

بررسی پاسخ فیزیولوژیک و توان گیاه‌پالایی سرخارگل (*Echinacea purpurea*) در خاک آلوده به کادمیم^۱

Investigation of Physiological Response and Phytoremediation ability of *Echinacea purpurea* in Cadmium Contaminated Soil

سلیم حیدری، رضا فتوحی قزوینی*، محسن زواره و محسن کافی^۲

چکیده

کادمیم یک فلز سنگین آلاینده خاک و آب است. جهت بررسی توانایی تحمل و پالایش کادمیم خاک به وسیله گیاه سرخارگل، آزمایشی در قالب طرح به طور کامل تصادفی و در شرایط گلخانه‌ای و در گلدان‌های محتوی خاک آلوده به غلظت‌های صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میلی‌گرم کادمیم نیترات ($Cd(NO_3)_2$) در کیلوگرم خاک طراحی گردید. اندازه‌گیری جذب کادمیم توسط ریشه و اندام هوایی نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم، جذب توسط گیاه افزایش (شاخص تجمع) و توانایی انتقال کادمیم از ریشه به اندام هوایی (شاخص انتقال) کاهش نشان داد. افزایش کادمیم سبب کاهش ۱۳، ۱۵، ۳۷ و ۱۹ درصدی تعداد برگ، طول گیاه، وزن تر و خشک اندام هوایی شد، اما با افزایش ۱۸ و ۲۲ درصدی وزن تر و خشک ریشه، مقاومت بالایی نسبت به کادمیم مشاهده شد. اندازه‌گیری ویژگی‌های مرتبط با گلدهی نشان‌دهنده گلدهی در غلظت‌های مختلف کادمیم بود. با افزایش غلظت کادمیم کلروفیل کاهش یافت در حالی‌که افزایش آنتوسیانین، کاروتنوئید و برخی شاخص‌های تحمل مانند قند کل و پرولین معنی‌دار بود. همچنین، افزایش کادمیم در خاک سبب افزایش ۱۱ درصدی نشت یونی و کاهش ۴۳ درصدی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد. به‌طور کلی، سرخارگل ضمن مقاومت بالا در برابر کادمیم، توانایی پالایش خاک آلوده به کادمیم را تا غلظت ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم داشت.

واژه‌های کلیدی: سرخارگل، عنصرهای سنگین، گیاه پالایی، زیست‌پالایی، شاخص تجمع، شاخص انتقال.

مقدمه

آلودگی کادمیم به‌عنوان یک دشواری جهانی در حال گسترش مطرح می‌باشد (۲۰). کادمیم به دلیل غیر قابل تجزیه بودن، ورود به زنجیره غذایی و تجمع در بدن انسان و دیگر جانداران، حتی در غلظت‌های کم نیز باعث بروز بیماری‌های زیادی می‌شود (۱۹). کادمیم در خاک‌های کشاورزی ممکن است منجر به بی‌نظمی در ساختار خاک، دخالت در رشد گیاه و آسیب به سلامت انسان از راه ورود به زنجیره غذایی گردد (۱۶). سمیت کادمیم باعث سردرد، تهوع، برونشیت و نفریت می‌شود. افزون بر این، بیماری‌های کلیوی، عصبی و سرطان نیز از دیگر

۱- تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۱۶

تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۱۰

۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان و استاد گروه علوم باغبانی و فضای سبز، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (r_fotouhi@guilan.ac.ir).

اثرهای کادمیم در بدن انسان است (۳). بنابراین تجمع کادمیم اثرهای مضر جبران ناپذیری بر جانداران داشته و منجر به اختلال‌های زیادی می‌شود. این فلز از راه پساب کارخانه‌ها، فعالیت معادن و صنایع، کاربرد لجن فاضلاب و کودهای شیمیایی وارد زمین‌های کشاورزی و فضای سبز شهری می‌شود (۱۱).

روش‌های گوناگونی به‌منظور پالایش خاک وجود دارد که این روش‌ها اغلب پرهزینه و زمان‌بر می‌باشد. گیاه‌پالایی یک روش به‌صرفه، کاربردی و سریع است که در آن از گیاهان برای پالایش آلاینده‌های خاک و آب استفاده می‌شود (۲۴). استفاده از گیاهانی با قسمت‌های غیرخوراکی مثل گیاهان زینتی پیشنهاد مناسبی برای گیاه‌پالایی است. این گیاهان پس از جذب فلزهای سنگین و برداشت، بدون این‌که وارد زنجیره غذایی شوند همراه با زباله‌های شهری دفع می‌شوند. گلایول (*Gladiolus*)، لاله (*Tulipa*) و نرگس (*Narcissus*) سه گیاه زینتی بودند که رحیمی و دودانگه (۳) جذب کادمیم و روی را در آن‌ها مورد بررسی قرار دادند و با بررسی شاخص تجمع^۲ (نسبت غلظت کادمیم در اندام هوایی به غلظت کل آن در خاک) و شاخص انتقال^۳ (نسبت غلظت کادمیم در اندام هوایی به غلظت آن در ریشه) قابلیت بالای این سه گل را در پالایش کادمیم و روی گزارش کردند. در پژوهشی Chen و همکاران (۱۱) با بررسی غلظت‌های صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴ میلی‌گرم کادمیم ($CdCl_2 \cdot 5H_2O$) در کیلوگرم خاک روی رشد و فتوسنتز دو گیاه خردل (*Brassica juncea*) و کلم (*Brassica campestris*) مقاومت بیشتر گیاه خردل و حساسیت بیشتر گیاه کلم را نسبت به کادمیم گزارش نمودند. بررسی سه گیاه زینتی ختمی (*Althea rosea*)، حنا (*Impatiens balsamina*) و همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) در برابر غلظت‌های مختلف کادمیم و کادمیم-سرب، مقاومت بالای همیشه‌بهار و ختمی را تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم خاک نشان داد. بیشترین شاخص تجمع همیشه‌بهار در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (۲/۴) و شاخص انتقال ۰/۲۶ بود در حالی‌که شاخص تجمع در ختمی ۱ و شاخص انتقال ۰/۷۴ بود (۱۹). در پژوهش دیگری پتانسیل چهار گیاه زینتی اشرفی (*Cosmos sulphureus*)، نوعی چمن (*Panicum maximum*)، جعفری (*Tagetes erecta*) و آفتابگردان (*Helianthus annuus*) برای گیاه‌پالایی خاک آلوده به کادمیم در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مورد بررسی قرار گرفت. جعفری بیشترین و چمن کمترین شاخص تجمع را در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نشان داد و افزایش غلظت منجر به کاهش شاخص تجمع شد (۲۴).

گیاه سرخارگل گیاهی از تیره کلاهپرک‌سانان^۴ می‌باشد. این گیاه در کشورمان بیشتر به‌عنوان گیاه دارویی و دارای ترکیب‌های تقویت‌کننده سیستم ایمنی معرفی شده و جنبه‌های زینتی این گیاه کمتر مورد توجه قرار گرفته است، درحالی‌که در زادگاه اصلی این گیاه که آمریکای شمالی می‌باشد به جنبه‌های زینتی گل‌های این گیاه در فضای سبز و طراحی منظر نیز توجه زیادی شده است. گل‌های زیبا و جالب توجه این گیاه با تنوع رنگ زیاد و دوره گلدهی طولانی مدت، از اردیبهشت تا مرداد ماه، از علل توجه به این گیاه برای مصارف زیباسازی فضای سبز است (۱۳).

بررسی سه گونه گیاه سرخارگل در شرایط تنش شوری نشان داد که این گیاه مقاومت به‌نسبت خوبی به شرایط شوری دارد. در بین سه گونه مورد بررسی، گونه *Echinacea purpurea* توانست خاک شور را بیشتر از دو گونه‌ی *E. angustifolia* و *E. pallida* تحمل نماید (۲۵). در پژوهشی پیرامون بررسی مقاومت گیاه سرخارگل نسبت به شرایط سرمازدگی، مشاهده شد که مقاومت این گیاه نسبت به سرمازدگی درخور توجه است (۶). با بررسی روابط آبی و تنظیم اسمزی در گیاه سرخارگل در شرایط تنش خشکی، مقاومت خوب این گیاه در برابر خشکی تایید گردید (۱۰). اسدی صنم و همکاران (۷) با ارزیابی سطح مقاومت گیاه سرخارگل به تنش غرقاب، سطح تحمل به شرایط ماندابی را در این گیاه مطلوب دانستند. اگرچه گیاه سرخارگل در برابر برخی تنش‌ها متحمل معرفی شده است ولی پژوهشی در ارتباط با پالایش و مقاومت این گیاه در برابر کادمیم گزارش

نشده است. همان‌طور که اشاره شد با توجه به گسترش آلاینده کادمیم در محیط زیست، لزوم معرفی و شناسایی گونه‌های گیاهی جدید که دارای قابلیت‌های گیاه‌پالایی باشند ضروری است. افزون بر این، در ایران پژوهش‌های بسیار کمی درباره جذب کادمیم به‌وسیله گیاهان زینتی انجام شده است. با توجه به این‌که سرخارگل دارای ویژگی‌های برتر در برابر تنش‌های محیطی است، نقش گیاه‌پالایی سرخارگل گونه *E. purpurea* نسبت به عنصر کادمیم، در این پژوهش بررسی شد تا زمینه استفاده‌ی بیشتر از این گیاه در حفاظت از خاک و آب، در طراحی و کاشت فضای سبز مناطق مختلف صنعتی و شهری و همچنین پاک‌سازی زمین‌های کشاورزی فراهم گردد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی خاک

خاک مورد استفاده در این پژوهش از مزارع کشاورزی جنوب تهران و عاری از آلودگی تهیه شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده، قبل از آلودگی به غلظت‌های مورد نظر کادمیم، در جدول ۱ آورده شده است. قبل از آلوده‌سازی، خاک به وسیله جریان هوا خشک گردید و برای یکنواختی از الک دو میلیمتری عبور داده شد. برای آلوده سازی خاک، مقدارهای مختلف نمک کادمیم نیترات ($Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) در آب حل شده و به صورت پاششی و با هم‌زدن کامل خاک، به‌طور یکنواخت در خاک پخش گردید. دو کیلوگرم خاک خشک شده درون هر گلدان پلاستیکی ریخته شد (۱۷ سانتی‌متر قطر و ۲۰ سانتی‌متر ارتفاع) و برای یکنواختی بیشتر گلدان‌ها قبل از انتقال گیاهان به مدت دو هفته در دمای روز و شب به ترتیب 27 ± 2 و 18 ± 2 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی ۳۰٪، دوره کمون را طی نمودند. ۰/۵ گرم در کیلوگرم کود پایه یارامیلا^۱ (نیتروژن: ۱۲٪، فسفر: ۱۱٪، پتاسیم: ۱۸٪، گوگرد: ۲۰٪، منیزیم: ۲/۷٪، آهن: ۰/۲٪، روی: ۰/۲٪، منگنز: ۰/۲٪، بر: ۰/۲٪) به عنوان پایه به خاک گلدان‌ها داده شد.

روش اجرای آزمایش

برای این آزمایش از دانه‌های گیاه سرخارگل کشت شده در فروردین ۱۳۹۵ استفاده شد. بدین منظور گیاهان در شرایط رشدی یکسان و در مرحله چهار برگی به گلدان‌های پلاستیکی پر شده از خاک آلوده به کادمیم منتقل شدند. این آزمایش در شرایط گلخانه‌های مرکز تحقیقات، آموزش و مشاوره فضای سبز شهرداری منطقه ۳ تهران (۳۵/۷۷ درجه شمالی و ۵۱/۴۲ درجه شرقی) و در ارتفاع ۱۵۲۰ متر از سطح دریا اجرا شد. گلدان‌ها در شرایط نور طبیعی و با طول مدت ۱۶ ساعت روز و ۸ ساعت شب قرار گرفتند. دمای روز و شب در طول دوره آزمایش به ترتیب 27 ± 2 و 18 ± 2 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی در حدود ۳۰٪ بود. رطوبت خاک در سطح ۷۵٪ ظرفیت زراعی به‌وسیله توزین روزانه گلدان‌ها در طول آزمایش نگاه‌داشته شد. این آزمایش به‌صورت طرح به‌طور کامل تصادفی و با سه تکرار و در هر تکرار سه گلدان (نه واحد آزمایشی) انجام شد. تیمارهای این آزمایش شامل شش سطح غلظت آلاینده کادمیم: شاهد (غلظت صفر)، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ میلی‌گرم نمک کادمیم نیترات ($Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) در کیلوگرم خاک مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان به مدت ۹۰ روز زیر تیمار قرار گرفتند و سپس شاخص‌های رشدی و توانایی پالایش گیاه سرخارگل مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه‌گیری کادمیم در خاک

برای این منظور نمونه‌گیری از خاک در ابتدا و انتهای آزمایش با محلول عصاره‌گیری DTPA^۲ انجام شد (شامل ۰/۰۰۵ مول DTPA و ۰/۰۱ مول کلرور کلسیم و ۰/۱ مول تری اتانل آمین) و در عصاره‌ی حاصل، غلظت کادمیم به وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل شیمادزو^۳ AA-670) اندازه‌گیری شد (۱).

جدول ۱- ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک قبل از آلوده سازی به کادمیم.

Table 1. The chemical and physical characteristics of the soil before contaminated with cadmium.

فراسنجه	
Parameter	
بی‌اچ	8.3
pH	
قابلیت هدایت الکتریکی	2.28
EC (dS. m ⁻¹)	
واکاوی شیمیایی	
Chemical analyses	
نیتروژن	0.03
N (%)	
فسفر	10.9
P (mg kg ⁻¹)	
پتاسیم	155
K (mg kg ⁻¹)	
آهن	6.7
Fe (mg kg ⁻¹)	
روی	0.9
Zn (mg kg ⁻¹)	
منگنز	5.9
Mn (mg kg ⁻¹)	
مس	0.3
Cu (mg kg ⁻¹)	
کربنات کلسیم	12.2
CaCO ₃ (%)	
کربن آلی	0.16
Organic Carbon (%)	
واکاوی فیزیکی	
Physical analyses	
شن	62
Sand (%)	
سیلت	20
Silt (%)	
رس	18
Clay (%)	
بافت خاک	لوم شنی
Soil texture	

اندازه‌گیری غلظت کادمیم در اندام هوایی و ریشه گیاه

نمونه گیاه خشک شده به وزن دو گرم در کروزه چینی ریخته و در کوره با دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. دمای کوره به تدریج و در عرض دو ساعت به ۵۵۰ درجه سلسیوس رسانده شد. با نگهداری به مدت ۴ تا ۱۲ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه، کوره خاموش و کروزه‌ها از کوره خارج شدند. بعد از خنک شدن، خاکستر با کمی آب خیس گردید و با شیشه ساعت پوشانیده شد و در همان حال و به آرامی مقدار ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریک‌اسید ۲ مولار افزوده شد. سپس کروزه‌ها در حمام آب قرار داده شدند تا در دمای ۸۰ درجه سلسیوس اولین بخارهای

سفید خارج شود. محتویات کروزه از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ به داخل بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری صاف گردید و پس از شستشوی کروزه محتویات بالن ژوژه به حجم رسانده شد. از عصاره تهیه شده برای خواندن غلظت کادمیم به وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل شیمادزو AA-670) استفاده شد (۲). برای بررسی توان جذب کادمیم در گیاهان کشت شده، شاخص‌هایی مانند شاخص انتقال و شاخص تجمع برآورد شد. شاخص انتقال از نسبت غلظت کادمیم در اندام هوایی به غلظت آن در ریشه و شاخص تجمع از نسبت غلظت کادمیم در اندام هوایی به غلظت کل آن در خاک اولیه به دست می‌آید (۲۰، ۲۴).

شاخص‌های رشدی و گلدهی

شاخص‌های رشدی شامل تعداد برگ، طول بوته، وزن تر بوته، وزن خشک بوته، وزن ریشه، وزن خشک ریشه بعد از ۹۰ روز از اعمال تیمارها، اندازه‌گیری گردید. گیاهان تا پایان دوره رشدی برای اندازه‌گیری شاخص‌های مرتبط با گلدهی حفظ شدند و شاخص‌های گلدهی از جمله طول ساقه گل دهنده، قطر گل، طول عمر گل و آنتوسیانین گل اندازه‌گیری شدند.

کلروفیل کل و کارتنوئید

کلروفیل کل و کارتنوئید برگ‌های گیاه به وسیله روش Arnon (۵) اندازه‌گیری گردید. بدین منظور ۲۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ به ۰/۵ گرم از نمونه تازه برگ گیاه افزوده گردید و به خوبی آمیخته شد. ماده حاصل درون دستگاه سانتریفیوژ (مدل اپندورف 5417R^۱) با دور ۶۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جذب محلول رویی در طول موج ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کارتنوئید توسط اسپکتروفتومتر (مدل Itd T80+ UV/VIS; PG Instruments ساخت انگلستان) خوانده شد. کلروفیل کل و کارتنوئید براساس میلی‌گرم در گرم وزن تر (mg g FW^{-1}) و بوسیله روابط زیر اندازه‌گیری گردید.

$$\text{کلروفیل a} = V/100 \cdot W = (A_{663} - 0.86 A_{645}) / 19.3$$

$$\text{کلروفیل b} = V/100 \cdot W = (A_{663} - 0.86 A_{645}) / 19.3$$

$$\text{کارتنوئید} = 227 / (\text{میلی‌گرم کلروفیل b}) - 10.4 - 3/27 (\text{میلی‌گرم کلروفیل a}) - 100 (A_{470})$$

$$\text{کلروفیل کل} = \text{کلروفیل a} + \text{کلروفیل b}$$

که در روابط بالا A_{663} ، A_{645} و A_{470} به ترتیب جذب نور در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر می‌باشد. V؛ حجم عصاره صاف شده و W؛ وزن تر نمونه بر حسب گرم است.

آنتوسیانین برگ و گلبرگ

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین کل از روش تفاوت pH استفاده گردید. در این روش از تفاوت جذب اسپکتروفتومتری در دو pH ۱ و ۴/۵ استفاده گردید. بدین منظور برای استخراج عصاره گیاه از ۰/۵ گرم نمونه از متانول اسیدی (حاوی ۱٪ حجمی اسید کلریدریک) استفاده گردید. جذب در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۲۰ نانومتر و به وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد و میزان آنتوسیانین براساس میلی‌گرم در لیتر سیانیدین ۳ گلوکوزاید (ضریب خاموشی $26,900 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و وزن مولی 449.2 g mol^{-1}) بیان شد (۳۱).

نشست یونی

برای تعیین درصد نشست یونی، از هر گلدان نه عدد برگ نمونه‌برداری گردید و دیسک‌های تازه به قطر شش میلی‌متر و به تعداد نه عدد در لوله‌های آزمایشگاهی قرار داده شدند و سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر دی‌یونیزه به آن‌ها افزوده شد. لوله‌ها با سرپوش پلاستیکی بسته شد و در دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از ۱۲ ساعت هدایت الکتریکی اولیه محیط (EC_1) با استفاده از دستگاه EC سنچ (مدل جن وی 4010 ساخت

انگلستان) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شدند تا به‌طور کامل بافت‌ها کشته شوند و همه الکترولیت‌ها آزاد شود. سپس نمونه‌ها تا دمای ۲۵ درجه سلسیوس خنک شدند و هدایت الکتریکی ثانویه (EC₂) اندازه‌گیری شد و در آخر درصد نشت یونی براساس درصد نسبت EC₁ به EC₂ محاسبه شد (۲۷).

قند کل

قند کل بر اساس روش Somogyi (۲۸) با اندکی تغییر اندازه‌گیری گردید. برای این منظور دو میلی لیتر سولفات مس به لوله‌های آزمایش حاوی دو میلی لیتر عصاره استخراج شده از برگ افزوده گردید و درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس نگهداری گردید و سپس درون یخ سرد گردید. سپس دو میلی لیتر از معرف فسفومولیدیک افزوده گردید و محلول حاصل تا ۱۰ میلی لیتر رقیق شد و سپس جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد. در پایان قند کل بر اساس منحنی استاندارد تهیه شده بوسیله گلوکز به صورت میلی گرم در گرم وزن تر گیاه ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}^{-1}$) بیان گردید.

پرویلین

برای اندازه‌گیری پرویلین از روش Bates و همکاران استفاده شد (۸). برای این منظور ۳۰۰ میلی گرم بافت برگ به‌وسیله نیتروژن مایع در داخل هاون آسیاب گردید و به آن ۱/۵ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۱۰٪ افزوده شد و در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ در مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس به ۱ میلی لیتر از محلول رویی ۱ میلی لیتر معرف ناین هیدرین (حاوی ۱/۲۵ گرم ناین هیدرین در ۳۰ میلی لیتر استیک اسید و ۳۰ میلی لیتر فسفریک اسید ۶ مولار) و ۲ میلی لیتر استیک اسید افزوده گردید و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس حرارت داده شد. واکنش با گذاشتن داخل یخ متوقف شد. سپس چهار میلی لیتر تولوئن به آمیخته افزوده گردید و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس شد. جذب نوری محلول قرمز رنگ فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت پرویلین برای نمونه‌ها از روی منحنی جذب غلظت‌های پرویلین محلول‌های استاندارد محاسبه شد و براساس میکرومول در گرم وزن تر گیاه ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$) بیان گردید.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های گیاه سرخارگل، از راه خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد ۱-۱ دی فنیل ۱-۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH) و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید (۹). جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به‌صورت درصد بازدارندگی DPPH محاسبه شد.

واکاوای آماری

واکاوای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ صورت پذیرفت. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح احتمال خطای پنج درصد ($p < 0.05$) محاسبه شد.

نتایج و بحث

حذف کادمیم

اندازه‌گیری غلظت کادمیم در ریشه و بخش هوایی گیاه سرخارگل در غلظت‌های مختلف خاک آلوده به کادمیم تفاوت معنی‌داری (در سطح ۵٪) نشان داد. همچنین شاخص تجمع و شاخص انتقال در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری و مقایسه گردید (جدول ۲).

جذب فلز کادمیم در ریشه و اندام هوایی گیاه سرخارگل در تیمارهای مختلف متفاوت بود و با افزایش غلظت کادمیم در خاک آلوده جذب کادمیم در ریشه پنج تا هفت برابر اندام هوایی افزایش نشان داد. کمترین جذب کادمیم در ریشه گیاه در تیمار 5 mg kg^{-1} و برابر با $6/40$ میلی‌گرم در کیلوگرم و بیشترین جذب در تیمار 25 mg kg^{-1} و برابر با $17/30$ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. نتیجه‌های اندازه‌گیری کادمیم در اندام هوایی گیاه سرخارگل نشان داد که در این گیاه با افزایش غلظت کادمیم در خاک، جذب افزایش یافت. کمترین جذب کادمیم در اندام هوایی در تیمار 5 mg kg^{-1} و برابر با $1/06$ میلی‌گرم در کیلوگرم و بیشترین جذب کادمیم در تیمار 25 mg kg^{-1} و برابر با $2/23$ میلی‌گرم در کیلوگرم دیده شد.

نتیجه‌های مقایسه شاخص تجمع نشان داد که گیاه سرخارگل توانایی جمع‌آوری فلز کادمیم در اندام‌های زمینی و هوایی خود را دارد. بیشترین مقدار جمع‌آوری در تیمار 10 mg kg^{-1} و 15 (به ترتیب $0/72$ و $0/76$) دیده شد. اگرچه شاخص تجمع در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت اما همچنان می‌توان گفت که این گیاه توانایی قابل قبولی برای انباشت کادمیم تا غلظت 25 mg kg^{-1} ($0/65$) نشان داد. نتیجه‌های اندازه‌گیری شاخص انتقال در گیاه سرخارگل نشان داد اگرچه بیشترین شاخص انتقال در تیمار شاهد و تیمار 10 mg kg^{-1} (به ترتیب $0/18$ و $0/17$) دیده شد اما این گیاه در تیمارهای با غلظت بالاتر هم توانایی انتقال کادمیم از ریشه به اندام هوایی را دارد.

گیاهان فراجذب‌کننده به گیاهانی گفته می‌شود که پتانسیل تجمع کادمیم در اندام هوایی را تا غلظت بیشتر از 100 میلی‌گرم در کیلوگرم را دارند (۳۲). اگرچه این گیاه را بر طبق این تعریف و با این جذب کادمیم نمی‌توان جزو گیاهان فراجذب‌کننده دسته‌بندی کرد، ولی با توجه به مقدار بالای زیست توده تولید شده در این گیاه زیر تنش کادمیم، این گیاه پتانسیل بالایی برای گیاه‌پالایی کادمیم از خاک نشان داد. شاخص انتقال نشان دهنده توانایی یک گیاه در انتقال یک فلز سنگین از ریشه به اندام هوایی خود می‌باشد و هرچه این شاخص بالاتر باشد این مزیت را ایجاد می‌نماید که با حذف اندام هوایی و سوزاندن و جمع‌آوری خاکستر، فلز سنگین بیشتری را از چرخه زیستی حذف نمود. شاخص انتقال گیاه سرخارگل در این آزمایش ($12/17-0/0$) را می‌توان با پژوهش‌های دیگر در ارتباط با گیاهان همیشه بهار ($15/26-0/0$) و علف گینه‌ای^۲ (کمتر از $0/20$) به عنوان گیاهان فراجذب‌کننده و مقاوم به کادمیم مقایسه نمود که با نتیجه‌های حاصل از گیاه پژوهش حاضر مطابقت دارد (۱۹، ۲۴). از سوی دیگر می‌توان شاخص انتقال را در گیاهان به وسیله روش‌های شیمیایی مانند افزودن اتیلن دی‌آمید تتراستیک اسید و کلات‌ها به خاک بهبود بخشید (۱۶).

اندازه‌گیری توانایی پالایش و جذب کادمیم توسط گیاه سرخارگل تاکنون گزارش نشده است. کادمیم جذب شده می‌تواند از راه آوندهای آبکش و به وسیله ترکیب شدن با اسیدهای ارگانیک، تیول و آمینواسیدها به اندام هوایی انتقال یابد. در درون برگ‌ها کادمیم اثرهای بسیار سمی را نشان خواهد داد و منجر به تخریب غشاهای تیلاکوئیدها، ایجاد تنش و جلوگیری از فتوسنتز می‌شود (۳۰). رحیمی و دودانگه (۳) شاخص تجمع گل‌های گلابی، لاله و نرگس را در بالاترین سطح آلودگی کادمیوم $0/34$ گزارش نمودند که کمتر از شاخص تجمع به‌دست آمده برای گیاه سرخارگل ($0/76$) در این پژوهش بود. در پژوهش Liu و همکاران (۱۹) مقایسه پتانسیل جذب کادمیم بین سه گیاه زینتی ختمی، حنا و همیشه بهار، نشان داد اگرچه گیاه همیشه بهار با شاخص تجمع ۲ جذب مطلوبی برای غلظت‌های بالای کادمیوم دارد ولی گیاه ختمی نیز با شاخص تجمع ۱ به دلیل زیست توده بالا (۳ تا ۴ گرم در گلدان) گزینه‌ای مطلوب برای پالایش خاک آلوده به کادمیوم است که با نتیجه‌های این پژوهش در ارتباط با سرخارگل با زیست توده چهار تا پنج گرم در هر گلدان (مجموع وزن خشک ریشه و اندام هوایی) همسو است. در پژوهش دیگری Rungruang و همکاران (۲۴) با بررسی توانایی سه گیاه زینتی علف گینه‌ای، جعفری و آفتابگردان بیان نمودند که اگرچه گیاه جعفری تا بالاترین غلظت کادمیم خاک (400 میلی‌گرم در کیلوگرم) پتانسیل

جذب را با شاخص تجمع ۳ از خاک داشت، اما با توجه به زیست توده بالای علف گینه‌ای، با شاخص تجمع کمتر از ۱ و شاخص انتقال ۰/۲ این گیاه گزینه‌ای مطلوب جهت پالایش کادمیم گزارش شد که با نتیجه‌های این پژوهش در ارتباط با گیاه سرخارگل با شاخص تجمع کمتر از ۱ و شاخص انتقال ۰/۱۷ همسو است.

جدول ۲- مقایسه غلظت کادمیم در خاک آلوده، ریشه، اندام هوایی و مقایسه شاخص تجمع و شاخص انتقال در تیمارهای مختلف آلودگی گیاه سرخارگل.

Table 2. Comparison of cadmium concentration in contaminated soil, root, aerial parts and comparison of bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) in different pollution treatments of *E. purpurea*.

تیمار Treatment Cd(NO ₃) ₂ (mg kg ⁻¹)	کادمیم Cadmium mg kg ⁻¹				
	خاک Soil (mg kg ⁻¹)	ریشه Root (mg kg ⁻¹)	اندام هوایی Shoot (mg kg ⁻¹)	شاخص تجمع Bioconcentration factor	شاخص انتقال Translocation factor
.	5.20f	2.70f	0.51e	0.62d	0.18a
5	12.29e	6.40e	1.06d	0.60d	0.16b
10	15.79d	9.75d	1.75c	0.72b	0.17a
15	21.66c	14.73c	1.96b	0.76a	0.12c
20	28.00b	15.66b	1.96b	0.62d	0.12c
25	29.81a	17.30a	2.23a	0.65c	0.12c

† Means followed by the same letters in each column are not significantly different at P = 0.05 using Duncan test.

† در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

شاخص‌های رشدی

مقایسه میانگین داده‌های حاصل اندازه‌گیری شاخص‌های مرتبط با رشد گیاه سرخارگل در غلظت‌های مختلف آلودگی کادمیم در جدول ۳ نشان داده شده است. در ویژگی‌های تعداد برگ و طول گیاه افزایش غلظت کادمیم منجر به کاهش تعداد برگ‌ها و ارتفاع گیاه گردید. بیشترین تعداد برگ در شاهد و کمترین تعداد برگ در تیمار ۲۰ mg kg⁻¹ به‌دست آمد. در ویژگی طول گیاه بیشترین ارتفاع گیاه در تیمار شاهد و کمترین ارتفاع گیاه در تیمار ۲۵ mg kg⁻¹ دیده شد و غلظت‌های بالای کادمیم ارتفاع گیاه را کاهش داد.

در ویژگی‌های وزن تر و خشک اندام هوایی، افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به کاهش وزن تر و خشک گیاه (زیست توده) گردید. گیاه سرخارگل در تیمار شاهد بیشترین وزن تر و خشک اندام هوایی (به ترتیب ۱۰/۱۶ و ۳/۳ گرم) و در تیمار ۲۵ mg kg⁻¹ کمترین وزن تر و خشک اندام هوایی (به ترتیب ۸/۲ و ۲/۶ گرم) را نشان داد. در ویژگی‌های وزن تر و خشک ریشه گیاه افزایش غلظت کادمیم منجر به افزایش گسترش توسعه ریشه گردید و بیشترین وزن تر و خشک ریشه در تیمار ۲۰ mg kg⁻¹ (به ترتیب ۱۷/۶۴ و ۲/۱ گرم) دیده شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی و زیست توده گیاه را می‌توان به عنوان مهم ترین و اولین پاسخ‌های یک گونه گیاهی نسبت به کشت در خاک‌های آلوده به کادمیم دانست (۱۹، ۳۰). کادمیم با تخریب ساختار خاک منجر به کاهش دسترسی گیاه به منابع غذایی خاک شده و جذب ریشه را محدود می‌نماید. نتیجه چنین فرآیندی کاهش شاخص‌های رشدی و زیست توده گیاه زیر تاثیر آلودگی خاک به کادمیم می‌باشد (۱۶، ۳۲). در این آزمایش نیز اگرچه افزایش کادمیم در خاک منجر به کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی و زیست توده اندام هوایی گیاه سرخارگل گردید اما این کاهش رشد، شدت زیادی نداشت و حتی در ویژگی‌های مرتبط با ریشه‌های گیاه افزایش

رشد نیز دیده شد. دلیل بروز چنین حالتی این است که کادمیم در غلظت‌های پایین نه تنها منجر به کاهش شاخص‌های رشدی گیاه نمی‌شود بلکه می‌تواند نقش تحریک‌کنندگی رشد را ایفا نماید (۲۰، ۳۲). در پژوهشی Wu و همکاران نیز تاثیر غلظت‌های پائین کادمیم در تحریک رشد بنفشه کوهی (*Viola baoshanensis*) به‌عنوان گیاهان فراجذب‌کننده را گزارش کردند (۳۲). افزایش حجم ریشه یکی از عوامل تاثیرگذار بر توانایی پالایش کادمیم از خاک توسط گیاه می‌باشد، ریشه گیاه با افزایش فعالیت آنزیم‌های خاک، بهبود ویژگی‌های ساختاری خاک و تغییر کلات‌ها منجر به افزایش حلالیت کادمیم و بهبود پالایش آن‌ها می‌شود (۱۶). بنابراین می‌توان گفت که در ارتباط با شاخص‌های رشدی، گیاه سرخارگل توانسته است با ریشه‌های وسیع خود تا غلظت 25 mg kg^{-1} کادمیم خاک را تحمل نماید و حتی توانایی تحمل غلظت‌های بالاتر را نیز دارد.

جدول ۳- تغییرهای رشدی گیاه سرخارگل در خاک آلوده به سطوح آلاینده کادمیم.

Table 3. Changes in growth indices of *E. purpurea* in different levels of cadmium contaminated soil.

تیمار Treatment (mg kg^{-1})	تعداد برگ Leaf number	طول گیاه Plant height (cm)	وزن تر اندام هوایی Shoot weight (g)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	وزن تر ریشه Root wet weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)
0	7.33a	36.00b	10.16a	3.31a	13.74d	2.40c
5	7.00a	37.00a	9.76b	2.71b	14.61c	2.51c
10	5.66c	34.66ab	8.47d	2.28c	13.11d	2.15d
15	5.66c	35.00c	9.00bc	2.36c	14.80bc	2.49c
20	5.33c	34.33c	8.87c	2.27c	17.64a	3.16a
25	6.33b	30.33d	8.20d	2.06d	16.74b	2.76b

† Means followed by the same letters in each column are not significantly different at $P = 0.05$ using Duncan test.

† در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

شاخص‌های گلدهی

مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های مختلف آلاینده کادمیم روی شاخص‌های گلدهی گیاه سرخارگل در جدول ۴ نشان داده شده است. افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به افزایش طول ساقه گلدهنده تا ارتفاع ۶۷/۶۶ سانتی‌متر در تیمار 25 mg kg^{-1} گردید. در ویژگی قطر گل تفاوت معنی‌داری در اندازه قطر گل‌ها در تیمارهای مختلف دیده نشد در حالی‌که در ویژگی طول عمر گل با افزایش غلظت کادمیم از ماندگاری گل‌ها کاسته شد. گل‌های گیاه سرخارگل در غلظت‌های بالاتر کادمیم، طول عمر کمتری داشته و از کیفیت پایین‌تری برخوردار بودند. بیشترین طول عمر گل در تیمار شاهد (۲۵ روز) و کمترین طول عمر در تیمار 25 mg kg^{-1} (۲۴ روز) مشاهده گردید. اندازه‌گیری رنگدانه‌های گلبرگ‌های گیاه سرخارگل در غلظت‌های متفاوت نشان داد که افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به کاهش رنگدانه آنتوسیانین می‌گردد. بیشترین آنتوسیانین در تیمار شاهد (۲۷/۶۷ میلی‌گرم در لیتر) و کمترین آنتوسیانین در تیمار 25 mg kg^{-1} (۲۰/۸۸ میلی‌گرم در لیتر) دیده شد (جدول ۴). یکی از جنبه‌های کاربرد گیاه سرخارگل به عنوان یک گیاه زینتی چند ساله در فضای سبز می‌باشد (۱۳). استفاده از سرخارگل در سایت‌های آلوده به کادمیم می‌تواند افزون بر پالایش خاک منجر به زیبایی منظر گردد. اندازه‌گیری شاخص‌های مرتبط با گلدهی این گیاه نشان داد که تا تیمار 25 mg kg^{-1} گلدهی گیاه سرخارگل متوقف نشد، اگرچه از ماندگاری و آنتوسیانین گل‌ها تا حدی کاسته شد. نتیجه‌های حاصل را می‌توان با پژوهش رحیمی و دودانگه (۳) مقایسه نمود که افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به کاهش وزن گل‌های گلایل و لاله

گردید، در حالی که روی گل نرگس تأثیر معنی‌داری نداشت که نشان دهنده مقاومت این گل نسب به کادمیم بود. اثر غلظت‌های مختلف کادمیم خاک بر دو گل همیشه بهار و ختمی تأثیر معنی‌داری نداشت و این دو گیاه توانستند به صورت طبیعی تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم را تحمل نمایند (۱۹). بررسی اثر کادمیم روی گیاه زینتی پیچ امین الدوله (*Lonicera japonica*) نشان داد که افزایش غلظت کادمیم در غلظت‌های اولیه (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) نه تنها منجر به کاهش رشد این گیاه زینتی نشد بلکه منجر به بهبود رشد آن گردید و این گیاه توانست تا غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیم را تحمل نماید (۲۰).

جدول ۴- تغییرهای شاخص‌های گلدهی گیاه سرخارگل در خاک آلوده نسبت به سطوح آلاینده کادمیم.

Table 4. Changes in flowering indices of *E. purpurea* in different levels of cadmium contaminated soil.

تیمار Treatment (mg kg ⁻¹)	طول ساقه گل Flower stem length (cm)	قطر گل Flower diameter (cm)	طول عمر گل Flower longevity (day)	آنتوسیانین گل Flower anthocyanin (mg L ⁻¹)
0	50.00d	8.06a	35.00a	27.67a
5	50.33d	7.66c	34.33a	23.05b
10	48.33d	7.46c	36.33a	21.71c
15	57.00c	7.63c	30.66b	20.38d
20	64.00b	8.00ab	27.00c	21.38dc
25	67.66a	7.73bc	24.66d	20.88dc

† Means followed by the same letters in each column are not significantly different at P = 0.05 using Duncan test.

† در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

رنگدانه‌های برگ

مقایسه میانگین تغییرهای آنتوسیانین در برگ‌های گیاه سرخارگل، پس از آن‌که در برابر غلظت‌های مختلف کادمیم قرار گرفت نشان داد که افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به افزایش آنتوسیانین در برگ‌ها گردید. کمترین آنتوسیانین برگ در تیمار شاهد (۳/۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و بیشترین آنتوسیانین برگ در تیمار ۲۵ mg kg⁻¹ (۷/۹۶ میلی‌گرم در لیتر) دیده شد (جدول ۵).

آنتوسیانین به عنوان یک رنگدانه گیاهی نقش مهمی در مقاومت غیرآنزیمی گیاه در برابر تنش‌های محیطی دارد. افزایش آنتوسیانین منجر به مقاومت در برابر گونه‌های فعال اکسیژن^۱ و تعدیل اسمزی در گیاه می‌شود. گیاه با افزایش آنتوسیانین آب بیشتری را در حالت تنش از راه ریشه‌های خود جذب می‌نماید (۱۵). همان‌گونه که در این پژوهش افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به افزایش آنتوسیانین در برگ‌های گیاه سرخارگل گردید، Dai و همکاران (۱۲) نیز با بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر روی گیاه آزولا افزایش آنتوسیانین را در اثر زیاد شدن غلظت کادمیم گزارش نمودند.

اندازه‌گیری کلروفیل کل در برگ‌های گیاه نشان داد که افزایش غلظت ناشی از کادمیم منجر به کاهش محتوی کلروفیل برگ‌های گیاه می‌شود. اگرچه این کاهش تأثیری در رنگ سبز ظاهری برگ‌های گیاه نداشت. کمترین کلروفیل در تیمار ۲۵ mg kg⁻¹ کادمیم خاک و بیشترین کلروفیل در تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۵). کلروفیل مهم‌ترین رنگدانه گیاهی است که عمل فتوسنتز را در گیاه بر عهده دارد. این رنگدانه در تأثیر تنش ناشی از کادمیم تخریب شده و عملکرد خود را از دست می‌دهد. (۱۷). افزایش غلظت کادمیم در خاک به‌طور

معمول منجر به کاهش کلروفیل در برگ‌های گیاهان و ایجاد حالت نکروزه می‌شود (۳۰). افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به کاهش کلروفیل در سرخارگل گردید اگرچه کاهش کلروفیل معنی‌دار بود اما منجر به نکروزه شدن برگ‌های گیاه سرخارگل نشد. این نتیجه‌ها با یافته‌های دیگر پژوهشگران نیز مشابهت دارد. در پژوهشی Chen و همکاران (۱۱) با بررسی غلظت صفر تا ۲۴ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بر روی دو گیاه خردل و کلم کاهش کلروفیل را با افزایش غلظت کادمیم در خاک گزارش کردند و بیان نمودند که کمترین کلروفیل در تیمار ۲۴ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به‌دست آمد. در پژوهشی Paunov و همکاران (۲۳) با بررسی اثر فلزهای سنگین روی و کادمیم روی گندم دروم گزارش نمودند که افزایش غلظت هر دو فلز سنگین منجر به کاهش کلروفیل و اختلال در زنجیره انتقال الکترون و کاهش ۴ تا ۵ برابری کارایی تولید انرژی در سیستم نوری دو گردید. اندازه‌گیری کاروتنوئید به عنوان رنگدانه دیگری که زیر تاثیر تنش‌های غیرزیستی قرار می‌گیرد نشان داد که افزایش غلظت کادمیم خاک منجر به افزایش تجمع کاروتنوئید در برگ‌های گیاه می‌گردد. این افزایش در تیمار 25 mg kg^{-1} بیشترین میزان و برابر با ۰/۹۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر بود (جدول ۵).

کاروتنوئید به عنوان یک رنگدانه فتوسنتزی در نبود کلروفیل عمل فتوسنتز را انجام می‌دهد و همچنین مقاومت گیاه را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در برابر گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌دهد (۱۷). بنابراین افزایش کاروتنوئید در سرخارگل پاسخی از این گیاه در ارتباط با مقاومت گیاه نسبت به شرایط افزایش غلظت کادمیم در خاک بود. Wahid و همکاران (۳۰) با اندازه‌گیری رنگدانه‌های دو وارسته مقاوم و حساس به کادمیم از گیاه ماش^۲ در غلظت‌های صفر تا ۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم بیان نمودند که افزایش کادمیم منجر به کاهش کلروفیل و کاروتنوئید در برگ‌های وارسته حساس ماش گردید. در حالی‌که در وارسته مقاوم کاروتنوئید ثابت ماند و جایگزین کاهش کلروفیل در برگ‌های گیاه و منجر به مقاومت گیاه در برابر غلظت‌های بالای کادمیم گردید.

جدول ۵- تغییرهای رنگدانه‌های برگ گیاه سرخارگل نسبت به خاک آلوده به سطوح آلاینده کادمیم.

Table 5. Changes in leaf pigments of *E. purpurea* in different levels of cadmium contaminated soil.

تیمار Treatment (mg kg^{-1})	آنتوسیانین برگ Leaf anthocyanin (mg L^{-1})	کلروفیل کل Ch_{a+b} ($\text{mg g}^{-1}\text{FW}^{-1}$)	کاروتنوئید Carotenoid ($\text{mg g}^{-1}\text{FW}^{-1}$)
0	3.50f	1.95a	0.833d
5	4.67e	1.81b	0.916c
10	5.40d	1.75c	0.909c
15	5.73c	1.71d	0.963b
20	6.45b	1.70d	0.967ab
25	7.96a	1.61e	0.997a

† Means followed by the same letters in each column are not significantly different at $P = 0.05$ using Duncan test.

† در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

شاخص‌های زیست‌شیمیایی

اندازه‌گیری درصد نشت یونی به عنوان یک شاخص مهم و تعیین کننده تخریب غشای یاخته‌ای نشان داد که با افزایش کادمیم در خاک، نشت یونی از یاخته‌های گیاه افزایش یافت. بیشترین درصد نشت یونی در تیمار 25 mg kg^{-1} (۲۲٪) و کمترین درصد نشت یونی در تیمار شاهد (۱۱٪) دیده شد (جدول ۶).

نشت یونی به عنوان یکی از شاخص‌های تخریب غشای یاخته‌ای گیاهان زیر تاثیر شرایط تنش‌های محیطی می‌باشد (۴). کادمیم میل زیادی به پروتئین‌های حاوی نیتروژن و گوگرد داشته و با ایجاد پل اتصالی بین پروتئین‌های غشا منجر به تخریب کانال‌های پروتئینی و نشت یونی از یاخته‌ها می‌شود (۲۱). بررسی اثر کادمیم بر نشت یونی در پژوهش‌های دیگران نیز نشان‌دهنده افزایش تخریب غشای یاخته‌ای و افزایش نشت یونی یاخته‌های گیاهان می‌باشد. در پژوهشی Goncalves و همکاران (۱۴) با بررسی اثر کادمیم بر درصد نشت یونی گیاه خیار افزایش درصد نشت یونی را در این گیاه گزارش نمودند. اثر کادمیم بر نشت یونی در پژوهش Park و همکاران (۲۲) روی گیاه کاملینا (*Camelina sativa*) نیز گزارش شده است که با نتیجه‌های حاصل از این آزمایش مطابقت نشان می‌دهد.

اندازه‌گیری قند کل در گیاه نشان داد که افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به تجمع بیشتر قند در برگ‌های گیاه می‌گردد. بدین ترتیب بیشترین قند در تیمار 25 mg kg^{-1} ($2/82$ میلی‌گرم در گرم وزن تر گیاه) به دست آمد و کمترین قند کل گیاه در تیمار شاهد ($2/22$ میلی‌گرم در گرم وزن تر گیاه) دیده شد (جدول ۶).

تجمع قندهای محلول در برگ‌های گیاه منجر به تعادل اسمزی گیاه و افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش‌های محیطی می‌شود. نقش مهم دیگری که به تجمع قند در گیاه می‌توان مرتبط دانست عملکرد قندها به عنوان یک مولکول سیگنال در رویارویی با تنش‌های محیطی و تنظیم هموستازی یاخته‌های گیاه است (۴). در پژوهشی Verma و Dubey (۲۹) با اندازه‌گیری قندهای محلول در گیاهچه‌های برنج که زیر تیمارهای مختلف کادمیم قرار گرفته بودند بیان داشتند که افزایش غلظت کادمیم در خاک منجر به اختلال در جذب آب توسط گیاه و تجمع قندهای محلول در گیاه خواهد شد، آن‌ها این تجمع قند را به واکنش گیاه نسبت به کاهش جذب آب زیر سمیت کادمیم مرتبط دانستند.

اندازه‌گیری اسید آمینه پرولین به عنوان یک ویژگی زیست‌شیمیایی مهم در گیاه سرخارگل نشان داد که افزایش کادمیم در خاک منجر به افزایش پرولین در گیاه می‌شود به طوری که بالاترین مقدار پرولین گیاه در تیمار 25 mg kg^{-1} ($10/01$ میکرومول در گرم وزن تر گیاه) و کمترین پرولین در تیمار شاهد که خاک بدون کادمیم بود به دست آمد ($4/29$ میکرومول در گرم وزن تر گیاه) (جدول ۶).

تجمع اسید آمینه پرولین یکی از پاسخ‌های گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از کادمیم می‌باشد (۲۶). تعدیل اسمزی در گیاه مهمترین نقش اسید آمینه پرولین می‌باشد. همچنین پرولین در نگهبانی از پروتئین‌ها در برابر تنش‌های اکسیداتیو نقش داشته و توانایی حذف مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن که در نتیجه تنش اکسیداتیو تولید می‌شوند را دارد (۴). افزایش پرولین ناشی از وجود کادمیم موجود در خاک در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است. در پژوهشی Schat و همکاران (۲۶) با بررسی اثر کادمیم خاک روی دو بوم‌جور مقاوم و حساس به کادمیم از گیاه سیلین (*Silene vulgaris*) مشاهده کردند که افزایش غلظت کادمیم منجر به تجمع اسید آمینه پرولین به‌ویژه در بوم‌جور حساس به کادمیم گردید، اگرچه افزایش پرولین در گیاه به تنظیم روابط آبی نسبت داده شد و نشان دهنده مقاومت گیاه نسبت به کادمیم نبود.

اندازه‌گیری درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه با اندازه‌گیری اکسیداسیون رادیکال آزاد DPPH نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم در خاک، درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کاهش یافت، به طوری که بیشترین درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار شاهد ($71/17\%$) و کمترین درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار 25 mg kg^{-1} ($28/87\%$) مشاهده گردید (جدول ۶).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی تولید کننده گونه‌های فعال اکسیژن و خنثی سازی آن‌ها نقش دارد (۶، ۱۸). بررسی اثر کادمیم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نشان داد که افزایش غلظت

کادمیم تا حد تحمل گیاه منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گردید و در غلظت‌های بالاتر از تحمل گیاه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کاهش یافت. به نظر می‌رسد اگرچه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی نقش مهمی دارد اما سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه در اثر تنش‌های شدید و طولانی مدت آسیب می‌بیند (۱۸).

جدول ۶- تغییرهای شاخص‌های زیست‌شیمیایی گیاه سرخارگل نسبت به خاک آلوده به سطوح آلاینده کادمیم.

Table 6. Changes in biochemical indices of *E. purpurea* in different levels of cadmium contaminated soil.

تیمار Treatment (mg kg ⁻¹)	نشت یونی Electrolyte leakage (%)	قند کل Total sugars (mg g ⁻¹ FW ⁻¹)	پرولین Proline (μmol g ⁻¹ FW ⁻¹)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity (%)
0	11.00d	2.22d	4.29d	71.17a
5	12.00c	3.30b	4.96c	51.46c
10	14.00b	3.32b	6.78b	57.04b
15	14.66b	2.98c	6.79b	52.88c
20	15.00b	3.28b	9.95a	42.45d
25	22.00a	3.82a	10.01a	28.87e

† Means followed by the same letters in each column are not significantly different at P 0.05 using Duncan test.

† در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتیجه گیری

بررسی مقاومت گیاه سرخارگل در پالایش خاک آلوده به کادمیم نشان داد که بر مبنای ویژگی‌های فیزیولوژیکی، زیست‌شیمیایی و جذب کادمیم، از مقاومت بالایی نسبت به کادمیم خاک برخوردار است و با توجه به زیست‌توده مطلوب تولید شده به وسیله این گیاه می‌توان آن را گزینه‌ای مناسب برای پالایش خاک‌های آلوده به کادمیم دانست. اندازه‌گیری شاخص‌های مرتبط با گلدهی نشان داد که این گیاه توانایی خوبی جهت تولید گل در خاک آلوده به کادمیم دارد. بنابراین می‌توان با حذف مصارف دارویی، افزون بر پالایش خاک آلوده به کادمیم برای زیباسازی فضای سبز مناظر مختلف شهری و صنعتی استفاده شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان مراتب سپاسگزاری خود را از همکاری دانشگاه گیلان و سازمان صنایع کوچک و شهرک‌های صنعتی ایران برای حمایت مالی از این پژوهش ابراز می‌دارند.

References

منابع

۱. علی‌احیایی م. و ع. بهبهانی زاده. ۱۳۷۲. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. جلد اول. شماره ۸۹۳. ۲۸۹ ص.
۲. امامی، ع. ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. جلد اول. شماره ۹۸۲.
۳. رحیمی، ق. و ه. دودانگه. ۱۳۹۲. ارزیابی جذب کادمیم و روی بوسیله گلایل، لاله و نرگس. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، ۱۲۱۵-۱۲۰۷: (۶) ۲۷.
۴. فتوحی قزوینی، ر.، م. حیدری و ا. هاشم پور. ۱۳۹۰. فیزیولوژی و بیولوژی تحمل تنش در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. مشهد. ۳۶۰ ص.

5. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agron. J.* 23:112-121.
6. Asadi-Sanam, S., H. Pirdashti, A. Hashempour, M. Zavareh, G.A. Nematzadeh and Y. Yaghubian. 2015. The physiological and biochemical responses of eastern purple coneflower to freezing stress. *Russ. J. Plant Physiol.* 62:1-9.
7. Asadi-Sanam, S., M. Zavareh, H. Pirdashti, F. Sefidkon and G. H. Nematzadeh. 2015. Changes in some biochemical characteristics of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L. Moench) medicinal plant in response to planting date and soil flooding duration. *Iran. J. Medic. Arom. Plants.* 31(2):315-331.
8. Bates, I. S., R. P. Waldern and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39:205-207.
9. Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier and C. Brest. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28(1):25-30.
10. Chapman, D. S. and R. M. Auge. 1994. Physiological mechanisms of drought resistance in four native ornamental perennials. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119:299-306.
11. Chen, W., J. Wang, Z. M. Q. Shiy and G. Y. Chi. 2011. Effect of cadmium on growth and photosynthetic activities in pakchoi and mustard. *Bot. Stud.* 52:41-46.
12. Dai. L. P., Z. T. Xiong, Y. Huang and M. J. Li. 2006. Cadmium-induced changes in pigments, total phenolics, and phenylalanine ammonia-lyase activity in fronds of *Azolla imbricata*. *Environ. Toxicol.* 21(5):505-512.
13. Dole, J. M and H. F. Wilkins. 1999. *Floriculture: Principles and species*. Prentice Hall Inc., Upper Saddle River, New Jersey. 1040 p.
14. Goncalves, J. F., A. G. Becker, D. Cargnelutti, L. A. Tabaldi, L. B. Pereira, V. Battisti, R. M. Spanevello, V. M. Morsch, F. T. Nicoloso and M. R. C. Schetinger. 2007. Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of the antioxidant system in cucumber seedlings. *Braz. J. Plant Physiol.* 19:223-232.
15. Kovinich, N., G. Kayanja, A. Chanoca, M. Otegui and E. Grotewold. 2015. Abiotic stresses induce different localizations of anthocyanins in *Arabidopsis*. *Plant Signal. Behav.* 10:7.
16. Laghlimi, M., B. Baghdad, H. El Hadi and A. Bouabdli. 2015. Phytoremediation mechanisms of heavy metal contaminated soils: a review. *Open J. Ecol.* 5:375-388.

17. Lichtenthaler, H. K. and C. Buschmann. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocol in Food Analytical Chemistry. New York, John Wiley. supplement 1. pp F4.3.1-F4.3.8.
18. Lin, K. H., P. U. Chao, C. M. Yang, W. C. Cheng, H. F. Lo and T. R. Chang. 2006. The effects of flooding and drought stresses on the antioxidant constituents in sweet potato leaves. Bot. Stud. 47:417-426.
19. Liu, Y. J., Q. X. Zhou, T. Sun, L. Q. Ma and S. Wang. 2008. Growth responses of three ornamental plants to Cd and Cd-Pb stress and their metal accumulation characteristics. J. Hazard. Mater. 151:261-267.
20. Liu, Z., X. He, W. Chen, F. Yuan, K. Yan, and D. Tao. 2009. Accumulation and tolerance characteristics of cadmium in a potential hyperaccumulator—*Lonicera japonica* Thunb. J. Hazard. Mater. 169:170-175.
21. Mishra, S., S. Srivastava, R. D. Tripathi, R. Govindarajan, S. V. Kuriakose and M. N. V. Prasad. 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. Plant Physiol. Biochem. 44:25-37.
22. Park, W., Y. Feng and S. J. Ahn. 2014. Alteration of leaf shape, improved metal tolerance, and productivity of seed by overexpression of CsHMA3 in *Camelina sativa*. Biotech. Biofuels. 7:1-17.
23. Paunov, M., L.Koleva, A. Vassilev, J. Vangronsveld and V. Goltsev. 2018. Effects of different metals on photosynthesis: cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat. Int. J. Mol. Sci. 19(3):787.
24. Rungruang, N., S. Babel and P. Parkpian. 2011. Screening of potential hyperaccumulator for cadmium from contaminated soil. Desalin. Water Treat. 32:19-26.
25. Sabra, A., F. Daayf and S. Renault. 2012. Differential physiological and biochemical responses of three *Echinacea* species to salinity stress. Sci. Hort. 135:23-31.
26. Schat, H., S.S. Sharma, and R.Vooijs, 1997. Heavy metal-induced accumulation of free proline on metal-tolerant and non-tolerant ecotype of *Silene vulgaris*. Physiol. Plant. 107:477-482.
27. Shaoyun, L., W. Su, H. Li, and H. Guo. 2009. Abscisic acid improves drought tolerance of triploid bermudagrass and involves H₂O₂ and NO-induced antioxidant enzyme activities. Plant Physiol. Biochem. 47:132-138.

28. Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. J. Biol. Chem. 195: 19-23.
29. Verma, S. and R. S. Dubey. 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biol. Plant. 44:117-123.
30. Wahid, A., A. Ghani and F. Javed. 2008. Effect of cadmium on photosynthesis, nutrition and growth of mungbean. Agron. Sust. Dev. 28:273-280.
31. Wrolstad R.E. 1976. Color and pigment analyses in fruit products. Oregon Agric. Exp. Stati. Bul. 624 p.
32. Wu, Ch., B. Liao, S. Wang, J. Zhang and J. Li. 2010. Pb and Zn Accumulation in a Cd-Hyperaccumulator (*Viola baoshanensis*). Int. J. Phytorem. 12(6):574-585.

Investigation of Physiological Response and Phytoremediation ability of *Echinacea purpurea* in Cadmium Contaminated Soil

S. Heidari, R. Fotouhi Ghazvini*, M. Zavareh and M. Kafi¹

Cadmium is a heavy metal that contaminates water and soil. In order to study on soil cadmium tolerance and remediation ability of *Echinacea purpurea*, a greenhouse experiment in a completely randomized design was conducted by pots filled with soil and cadmium nitrate [Cd(NO₃)₂] in concentrations of 0, 5, 10, 15, 20, 25 mg kg⁻¹. The results showed that with the addition of cadmium in the soil, cadmium uptake by roots and aerial parts (bioconcentration factor) was increased while the ability of cadmium transfer from root to shoot (translocation factor) was decreased. Increasing the concentration of cadmium resulted in 13, 15, 37 and 19 percent reduction in leaf number, plant length, shoot fresh and dry weight, but with an increase of 18 and 22 percent root fresh and dry weight, high resistance to cadmium was observed. Flowering indices exhibited flowering ability of *E. purpurea* in different concentration of cadmium. Total chlorophyll content declined by increasing cadmium concentration, while anthocyanin, carotenoid and some tolerance indicators such as total sugars and proline elevated significantly ($P < 0.05$). In addition, higher concentrations of soil cadmium caused 11 percent increment in electrolyte leakage and 43 percent decrement in antioxidant capacity. Overall, *E. purpurea* with high resistance to cadmium had an ability to remediate cadmium-contaminated soil with concentration up to 25 mg kg⁻¹.

Keywords: Coneflower, Heavy metals, Phytoremediation, Bioremediation, Bioconcentration factor, Translocation factor.

1. Ph. D. Candidate and Professor of Horticultural Science Department, Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Associate Professor, Agronomy Department, University of Guilan and Professor of Horticultural Science Department, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran, respectively.

*Corresponding author, Email: (r_fotouhi@guilan.ac.ir).