامین – پیشوا در سه تکرار انجام شد.

تیمارهای آزمایشی شامل:سه سطح محلول‌پاشی سدیم نیتروپرووساید صفر (شاهد محلول‌پاشی با آب خاص) (N_1)،۵۰ میکرومولار (N_2)، ۱۰۰ میکرومولار (N_3) و چهار سطح کادمیوم صفر (شاهد) (C_1)، ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک (C_2)، ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک (C_3)، ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک (C_4).

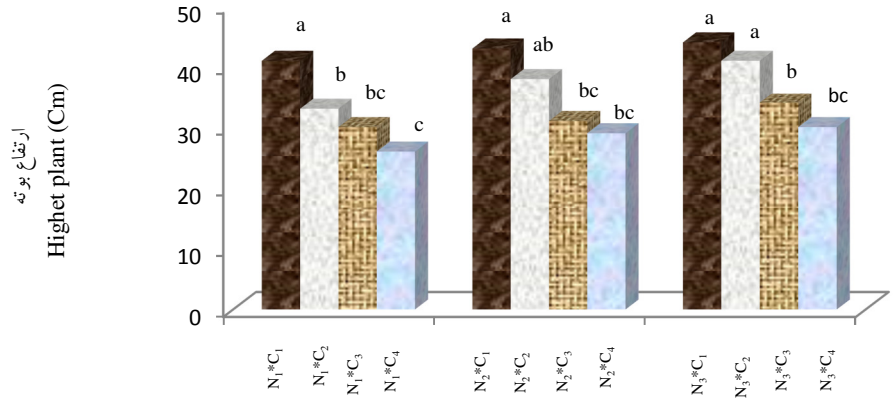
بذور به‌طور مستقیم به فاصله سه سانتی‌متر از یکدیگر و به عمق یک سانتی‌متر در گلدان‌ها کشت شدند. در این آزمایش مقادیر مختلف کادمیوم براساس تیمارهای مورد آزمایش محاسبه و قبل از کاشت با خاک گلدان‌ها مخلوط شدند. محلول‌پاشی بوته‌ها با سدیم نیتروپروساید پس از استقرار کامل بوته‌ها اعمال شد، به‌طوری‌که برگ‌های گیاه کاملا خیس شدند. به‌منظور بهبود جذب برگی سدیم نیتروپروساید، از تریتون X_{100} با غلظت ۰/۰۱ درصد استفاده شد. عملیات داشت شامل آبیاری گلدان‌ها، واکاری وتنک کردن درطول دوره رشد به‌موقع انجام شد. در طی دوران رشد صفات ذیل اندازه‌گیری شدند. به منظور تعیین ارتفاع بوته و تعداد بـــرگ بوته، پنج بوته به‌طور تصادفی انتخاب شدند و با متر بر حسب سانتی متر سنجیده شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک برگ، سه بوته انتخابی جدا شده و بعد از قراردادن در پاکت به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون، نمونه‌ها خشک شده و بر حسب گرم در بوته توزین شد. میزان پرولین برگ با استفاده از اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۱۵ نانومتر و روش ایریگون و همکاران(۱۹۹۳) اندازه‌گیری شد (Irigoyen *et al*., 1993). مقدار اسانس از ۱۰۰ گرم از برگ تازه ریحان هر تیمار با استفاده از دستگاه تقطیر کلونجر مدل فارماکوپه بریتانیا به مدت سه ساعت تعیین شد و پس از آبگیری حجم اسانس یادداشت گردید (حسین پور و افشاری، ۱۳۹۴). جهت تعیین درصد متیل کاویکول هر تیمار ابتدا استاندارد منتول به دستگاه تزریق شد تا با تعیین زمان تاخیر(RT) جای پیک متیل کاویکول روی طیف کروماتوگرافی به‌دست آمد. در نهایت به روش نرمال کردن میزان متیل کاویکول در اسانس تعیین گردید (حسین پور و افشاری، ۱۳۹۴). عملکرد اسانس از حاصلضرب عملکرد وزن خشک برگ در درصـد اسانس به‌دست آمد. پس از انتقال برگ‌ها به آزمایشگاه با استفاده از وسیلهٔ مخصوص از آنها دیسک‌هایی به مساحت تقریبی ۶ سانتی‌متر مربع تهیه شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت در شرایط تاریک آزمایشگاه پایداری غشای سیتوپلاسمی (Ec) هر لوله آزمایش توسط دستگاه EC متر اندازه گیری شد. اعداد حاصله را از پایداری غشای سیتوپلاسمی محلول شاهد (محلول مانیتول فاقد برگ) کسر گردید و میزان پایداری غشای سیتوپلاسمی برگ به‌دست آمد (Wieczorek *et al*., 2006). درپایان آزمایش؛ نتایج هریک از تیمارها بعد از تعمیم دادن به هکتار به کمک نرم افزار رایانه‌ای SPSS تجزیه واریانس شد و مقایسه میانگین داده ها باکمک آزمون چند دامنه ای دانکن درسطوح یک و پنج درصد صورت پذیرفـــت و نمودارها توسط برنامه رایانه‌ای Excel ترسیم گردید.

نتایج و بحث:

ارتفاع بوته

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی سطوح مختلف کادمیوم و اثرات متقابل تیمار محلول‌پاشی

نیتروپروساید سدیم و کادمیوم بر ارتـــفاع بوته تاثیر معنی‌داری داشت و اختلافات به وجود آمده از نظر آماری در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود. اما اثرات اصلی تیمار محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم هر چند موجب بروز اختلافاتی در ارتفاع بوته شد؛ اما این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبود و همگی در یک کلاس آماری قرار گرفتند (جدول یک). براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم بیش‌ترین ارتفاع بوته را از تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و شاهد (N_3*C_1) با مـــــتوسط ۴۳/۸ سانتـــی‌متر به دست آمـــد که با تیمارهای (N_2*C_1)، (N_1*C_1)، (N_3*C_1) و (N_3*C_2) اختلاف معنی‌داری نداشتند و کمترین میزان ارتفاع بوته از تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1*C_4) بامیانگین ۲۶/۵ سانتی‌متر حاصل شد که اختلاف ۳۹/۵ درصدی بین تیمار a و تیمار c مشهود بود (نمودار یک).



نمودار ۱- اثرات متقابل تیمار های محلول‌پاشی نیتروپروساید بر ارتفاع بوته تحت تاثیر تیمار تنش کادمیوم

Figure 1 - Interactions of SNP foliar application on plant height under cadmium stress.

N_1 شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص)، N_2 محلول‌پاشی ۵۰ میلی مولار، N_3 محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی مولار، C_1 شاهد (عدم مصرف کادمیوم)، C_2 مصرف Mg.Kg ۱۰ کادمیوم، C_3 مصرف Mg.Kg ۲۰ کادمیوم ، C_4 مصرف Mg.Kg ۳۰ کادمیوم.

N_1: Control., N_2: 50µmolSNP., N_3: 100µmolSNP& C_1:Control., C_2: 10 Mg.Kg Cd., C_3: 20 Mg.Kg Cd., C_4: 30 Mg.Kg Cd.

نتایج به دست آمده از اعمال تیمار کادمیوم و نیتروپروساید نشان داد که با افزایش سطوح کادمیوم میزان ارتفاع بوته کاهش یافت، اما با محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم به دلیل جذب سطحی کادمیوم در خاک و عدم انتقال آن به ریشه گیاه ریحان، از اثرات تجمعی آن کاسته شد، کادمیوم با توجه به سمی بودنش باعث تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود و می‌تواند باعث بروز نشانه‌های مختلف از جمله کلروز برگ، پوسیدگی ریشه و مهار رشد شود (Jarup, 2003). در واقع نیتروپروساید دامنه تحمل گیاه ریحان را به کادمیوم را افزایش داد که می‌توان به دلیل کاهش فعالیت اکسیداتیو در گیاه دانست.

جدول ۱- تجزیه واریانس سطوح مختلف محلول‌پاشی نیتروپروساید بر ارتفاع بوته، وزن خشک برگ و پایداری غشای سلولی تحت شرایط تنش کادمیوم.

Table 1- Analysis of variance of different levels of SNP foliar application on plant height, dry weight leaf and Ec under cadmium stress conditions.

			M.S		میانگین مربعات
S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	وزن خشک برگ D. w. leaf	پایداری غشای سلولی Ec
Block	بلوک	2	8165.2^{ns}	20539.8 ^{ns}	21.52 ^{ns}
SNP Foliar	محلول پاشی نیتروپروساید	2	12453.1^{ns}	419825.8 *	94.78*
Cd	مصرف کادمیوم	3	111236.6*	381968.6 *	102.91*
SNP *C	نیتروپروساید* کادمیوم	9	2401085.8**	783902.1 **	1452.12**
Error	خطا	24	20313.1	65198.2	16.13
Cv(%)	ضریب تغییرات		11.9	7.6	5.83

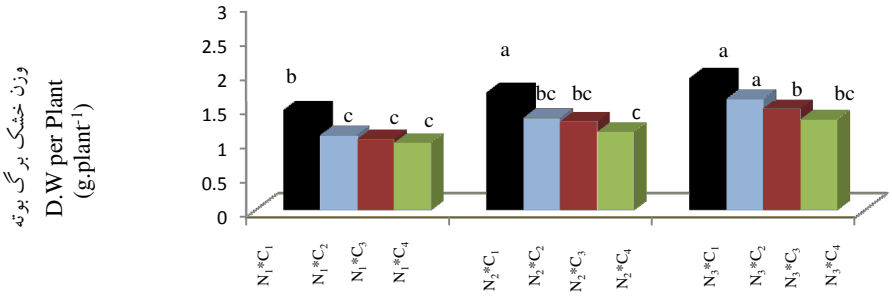
ns، * و** به ترتیب بیانگر غیر معنی‌داری و اختلاف معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد می باشند.

Ns, * and **: Non significant, Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

وزن خشک برگ در بوته

نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات اصلی محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم خاک و اثرات متقابل تیمارها تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک برگ در بوته گذاشت و اختلافات به‌وجود آمده از نظر آماری در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول یک).

نتایج مقایسه میانگین اثرات متـــقابل نشان داد بیش‌ترین وزن خشک برگ در بوته در تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و شاهد (N_3*C_1) با متوسط ۱/۹۴ گرم در بوته مشاهده شد که با تیمار-های (N_2*C_1) و (N_3*C_2) اختلاف معنی‌داری نداشت و هر سه تیمار در کلاس آماری a جای گرفتند و کم‌ترین میزان وزن خشک برگ در بوته از تیمار شاهد (محلول-پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1*C_4) با میانگین ۱/۱۴ گرم در بوته حاصل شد و اختلاف ۴۱/۲ درصدی بین تیمار a و تیمار c مشاهده شد (نمودار دو). هر چه میزان نیتروپروساید سدیم بیش تر شد از میزان اثرات منفی کادمیوم کاسته شد.



نمودار ۲- اثرات متقابل تیمارهای محلول‌پاشی نیتروپروساید بر وزن خشک برگ در بوته تحت تاثیر تنش کادمیوم.

Figure 2. Interactions of SNP foliar application on dry weight leaf under cadmium stress.

N_1 شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص)، N_2 محلول‌پاشی ۵۰ میلی مولار، N_3 محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی مولار، C_1 شاهد (عدم مصرف کادمیوم)، C_2 مصرف Mg.Kg ۱۰ کادمیوم، C_3 مصرف Mg.Kg ۲۰ کادمیوم ، C_4 مصرف Mg.Kg ۳۰ کادمیوم.

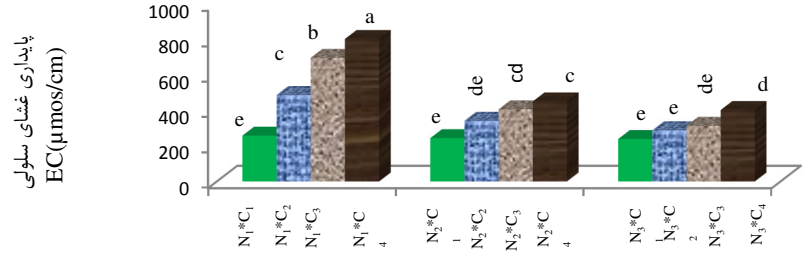
N_1: Control., N_2: 50µmolSNP., N_3: 100µmolSNP& C_1:Control., C_2: 10 Mg.Kg Cd., C_3: 20 Mg.Kg Cd., C_4: 30 Mg.Kg Cd.

در این تحقیق کادمیوم از طریق سازوکار پتانسیل اسمزی وارد سلول‌های گیاهی شده و باعث کنترل و کاهش وزن خشک برگ گردید، اما کاربرد نیتروپروساید سدیم موجب کاهش اثرات منفی کادمیوم شد و از کاهش شدید وزن خشک برگ در گیاه جلوگیری نمود (نمودار دو). پژوهشگران عنوان نمودند کاربرد نیتروپروساید سدیم به‌صورت محلول‌پاشی سبب افزایش حداکثر شاخص سطح برگ و همچنین دوام شاخص سطح برگ شد و از این طریق کارایی مصرف آب افزایش یافت. همچنین با کاهش بسته‌شدن روزنه‌ها و تعرق در شرایط تحت تنش توانست از اتلاف آب گیاه جلوگیری کند و و در نهایت میزان ماده فتوسنتزی افزایش یابد و وزن تر و خشک برگ افزایش یابد (Mata and Lamattina, 2001). محققان گزارش کردند کاهش رشد ممکن است به دلیل کاهش میزان فتوسنتز باشد نتایج نشان داد که قرارگیری گیاهان در معرض غلظت‌های بالای فلزات سنگین موجب کاهش میزان فتوسنتز و بیوسنتز کلروفیل می‌شود. آسیب به فتوسنتز اساسا در اثر کاهش کلروفیل و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها رخ می‌دهد (Mathe–Gaspar & Anton., 2002). تحقیقات متعددی نشان داد وقتی گیاهان در معرض تنش فلزات سنگین خصوصا کادمیوم قرار می‌گیرند وزن تر و خشک اندام‌های هوایی (Rauser, 2011 & Souza) به‌خصوص برگ‌ها کاهش می یابد (Cheng & Huang, 2012) که در این تحقیق کاملا مشهود است.

پایداری غشای سلولی سیتوپلاسمی EC

جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم خاک و اثرات متقابل تیمارها، تاثیر معنی‌داری بر پایداری غشای سلولی غشای سیتوپلاسمی EC داشت و اختلافات به‌وجود آمده از نظر آماری در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار شد (جدول یک).

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها نشان داد، حداکثر میزان پایداری غشای سلولی غشای سیتوپلاسمی EC از تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1*C_4) با متوسط ۸۰۴/۹ (µmos/cm) حاصل شد و حداقل میزان پایداری غشای سلولی غشای سیتوپلاسمی EC در تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و شاهد (N_3*C_1) با میانگین ۲۳۷/۶ (µmos/cm) مشاهده گردید (نمودار سه). استفاده از نیتروپروکساید موجب افزایش پایداری غشای سیتوپلاسمی شده و از برون ریزی مواد و مرگ سلولی در شرایط تنش کادمیوم جلوگیری نموده است که می توان علت آن را نقش NO به عنوان واسطه در عمل تنظیم کننده های رشد گیاهی و متابولیسم رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) دانست، در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که NO در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز دخالت دارد (Del Rio *et al*., 2004).



نمودار ۳- اثرات متقابل تیمارهای محلولپاشی نیتروپروساید بر پایداری غشای سلولی تحت تاثیر تنش کادمیوم

Figure 3. Interactions of SNP foliar application on Ec under cadmium stress

N_1 شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص)، N_2 محلول‌پاشی ۵۰ میلی مولار، N_3 محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی مولار، C_1 شاهد (عدم مصرف کادمیوم)، C_2 مصرف Mg.Kg ۱۰ کادمیوم، C_3 مصرف Mg.Kg ۲۰ کادمیوم ، C_4 مصرف Mg.Kg ۳۰ کادمیوم.

N_1: Control., N_2: 50µmolSNP., N_3: 100µmolSNP& C_1:Control., C_2: 10 Mg.Kg Cd., C_3: 20 Mg.Kg Cd., C_4: 30 Mg.Kg Cd.

جدول ۲- تجزیه واریانس سطوح مختلف محلول‌پاشی نیتروپروساید بر درصد اسانس برگ، عملکرد اسانس، درصد متیل کاویکول و پرولین برگ تحت شرایط تنش کادمیوم.

Table 2- Analysis of variance of different levels of SNP foliar application on leaf essential oil percentage, essential oil yield, methyl caviar percentage and proline under cadmium stress conditions.

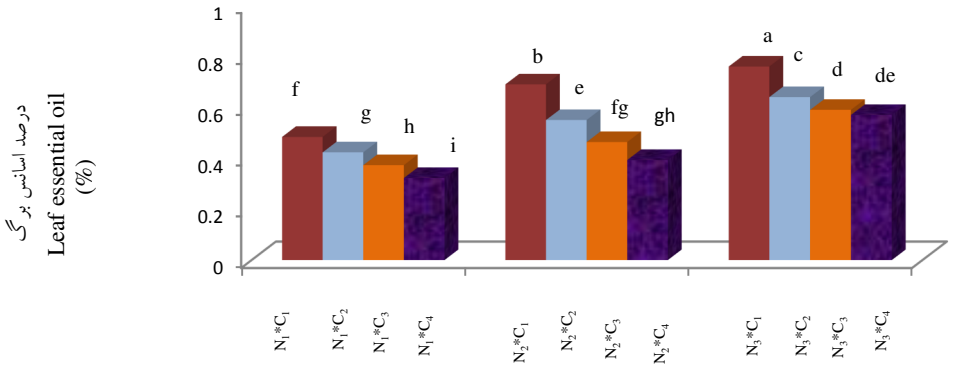
			میانگین مربعات M.S			
S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی df	اسانس برگ Essential oil	عملکرد اسانس Essential oil Yield	متیل کاویکول Methyl Kavicol	پرولین برگ Proline
Block	بلوک	2	0.00022 ^{ns}	4671.2 ^{ns}	0.0008^{ns}	0.0052 ^{ns}
Foliar SNP	محلول‌پاشی نیتروپروساید	2	0.013 *	457381.19**	0.001 *	0.5435**
Cd	مصرف کادمیوم	3	0.0124 *	386730.21**	0.0029**	0.7158**
SNP *C	نیتروپروساید* کادمیوم	9	0.0296 **	585489.04**	0.0051**	0.842**
Error	خطا	24	0.0016	18984.56	0.0007	0.068
Cv(%)	ضریب تغییرات		6.65	9.32	5.48	8.39

ns، * و** به ترتیب بیانگر غیر معنی‌داری و اختلاف معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد می باشند.

Ns, * and **: Non significant, Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

درصد اسانس برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم خاک و اثرات متقابل تیمارها، بر درصد اسانس برگ در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول دو). براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها، حداکثر میزان درصد اسانس برگ به تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و شاهد (N_3*C_1) با متوسط ۰/۷۶ درصد تخصیص یافت و در کلاس آماری a جای گرفت و حداقل میزان درصد اسانس برگ در تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1*C_4) با میانگین ۰/۳۲ درصد مشاهده شد (نمودار چهار).



نمودار ۴- اثرات متقابل تیمارهای محلولپاشی نیتروپروساید بر درصد اسانس برگ تحت تاثیر تنش کادمیوم.

Figure 4 - The interaction of SNP foliar application treatments on leaf essential oil percentage under cadmium stress.

N_1 شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص)، N_2 محلول‌پاشی ۵۰ میلی مولار، N_3 محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی مولار، C_1 شاهد (عدم مصرف کادمیوم)، C_2 مصرف Mg.Kg ۱۰ کادمیوم، C_3 مصرف Mg.Kg ۲۰ کادمیوم ، C_4 مصرف Mg.Kg ۳۰ کادمیوم.

N_1: Control., N_2: 50µmolSNP., N_3: 100µmolSNP& C_1:Control., C_2: 10 Mg.Kg Cd., C_3: 20 Mg.Kg Cd., C_4: 30 Mg.Kg Cd.

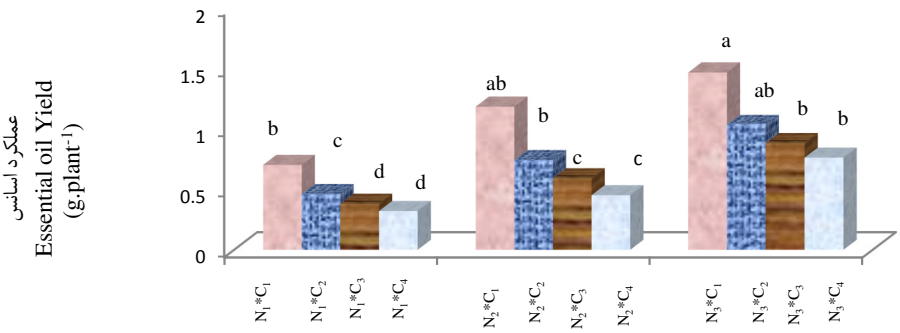
اختلال در اجرای فرایند تنفس و تثبیت نیتروژن از دیگر اثرات منفی کادمیوم است (اسفندیاری و همکاران، ۱۳۸۸). افزون بر این، تثبیت نیتروژن منجر به تولید آمونیوم و نیترات شده که در نهایت به کمک آنزیم‌های ترانس آمیناسیون، گروه آمین لازم برای تبدیل اسیدهای آستنی به اسیدهای آمینه را فراهم می‌آورد. کادمیوم مانع از فعالیت آنزیم نیتروژناز شده و به این ترتیب تثبیت نیتروژن را کاهش می‌دهد. بنابراین اختلال در اجرای این

فرایند مانع تأمین کافی و به‌موقع بیومولکول‌های حیاتی سلول خواهد شد که برآیند آن که می تواند باعث کاهش میزان تولید اسانس در گیاهان دارویی گردد. نتایج این تحقیق نشان داد کادمیوم موجب کاهش درصد اسانس ریحان گردید ولی محلولپاشی نیتروپروساید تا حدود زیادی اثرات منفی تنش کادمیوم را خنثی کرد و میزان درصد اسانس از ۰/۳۲ درصد در تیمار N_1C_3 به ۰/۵۷ درصد در تیمار N_3C_3 رسید (نمودار چهار).

عملکرد اسانس

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات ساده محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم خاک و اثرات متقابل تیمارها تاثیر معنی‌داری بر عملکرد اسانس گذاشت و اختلافات به‌وجود آمده از نظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول دو).

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم نشان داد بالاترین میزان عملکرد اسانس از تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و شاهد (N_3*C_1) با متوسط ۱/۱۲ گرم در بوته مشاهده شد که با تیمار-های (N_2*C_1) و (N_3*C_2) اختلاف معنی‌داری نداشت و هر سه تیمار در کلاس آماری a جای گرفتند و پایین‌ترین میزان عملکرد اسانس از تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1*C_4) با میانگین ۰/۳۲ گرم در بوته مشاهده شد و اختلاف ۷۱/۴ درصدی بین تیمار a و تیمار d وجود داشت (نمودار پنج).



نمودار ۵- اثرات متقابل تیمارهای محلولپاشی نیتروپروساید بر عملکرد اسانس تحت تاثیر تنش کادمیوم.

Figure 5. Interactions of SNP foliar application treatments on essential oil yield under cadmium stress.

N_1 شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص)، N_2 محلول‌پاشی ۵۰ میلی مولار، N_3 محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی مولار، C_1 شاهد (عدم مصرف کادمیوم)، C_2 مصرف Mg.Kg ۱۰ کادمیوم، C_3 مصرف Mg.Kg ۲۰ کادمیوم ، C_4 مصرف Mg.Kg ۳۰ کادمیوم.

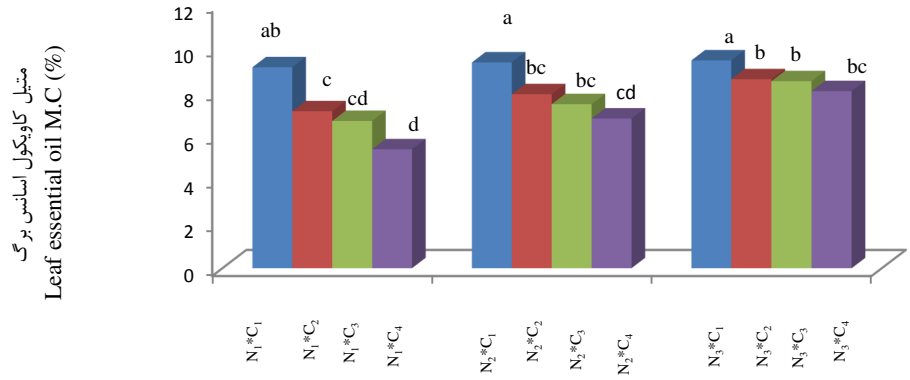
N_1: Control., N_2: 50µmolSNP., N_3: 100µmolSNP& C_1:Control., C_2: 10 Mg.Kg Cd., C_3: 20 Mg.Kg Cd., C_4: 30 Mg.Kg Cd.

نتایج تحقیقات نشان داد که تنش کادمیوم موجب کاهش عملکرد اندام هوایی در گیاهان می‌شود بر اساس نظر مینویی و همکاران (۱۳۸۷) تعداد کلروپلاست و تیلاکوئیدهای موجود در آن در مقادیر ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم در مقایسه با شاهد کاهش داشت. در حالی‌که ساختار بقیه اندامک‌ها تغییر چندانی نداشت. اما در مقادیر بالاتر از این میزان، ساختار اندامک‌ها غیرطبیعی شده و تغییر نشان داد که می‌تواند دلیل محکمی بر کاهش تولید ماده خشک به‌شمار آید که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد از آنجایی که عملکرد اسانس برآیند درصد اسانس در عملکرد وزن خشک است تحت تاثیر منفی کادمیوم قرارگرفت و کاهش ۵۴ درصدی داشت اما محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم موجب کاهش معنی‌دار اثرات منفی کادمیوم گردید (نمودار پنج).

درصد متیل کاویکول اسانس برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم خاک و اثرات متقابل تیمارهای محلول پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح کادمیوم خاک تاثیر معنی-داری بر درصد متیل کاویکول اسانس برگ داشت و اختلافات به‌وجود آمده از نظر آماری در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول دو).

براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم، حداکثر میزان درصد متیل کاویکول اسانس برگ از تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و شاهد (N_3*C_1) با متوسط ۹/۴۶ درصد حاصل شد که با تیمارهای (N_2*C_1), (N_1*C_1) اختلاف معنی‌داری نداشت و حداقل میزان درصد متیل کاویکول اسانس برگ در تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1*C_4) با میانگین ۵/۳۸ درصد مشاهده شد (نمودار شش).



نمودار ۶- اثرات متقابل تیمارهای محلولپاشی نیتروپروساید بر درصد متیل کاویکول اسانس برگ تحت تاثیر تنش کادمیوم

. Figure 6. Interaction of SNPfoliar application treatments on the percentage of Methyl Kavicolunder cadmium stress.

N_1 شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص)، N_2 محلول‌پاشی ۵۰ میلی مولار، N_3 محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی مولار، C_1 شاهد (عدم مصرف کادمیوم)، C_2 مصرف Mg.Kg ۱۰ کادمیوم، C_3 مصرف Mg.Kg ۲۰ کادمیوم ، C_4 مصرف Mg.Kg ۳۰ کادمیوم.

N_1: Control., N_2: 50µmolSNP., N_3: 100µmolSNP& C_1:Control., C_2: 10 Mg.Kg Cd., C_3: 20 Mg.Kg Cd., C_4: 30 Mg.Kg Cd.

طی تحقیقی کادمیوم موجب کاهش عملکرد اســـانس به‌میزان ۰/۴۹ لیتر در هکتار نسبت به شاهد در گیاه ریحان شد. درصد متیل کاویکول و ای-سیترال در ریحان با کاربرد کادمیوم به‌ترتیب ۲/۹۷ و ۰/۳۶ درصد کاهش یافت (مجنون حسینی، ۱۳۹۱)؛ که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

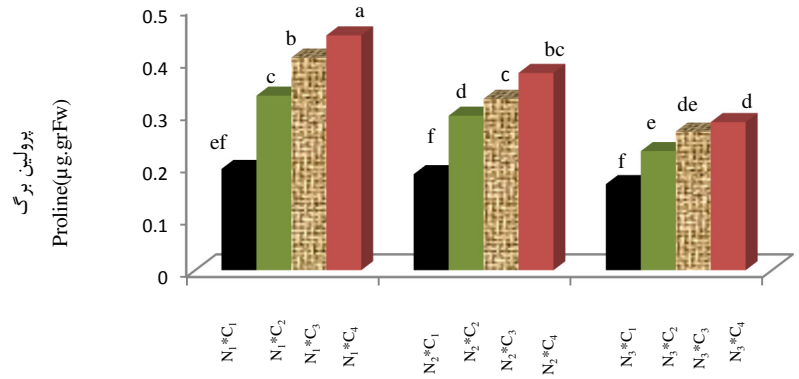
پرولین برگ

جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات ساده محلول-پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم خاک و اثرات متقابل تیمارهای محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح کادمیوم خاک بر پرولین برگ تاثیر معنی‌داری داشت و اختلافات به‌وجود آمده از نظر آماری در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول دو).

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار محلول‌پاشی نیتروپروساید سدیم و سطوح مختلف کادمیوم نشان داد، حداکثر میزان پرولین برگ از تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1*C_4) با متوسط ۰/۴۴۸ (µg.grFw) حاصل شد و حداقل میزان پرولین برگ در تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و شاهد (N_3*C_1) با میانگین ۰/۱۶۸ (µg.grFw) مشاهده گردید (نمودار هفت).

سمیت کادمیوم در گیاه ناشی از واکنش این عنصر با گروه سولفیدریل موجود در ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌هاست

(علومی و منوچهری کلانتری، ۱۳۸۲). تنش فلزات سنگین می‌تواند موجب سمیت یونی، تنش اسمزی شود که منجر به پراکسیداسیون تدریجی لیپید، اکسیداسیون پروتئین‌ها می‌شود (Tanou *et al*., 2009). کادمیوم همچنین باعث افزایش میزان پرولین در گیاه اسفناج باغی گردید (Nedjimi and Daoud, 2009). خسارت کادمیوم به پروتئین‌ها هم، شامل تغییرات اسیدهای آمینه در جایگاه های ویژه، قطعه قطعه شدن زنجیر پپتیدی، تغییر بار الکتریکی و در نهایت مستعد شدن پروتئین برای پروتئولیز گزارش شده است (Noctor, and Foyer, 1998). نتایج این تحقیق نشان داد تنش کادمیوم موجب تجزیه پروتئین به اسید آمینه و تولید پرولین جهت افزایش پایداری غشای سیتوپلاسمی و فشار اسمزی درون سلول گردید (Nedjimi and Daoud, 2009). کاربرد نیتروپروساید سدیم موجب کاهش اثرات منفی تنش کادمیوم گردید و میزان پرولین در تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی مولار نیتروپروساید سدیم و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_3C_4) ۳۷ درصد نسبت به تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص) و مصرف ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم در خاک (N_1C_4) کاهش یافت.



نمودار۷- اثرات متقابل تیمارهای محلولپاشی نیتروپروساید بر پرولین برگ تحت تاثیر تنش کادمیوم

Figure 7. Interaction of SNP foliar application treatments on proline under cadmium stress.

N_1 شاهد (محلول‌پاشی با آب خالص)، N_2 محلول‌پاشی ۵۰ میلی مولار، N_3 محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی مولار، C_1 شاهد (عدم مصرف کادمیوم)، C_2 مصرف Mg.Kg ۱۰ کادمیوم، C_3 مصرف Mg.Kg ۲۰ کادمیوم ، C_4 مصرف Mg.Kg ۳۰ کادمیوم.

N_1: Control., N_2: 50µmolSNP., N_3: 100µmolSNP& C_1:Control., C_2: 10 Mg.Kg Cd., C_3: 20 Mg.Kg Cd., C_4: 30 Mg.Kg Cd.

نتیجه گیری کلی

نتایج نشان داد نیتروپروساید سدیم دامنه تحمل گیاه ریحان را به کادمیوم را افزایش داد که علت را می‌توان به‌دلیل کاهش فعالیت اکسیداتیو در گیاه دانست، ارتفاع بوته افزایشی ۳۹ درصدی، بین تیمارهای اول و آخر نشان داد. با افزایش میزان کادمیوم از ارتفاع بوته و بالطبع آن تعداد برگ و وزن ویژه و وزن خشک برگ کاسته شد. تحقیقات متعددی نشان داد وقتی گیاهان در معرض تنش فلزات سنگین خصوصا کادمیوم قرار می‌گیرند وزن تر و خشک اندام‌های هوایی (Souza & Rauser, 2011) به‌خصوص برگ‌ها کاهش می‌یابد (Cheng & Huang, 2012) که در این تحقیق کاملا مشهود است. با افزایش میزان کادمیوم موجود در خاک از درصد اسانس برگ ریحان کاسته شد و از ۰/۶۴ به ۰/۴۲ درصد رسید، اما محلول‌پاشی نیتروپروکساید سدیم باعث افزایش ۰/۱۹ درصدی میزان اسانس برگ گردید، اثرات متقابل تیمارها نشان داد تحت تاثیر نیتروپروکسایدسدیم پایداری غشای سیتوپلاسمی در بالاترین میزان مصرف کادمیوم خاک نسبت به تیمار عدم مصرف نیتروپروکساید سدیم افزایش داشته که نشانگر کاهش اکسیژن آزاد و به‌دنبال آن

کاهش بیومارکر تخریب در سلول گیاهی است. مصرف کادمیوم باعث افزایش پرولین برگ شد که نشاندهنده آماده باش گیاه در حالت تنش و افزایش تحمل سلولی و افزایش میزان تنظیم اسمزی است ولی با کاربرد نیتروپروکساید سدیم از میزان پرولین برگ کاسته شد که نقش این ماده را در افزایش تحمل گیاه در برابر تنش را مشخص می‌کند.

منابع مورد استفاده **References**

اسفندیاری، ع.، محبوب، س.، شکاری، ف. ۱۳۸۸. اصول فیزیولوژی گیاهی (جلد اول). انتشارات عمیدی، تبریز.

حسین پور، م. و افشاری، ح. ۱۳۹۴. بررسی سطوح مختلف کادمیوم و سرب بر برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) در شرایط شوری. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی.۳(۲):۶۴-۵۰.

مجنون حسینی، ن. ۱۳۹۱. زراعت برخی از گیاهان دارویی و ادویه‌ای. انتشارات جهاد دانشگاهی تهران. ۲۵۰ ص.

مینویی، س.، مینایی تهرانی، د.، سمیعی، ک.، فریور، ش. ۱۳۸۷. مطالعه تغییرات ماکروسکوپی و میکروسکوپی تأثیر فلز کادمیوم بر گیاه گندمی (*Chlorophytumcomosum*). مجله زیست شناسی ایران، جلد۲۱، ص ۷۴۷-۷۳۷.

نصیبی، ف. ۱۳۹۰ . بررسی اثر غلظت‌های متفاوت نیتروپروساید سدیم (SNP) در تخفیف صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه گوجه فرنگی، مجله زیست شناسی گیاهی، شماره ۹ ، ۶۳-۷.

نعمت اله ثانی، ر.، حسن پور، ا. و ابوطالبی، ع.ا. ۱۳۹۱. غلظت ازت و فلزات سنگین (سرب، مس، کادمیوم) در سبزیجات برگی در شرایط کشت بدون خاک "، وبلاگ مهندسی کشاورزی (کشت‌های گوناگون).

Beligni, M.V., and Lamattina, L. 2001. Nitric oxide protects against cellular damage produced by Methyl viologen herbicides in potato plants. Nitric Oxide 3: 199-208.

Besson-Bard, C., Courtois, A., Gauthier, A., Dahan, J., Dobrowolska, G., Jeandroz, S., Pugin, A., and Wendehenne, D. 2008. Nitric oxide in plants: production and cross-talk with Ca^{2+} signalling. Molcular Plant. 1: 218-228.

Cheng, S., Huang, C. 2012. Influence of cadmium on growth of root vegetable and accumulation of cadmium in the edible root. International Journal Apply Science Engineering. 24, 243-252.

Del Rio, L.A., Corpas, F.J., and Barroso, J.B. 2004. Nitric oxide syntheses activity in plants. Photochemistry 65: 783- 792.

Geneva, A. 2003 ''World Health Organization (WHO). Guidelines for Drinking Water Quality''. 3rd ed. World Health Organization.

Farooq, M., Basra, S.M.A., Wahid, A., and Rahman, H. 2009. Exogenously applied nitric oxide enhance the drought tolerance in fine grain aromatic Rice (*Oryza sativa* L.). Agronomy and Science. 195: 254-261.

Hsu, Y.T., and Kao, Ch.H. 2004. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. Plant Growth Regulation 42: 227-238.

Jarup, L. 2003. Hazard of heavy metal contamination. Braz. Med. Bull. 68:182 - 188.

Kafi, M., Iami, A.L., and Ahmadi, M. 2006. Salinity effect on germination properties Kochia scopari .Asiaj. Plant Sci, 5: 745- 750.

Marciol, L., Assolari, S., Sacco, P. 2014. Phyto extraction of heavy metals by Canola (*Raphanus sativus*) grown on multi contaminated soil. Environmental pollution. 173, 21-24.

Mata, G.C., and Lamattina, L. 2001. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. Plant Physiology. 126: 1196-1204.

Mathe–Gaspar, G., Anton, A. 2002. Heavy metal uptake by two radish varieties. Acta Biologica Szegediensis. 46, 113-114.

Nedjimi, B., and Daoud, Y. 2009. Cadmium accumulation in Atriplex halimus subsp. Schweinfurthii and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. Flora 204: 316-324.

Noctor, G., and Foyer, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biol. 49: 249-279.

Sanita di Toppi, L., Gabbrielli, R. 2003. Response to cadmium in higher plants. Environ. Exp. Bot. 45, 105-130.

Souza, J.F., Rauser, W.E. 2011. Maize and radish sequester excess cadmium and zinc in different ways. Plant sci. 165, 1009 -1022.

Tanou, G., Molassiotis, A., and Diamantidis, G. 2009. Induction of reactive oxygen species and necrotic death-like destruction in strawberry leaves by salinity. Environ. Exp. Bot. 65: 270-281.

Vitoria, A.P., Cunha, M.Da., Azevedo, R.A. 2015. Ultra structural changes of Radish leaf exposed to cadmium. Environ. Exp. Bot. 98, 47-52.

Wieczorek, J.F., Milczarek, G., Arasimovicz, M., and Ciszewski, A. 2006. Do nitric oxide donors mimic endogenous No related response in plants. Plabta. 224: 1363-1372.