



دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی
گروه آموزشی باغبانی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد
در رشته‌ی علوم باغبانی گرایش فیزیولوژی و اصلاح سبزی

عنوان:

تأثیر نیتریک اکسید و تغذیه با سلنیم بر رشد، فیزیولوژی و متابولیت‌های ثانویه
مرزه (*Satureja hortensis.L*) در شرایط تنش کادمیم

استاد راهنما:

دکتر بهروز اسماعیل پور

اساتید مشاور:

دکتر علیرضا قنبری

مهندس حمیده فاطمی

پژوهشگر:

ایرج عزیزی

نام خانوادگی دانشجو: عزیزی	نام: ایرج
عنوان پایان نامه: تاثیر نیتریک اکسید و تغذیه با سلنیم بر رشد فیزیولوژی و متابولیت های ثانویه مرزه (<i>Satureja hortensis. L.</i>) در شرایط تنش کادمیم	
استاد راهنما: دکتر بهروز اسماعیل پور اساتید مشاور: دکتر علیرضا قنبری، حمیده فاطمی	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: علوم باغبانی
گرایش: فیزیولوژی و اصلاح سبزی	دانشگاه: محقق اردبیلی
دانشکده: کشاورزی و منابع طبیعی	تاریخ دفاع: ۹۶/۸/۲۱ تعداد صفحات: ۸۶
چکیده:	
<p>آلودگی زمین های کشاورزی توسط فلزات سنگین رو به افزایش است. کادمیم یکی از مهم ترین این فلزات بوده و به عنوان یکی از آلاینده های محیطی به شمار می رود. استفاده از عناصر غذایی مفید مانند سلنیم و تنظیم کننده های رشد گیاهی نیتریک اکسید در کاهش سمیت برخی عناصر سنگین موثر شناخته شده است. به منظور بررسی اثر محلول پاشی سلنیم و نیتریک اکسید بر شاخص های رشد، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مرزه در شرایط تنش کادمیم، دو آزمایش فاکتوریل مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار در شرایط گلخانه ای در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۹۶-۱۳۹۵ انجام شد. آلودگی خاک توسط محلول کادمیم کلرید در غلظت های شاهد (صفر)، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی پی ام انجام گردید. پس از کشت بذر مرزه در خاک آلوده و رشد بوته ها، محلول پاشی سلنیم و نیتریک اکسید اعمال شد. در آزمایش اول تیمارها شامل محلول پاشی سلنیم با غلظت های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار و آب مقطر (شاهد) بود. در آزمایش دوم نیز گیاهان با نیتریک-اکسید با غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار و آب (به عنوان شاهد) محلول پاشی شدند. سپس شاخص های رویشی مانند ارتفاع گیاه، تعداد برگ، تعداد شاخه جانبی، وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه، قطر ساقه و نیز تیمارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی از جمله میزان محتوای نسبی آب، ثبات غشا، رنگیزه های فتوسنتزی، میزان پرولین آزاد برگ، کربوهیدرات کل و نیز فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز، شاخص های زیستی خاک، میزان عناصر کادمیم و روی گیاه و شاخص اسانس اندازه گیری گردید. نتایج نشان داد که در غلظت ۱۵۰ پی پی ام کادمیم کاهش معنی دار تمام شاخص های رویشی، رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب و ثبات غشا و افزایش میزان کربوهیدرات، پرولین و فعالیت آنزیمی مشاهده گردید. همچنین با افزایش غلظت کادمیم، تجمع بیشتری از این عنصر در ریشه و بخش هوایی حاصل شد، اما کاربرد محلول پاشی سلنیم (در آزمایش اول) و محلول پاشی نیتریک اکسید (در آزمایش دوم) باعث کاهش سمیت کادمیم شد و محلول پاشی سلنیم باعث افزایش شاخص های رشدی مانند ارتفاع ساقه، وزن تر ریشه، قطر ساقه، تعداد شاخه جانبی و برگ، وزن خشک گیاه و ریشه و شاخص های فیزیولوژیک گیاه مانند پرولین، کربوهیدرات، کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید و نشن سلولی غشا گردید و محلول پاشی نیتریک اکسید نیز باعث افزایش شاخص های رشدی مانند ارتفاع ساقه، تعداد شاخه جانبی و برگ و شاخص های فیزیولوژیک گیاه مانند پرولین، کربوهیدرات، کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید و نشن سلولی غشا گردید. کاربرد دو فاکتور مذکور همچنین باعث کاهش تجمع این فلز در بخش هوایی گردید.</p>	
کلید واژه ها: سلنیم، فلز سنگین، کادمیم، مرزه، نیتریک اکسید	

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول: کلیات پژوهش
۱۱	۱-۱-مقدمه.....
۱۲	۱-۲-تیره نواعیان.....
۱۳	۱-۲-۱-تاریخچه و منشا مرزه.....
۱۳	۱-۲-۲-ریخت‌شناسی اندام‌های مرزه.....
۱۳	۱-۲-۳-موارد مصرف و خواص دارویی مرزه.....
۱۴	۱-۲-۴-اکولوژی رشد.....
۱۴	۱-۲-۵-کاشت مرزه.....
۱۴	۱-۲-۶-برداشت مرزه.....
۱۵	۱-۳-تنش.....
۱۵	۱-۳-۱-تنش فلزات سنگین.....
۱۶	۱-۳-۲-تاثیر فلزات سنگین روی گیاهان.....
۱۶	۱-۳-۳-۱-رشد و نمو.....
۱۷	۱-۳-۳-۲-تنش اکسیداتیو.....
۱۷	۱-۳-۳-۳-متابولیت‌های ثانویه.....
۱۷	۱-۳-۳-۴-نقش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان.....
۱۸	۱-۳-۳-۵-تاثیر فلزات سنگین بر متابولیت‌های ثانویه.....
۱۹	۱-۴-اختلال مواد غذایی.....
۱۹	۱-۴-۱-کادمیم.....
۱۹	۱-۴-۱-۱-ماهیت شیمیایی و فیزیکی.....
۱۹	۱-۴-۱-۲-منشا و منابع آلودگی.....
۱۹	۱-۴-۱-۳-رشد و نمو.....
۲۰	۱-۴-۱-۴-حد سمیت کادمیم در خاک و گیاه.....
۲۱	۱-۴-۱-۵-سلنیم.....

۲۱ ماهیت شیمیایی	۱-۴-۱
۲۱ اثر بر رشد گیاه	۲-۴-۱
۲۲ اثر بر تنشهای غیرزیستی	۳-۴-۱
۲۳ اثر بر تنش فلزات سنگین	۴-۴-۱
۲۳ تاثیر بر تنش اکسیداتیو	۵-۴-۱
۲۴ نیتریک اکسید	۵-۱
۲۴ ماهیت شیمیایی	۱-۵-۱
۲۵ اثر نیتریک اکسید بر رشد گیاه	۲-۵-۱
۲۵ اثر نیتریک اکسید بر تنشهای غیرزیستی	۳-۵-۱
۲۶ اهداف پژوهش	۶-۱

فصل دوم: مواد و روش ها

Error! Bookmark not defined. محل انجام پژوهش	۱-۲
Error! Bookmark not defined. طرح آزمایشی و تیمارهای آزمایش	۲-۲
Error! Bookmark not defined. مراحل اجرای آزمایش	۳-۲
Error! Bookmark not defined. تهیه خاک	۱-۳-۲
Error! Bookmark not defined. آماده سازی خاک جهت آلودگی با فلز سنگین کادمیم	۲-۳-۲
Error! Bookmark not defined. نحوه آلوده کردن خاک	۳-۳-۲
Error! Bookmark not defined. کشت بذور در گلدانها	۴-۳-۲
Error! Bookmark not defined. مراقبت های زمان داشت	۴-۲
Error! Bookmark not defined. آبیاری	۱-۴-۲
Error! Bookmark not defined. سله شکنی	۲-۴-۲
Error! Bookmark not defined. مبارزه مکانیکی با علف های هرز	۳-۴-۲
Error! Bookmark not defined. یادداشت برداری صفات رویشی	۵-۲
Error! Bookmark not defined. وزن تر و خشک اندام هوایی	۱-۵-۲
Error! Bookmark not defined. وزن خشک ریشه	۲-۵-۲
Error! Bookmark not defined. تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی	۳-۵-۲

- ۶-۲-اندازه گیری صفات فیزیولوژیک Error! Bookmark not defined.
- ۱-۶-۲-رنگیزه‌های فتوسنتزی Error! Bookmark not defined.
- ۲-۶-۲-شاخص ثبات غشا (نشت مواد محلول) Error! Bookmark not defined.
- ۳-۶-۲-محتوای نسبی آب Error! Bookmark not defined.
- ۴-۶-۲-پرولین Error! Bookmark not defined.
- ۵-۶-۲-سنجش میزان کربوهیدرات Error! Bookmark not defined.
- ۶-۶-۲-استخراج عصاره پروتئینی برای اندازه گیری فعالیت برخی از آنزیمهای آنتیاکسیدان. Error! Bookmark not defined.
- ۱-۶-۶-۲-فعالیت آنزیم کاتالاز Error! Bookmark not defined.
- ۲-۶-۶-۲-فعالیت آنزیم پراکسیداز Error! Bookmark not defined.
- ۷-۲-اسانسگیری و تعیین ترکیبات تشکیل‌دهنده: Error! Bookmark not defined.
- ۸-۲-اندازه‌گیری عنصر کادمیم Error! Bookmark not defined.
- ۱-۸-۲-تهیه عصاره Error! Bookmark not defined.
- ۲-۸-۲-اندازه گیری عناصر کادمیم و روی Error! Bookmark not defined.
- ۹-۲-تجزیه آماری Error! Bookmark not defined.

فصل سوم: نتایج و یافته‌های پژوهش

- ۱-۳-آزمایش اول: تاثیر محلول پاشی با سلنیم و تنش کادمیم بر شاخص‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مرزه Error! Bookmark not defined.
- ۱-۱-۳-۱-۱-۳-شاخص‌های مورفولوژیک Error! Bookmark not defined.
- ۱-۱-۳-۱-۱-۱-ارتفاع ساقه Error! Bookmark not defined.
- ۲-۱-۳-۱-۱-۳-وزن تر ریشه Error! Bookmark not defined.
- ۳-۱-۳-۱-۱-۳-قطر ساقه Error! Bookmark not defined.
- ۴-۱-۳-۱-۱-۳-تعداد شاخه جانبی Error! Bookmark not defined.
- ۵-۱-۳-۱-۱-۳-تعداد برگ Error! Bookmark not defined.
- ۶-۱-۳-۱-۱-۳-وزن خشک گیاه Error! Bookmark not defined.
- ۷-۱-۳-۱-۱-۳-وزن خشک ریشه Error! Bookmark not defined.
- ۲-۱-۳-۱-۳-شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined.	۱-۲-۱-۳-پرولین
Error! Bookmark not defined.	۲-۲-۱-۳-کربوهیدرات
Error! Bookmark not defined.	۳-۲-۱-۳-کلروفیل a
Error! Bookmark not defined.	۴-۲-۱-۳-کلروفیل b
Error! Bookmark not defined.	۵-۲-۱-۳-کلروفیل کل
Error! Bookmark not defined.	۶-۲-۱-۳-کاروتنوئید
Error! Bookmark not defined.	۷-۲-۱-۳-نشت سلولی غشاء
Error! Bookmark not defined.	۸-۲-۱-۳-پراکسیداز
Error! Bookmark not defined.	۹-۲-۱-۳-کاتالاز
Error! Bookmark not defined.	۱۰-۲-۱-۳-محتوای نسبی آب برگ
Error! Bookmark not defined.	۳-۱-۳-تجزیه واریانس مربوط به محتوای عناصر برگ و ریشه
Error! Bookmark not defined.	۱-۳-۱-۳-کادمیم ریشه
Error! Bookmark not defined.	۲-۳-۱-۳-روی برگ
Error! Bookmark not defined.	۳-۳-۱-۳-کادمیم برگ
Error! Bookmark not defined.	۴-۳-۱-۳-روی ریشه
Error! Bookmark not defined.	۴-۱-۳-نتایج مربوط به تاثیر تنش کادمیم و محلول پاشی سلنیم بر اجزای اسانس مرزه
Error! Bookmark not defined.	۱-۴-۱-۳-آلفاتوجن
Error! Bookmark not defined.	۲-۴-۱-۳-آلفاپینن
Error! Bookmark not defined.	۳-۴-۱-۳-آلفاترپینن
Error! Bookmark not defined.	۴-۴-۱-۳-بنزن
Error! Bookmark not defined.	۵-۴-۱-۳-گاماترپینن
Error! Bookmark not defined.	۶-۴-۱-۳-کارواکرول
Error! Bookmark not defined.	۷-۴-۱-۳-سیکلوهگزان
Error! Bookmark not defined.	۸-۴-۱-۳-بتامیرسن
Error! Bookmark not defined.	۹-۴-۱-۳-فلاندرن
Error! Bookmark not defined.	۱۰-۴-۱-۳-تیمول استات
Error! Bookmark not defined.	۱۱-۴-۱-۳-کاریوفیلن

۳-۲-۱-آزمایش دوم: تاثیر محلول پاشی با نیتریک اکسید و تنش کادمیم بر شاخص های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مرزه	۳-۲-۱-۱-۱-ارتفاع ساقه	۳-۲-۱-۲-۲-تعداد شاخه جانبی	۳-۲-۱-۳-تعداد برگ	۳-۲-۲-۲-شاخص های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی	۳-۲-۲-۱-پرولین	۳-۲-۲-۲-کربوهیدرات	۳-۲-۲-۳-کلروفیل a	۳-۲-۲-۴-کلروفیل b	۳-۲-۲-۵-کلروفیل کل	۳-۲-۲-۶-کاروتنوئید	۳-۲-۲-۷-نشت سلولی غشاء	۳-۲-۲-۸-آنزیم پراکسیداز	۳-۲-۲-۹-محتوای نسبی آب	۳-۲-۲-۱۰-آنزیم کاتالاز	۳-۲-۳-تجزیه واز یانس مربوط به محتوای عناصر برگ و ریشه	۳-۲-۳-۱-کادمیم برگ	۳-۲-۳-۲-کادمیم ریشه	۳-۲-۳-۳-روی برگ	۳-۲-۴-نتایج مربوط به تاثیر تنش کادمیم و محلول پاشی با اکسید نیتریک اکسید بر اجزای اسانس مرزه	۳-۲-۴-۱-آلفا توچن	۳-۲-۴-۲-آلفا پینن	۳-۲-۴-۳-آلفا ترپینن	۳-۲-۴-۴-بنزن	۳-۲-۴-۵-گاماترپینن	۳-۲-۴-۶-کاراکرول
---	-----------------------	----------------------------	-------------------	--	----------------	--------------------	-------------------	-------------------	--------------------	--------------------	------------------------	-------------------------	------------------------	------------------------	---	--------------------	---------------------	-----------------	--	-------------------	-------------------	---------------------	--------------	--------------------	------------------

Error! Bookmark not defined.سیکلو هگزان ۷-۴-۲-۳
Error! Bookmark not defined.بتامیرسن ۸-۴-۲-۳
Error! Bookmark not defined.فلاندرن ۹-۴-۲-۳
Error! Bookmark not defined.تیمول استات ۱۰-۴-۲-۳
Error! Bookmark not defined.کاریوفیلن ۱۱-۴-۲-۳

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

Error! Bookmark not defined. مرزه. ۱-۱-۴-۱ تأثیر فلز سنگین کادمیم بر شاخص های رشدی و بیوشیمیایی گیاه

Error! Bookmark not defined.پرولین ۲-۱-۴-۲

Error! Bookmark not defined.متابولیت های ثانویه ۳-۱-۴-۳

Error! Bookmark not defined. مرزه. ۱-۲-۴-۱ تأثیر محلول پاشی سلنیم بر شاخص های رشدی و بیوشیمیایی گیاه

Error! Bookmark not defined.اثر سلنیم بر صفات مورفولوژیکی گیاه مرزه ۲-۲-۴-۱

Error! Bookmark not defined.نشت سلولی غشاء ۳-۲-۴-۲

Error! Bookmark not defined.رنگیزه های فتوستتزی ۴-۲-۴-۲

Error! Bookmark not defined. مرزه. ۱-۳-۴-۱ تأثیر متقابل محلول پاشی سلنیم و تنش کادمیم بر شاخص های رشدی و بیوشیمیایی گیاه

Error! Bookmark not defined.پرولین ۲-۳-۴-۲

Error! Bookmark not defined.متابولیت ثانویه ۳-۳-۴-۳

Error! Bookmark not defined.ریشه کادمیم ریشه ۴-۳-۴-۴

Error! Bookmark not defined. مرزه. ۱-۴-۴-۱ تأثیر متقابل محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش کادمیم بر شاخص های رشدی و بیوشیمیایی گیاه

Error! Bookmark not defined.پرولین ۲-۴-۴-۲

Error! Bookmark not defined.کادمیم اندام هوایی ۳-۴-۴-۳

Error! Bookmark not defined.متابولیت های ثانویه ۴-۴-۴-۴

Error! Bookmark not defined.نتیجه گیری کلی ۵-۴-۵-۵

Error! Bookmark not defined.پیشنهادات ۶-۴-۶-۶

Error! Bookmark not defined.منابع و مأخذ ۶-۴-۶-۶

فهرست شکل ها

صفحه	عنوان
Error! Bookmark not defined.	شکل ۱-۲: آبیاری مرزه
Error! Bookmark not defined.	شکل ۲-۲: پودر کردن نمونه جهت سنجش کلروفیل
Error! Bookmark not defined.	شکل ۴-۲: قرار دادن نمونه‌ها روی شیکر
Error! Bookmark not defined.	شکل ۳-۲: تهیه دیسک‌های برگ‌گی در آب مقطر
Error! Bookmark not defined.	شکل ۵-۲: تهیه نمونه‌های برگ‌گی در آب مقطر
Error! Bookmark not defined.	شکل ۶-۱: ساییدن نمونه جهت سنجش پرولین
Error! Bookmark not defined.	شکل ۷-۲: تهیه عصاره جهت اندازه‌گیری عناصر

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲ خصوصیات اندازه‌گیری شده خاک مورد آزمایش	Error! Bookmark not defined.
جدول ۱-۳ تجزیه واریانس تاثیر محلول پاشی سلنیم و تنش کادمیم بر شاخص‌های مورفولوژیک گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۲-۳ مقایسه میانگین اثرات متقابل محلول پاشی سلنیم و تنش کادمیم بر شاخص‌های مورفولوژیک گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۳-۳ تجزیه واریانس تاثیر محلول پاشی سلنیم و تنش کادمیم بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مرزه.	Error! Bookmark not defined.
جدول ۴-۳ مقایسه میانگین اثرات متقابل محلول پاشی سلنیم و تنش کادمیم بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۵-۳ تجزیه واریانس تاثیر محلول پاشی سلنیم و تنش کادمیم بر عناصر کادمیم و روی گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۶-۳ مقایسه میانگین اثر محلول پاشی سلنیم و تنش کادمیم بر عناصر کادمیم و روی در گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۷-۳ تاثیر محلول پاشی سلنیم بر ترکیبات اسانس مرزه در شرایط تنش کادمیم .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۸-۳ تجزیه واریانس تاثیر محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش کادمیم بر شاخص‌های مورفولوژیک گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۹-۳ مقایسه میانگین اثرات متقابل محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش کادمیم بر شاخص‌های مورفولوژیک گیاه مرزه.	Error! Bookmark not defined.
جدول ۱۰-۳ تجزیه واریانس تاثیر محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش کادمیم بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۱۱-۳ مقایسه میانگین اثر متقابل محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش کادمیم بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۱۲-۳ تجزیه واریانس تاثیر محلول پاشی نیتریک اکسید و تنش کادمیم بر عناصر کادمیم و روی گیاه مرزه .	Error! Bookmark not defined.
جدول ۱۴-۳ تاثیر محلول پاشی نیتریک اکسید بر ترکیبات اسانس مرزه، تحت تنش کادمیم .	Error! Bookmark not defined.

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار ۱-۳- اثر تنش کادمیم بر محتوای نسبی آب برگ.....	۳۷
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۲-۳- اثر محلولپاشی سلنیم بر محتوای نسبی آب	
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۳-۴- تاثیر کادمیم بر کادمیم برگ	
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۳-۳- تاثیر سلنیم بر کادمیم برگ	
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۳-۶- تاثیر کادمیم بر عنصر روی ریشه	
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۳-۵- تاثیر سلنیم بر عنصر روی ریشه	
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۳-۷- اثرات تنش کادمیم بر محتوای نسبی	
نمودار ۳-۸- تاثیر کادمیم بر آنزیم کاتالاز.....	۵۲
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۳-۹- تاثیر نیتریک اکسید بر آنزیم کاتالاز	
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۳-۱۰- تاثیر کادمیم بر عنصر روی برگ	
Error! Bookmark not defined.	
نمودار ۳-۱۱- تاثیر نیتریک اکسید بر عنصر روی برگ	

فصل اول

کلیات پژوهش

۱-۱- مقدمه

ماده غذایی مناسب برای صحیح و مدرن باید خوش طعم، بهداشتی، خاصیت سیرکنندگی و صرفه اقتصادی داشته باشد. که اکثر سبزی‌ها این ویژگی را دارا هستند. وجود سبزی‌ها در غذای روزانه انسان الزامی است به طوری که باید ۸۰ درصد حجم کل غذا را محصولات باغبانی (میوه و سبزی) تشکیل دهد. سبزی‌ها از نظر دارا بودن انواع ویتامین‌ها، مواد معدنی، مواد پروتئینی، ترکیبات قندی و به لحاظ داشتن مقدار قابل توجهی فیبر که باعث سهولت هضم غذا می‌شود، نقش بسیار مهمی را در تغذیه انسان ایفا می‌کنند. لازم به ذکر است که بسیاری از مواد مورد احتیاج بدن، که وجود آن‌ها حتی به مقدار بسیار کم برای ادامه حیات ضروری است در غذاهای حیوانی یافت نمی‌شود و یا مقدار آن‌ها بسیار کم است در صورتی که در سبزی‌ها به حد وفور وجود دارد. در حالی که در گیاهانی که آلوده به فلزات سنگین هستند، محتوی مواد سمی و خطرناکی با بیش از غلظت مجاز می‌باشند.

مرزه با نام علمی *Satureja hortensis L.* یک سبزی خوشبو و معطر است که دارای ارزش تغذیه‌ای و دارویی است و برگ‌های آن دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. ترکیبات فنولی مانند کاروکرول در مرزه وجود دارد که دارای خاصیت ضد باکتریایی است همچنین طعم تند و بی‌نظیری به مرزه می‌بخشد (امیدیگی، ۱۳۷۹).

رشد روز افزون جمعیت و افزایش تقاضا برای آب و غذا و مشکلات ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها در جهت افزایش عملکرد محصولات کشاورزی، آبیاری با فاضلاب‌ها و نشت کارخانه‌ها، تجمع فلزات سنگین را در محصولات غذایی مورد استفاده انسان در پی داشته است. غلظت زیاد فلزات سنگین در خاک باعث جذب زیاد آن به وسیله گیاه می‌گردد گیاهان مهم‌ترین مسیر انتقال فلزات سنگین به زنجیره غذایی انسان و چرخه‌های زیستی محسوب می‌شوند. که منجر به بروز مشکلات سلامتی در زمان مصرف، توسط انسان و حیوان می‌شوند (علی نژاد، ۱۳۸۹). یکی از مسائل زیست‌محیطی آلوده شدن خاک زیرکشت گیاهان مختلف به فلزات سنگین می‌باشد. فلزات سنگین به‌عنوان فلزاتی با عدد اتمی بیشتر از ۲۰ و چگالی بیشتر از پنج گرم بر سانتی‌متر مکعب تعریف شده است. تعدادی از آنها (مس، روی، نیکل، مولیبدن، منگنز و آهن) عناصر کم مصرف ضروری هستند که در رشد طبیعی، واکنش‌های اکسایش-احیا و انتقال الکترون و بسیاری از فرآیندهای متابولیکی دیگر شرکت می‌کنند، ولی مقدار اضافی آنها در خاکها موجب اختلالات متابولیکی و بازدارندگی رشد در بیشتر گونه‌های گیاهی می‌شود. تعدادی دیگر از آنها مانند سرب، کادمیم، کروم و جیوه غیرضروری بوده و حتی در غلظت‌های کم نیز برای گیاهان سمی هستند (روبیو و همکاران، ۲۰۱۲). تغییرات مکانی فلزات سنگین در خاک‌های سطحی کشاورزی ممکن است تحت تأثیر مواد مادری خاک و فعالیت‌های انسانی باشد. به عبارت دیگر، این فلزات به طور طبیعی و از منابع غیرانسانی مانند هوازدگی سنگ مادر در خاک وجود دارند (غیائی و همکاران، ۲۰۱۰). اما بر اثر فعالیت‌های انسانی

نیز به خاک افزوده می شوند (سرما و همکاران، ۲۰۱۱). درحقیقت فعالیت‌های انسانی مانند توسعه صنایع، ذوب فلزات، استخراج معادن، مصرف کودهای شیمیایی حاوی فلزات سنگین ممکن است منجر به تجمع بیشتر فلزات سنگین در خاک شود (مکانلی و همکاران، ۲۰۰۹). یون‌های فلزات سنگین زمانی که در مقادیر زیاد در محیط وجود داشته باشند به وسیله ریشه گیاهان جذب و به اندام‌های هوایی منتقل شده و موجب اختلال در سوخت‌وساز گیاه و کاهش رشد می شوند (الی و همکاران، ۲۰۱۰). علاوه بر این، وجود مقادیر زیاد فلزات سنگین در خاک یک تهدید جدی می باشد زیرا ممکن است سبب تخریب ساختمان خاک، کاهش فعالیت‌های زیستی و حاصلخیزی خاک، کاهش عملکرد، افت کیفیت محصولات، افزایش غلظت آنها در تولیدات کشاورزی و به خطر انداختن سلامت انسان از طریق ورود به زنجیره غذایی شود (لی و همکاران، ۲۰۰۶). موارد گوناگونی از آلودگی به فلزات سنگین در گیاهان دارویی و پتانسیل بالای این گیاهان در جذب و انتقال فلزات سنگین به بخش‌های قابل استفاده به وسیله محققان مختلف گزارش شده است (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۲).

سلنیم یک عنصر غیر ضروری برای انسان و حیوانات است، که برای گیاه سودمند می‌باشد. در بسیاری از کشورهای جهان مانند چین و مصر که کمبود غذا یک مشکل رایج می‌باشد، از عناصری مانند سلنیم برای افزایش مقدار قسمت‌های خوراکی محصولات، از طریق محلول‌پاشی برگ‌گی یا به صورت کوددهی استفاده می‌شود. همچنین برای رفع تنش‌های تحریک‌شده در گیاهان توسط سرما، خشکی، نور شدید، آب، شوری و فلزات سنگین استفاده می‌شود. اما مکانیسم‌های مربوط به آن نسبتاً پیچیده هستند و به صورت کامل بیان نشده است. با تأکید بر نقش ترکیبات سلنیم در ایجاد مقاومت در برابر تنش‌های غیرزیستی. مطالعات بسیاری سلنیم را در مکانیسم‌های تنظیم گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و آنتی‌اکسیدان‌ها، بازدارندگی از جذب و جایگیری فلزات سنگین و نهایتاً بازسازی غشای سلولی و ساختار کلروپلاست و بهبود سیستم فتوسنتزی دخیل دانسته (فنگ و همکاران، ۲۰۱۲). نیتریک اکسید یک رادیکال نسبتاً پایدار است. در ابتدا این گاز به عنوان آلوده‌کننده محیطی مورد توجه قرار گرفت، هرچند بررسی‌های اخیر نشان داد که NO^- می‌تواند در فرایندهای مختلف فیزیولوژیک و نمو مثل جوانه‌زنی دانه، بسته شدن روزنه، پاسخ به عوامل بیماری‌زا و نمو ریشه دخالت نماید (دوان و همکاران، ۲۰۰۷). از طرف دیگر، NO می‌تواند به عنوان واسطه در عمل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و متابولیسم رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) شرکت کند و در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز دخالت دارد (دل‌رایو و همکاران، ۲۰۰۴).

۱-۲- تیره نعناعیان

گیاهان این تیره شامل حدود ۱۶۰ جنس و بیش از ۳۰۰۰ گونه هستند، که تقریباً در تمام نقاط دنیا به‌خصوص در نواحی مدیترانه رشد می‌کنند. این گیاهان علفی، خشبی، یک ساله، دوساله یا چند ساله بوده و از نظر نحوه‌ی زندگی و نیازهای اکولوژیکی بسیار متفاوت هستند. ماده موثره گیاهان این تیره عمدتاً از نوع اسانس است که در کرک‌های ترش‌گی یا حجره‌های مخصوص در برگ، ساقه و گل‌ها ساخته و ذخیره می‌شود. در اندام‌های مختلف این گیاهان، موسیلاژ، تانن و مواد تلخ نیز

وجود دارد. از گیاهان دارویی تیره نعناع، گیاهان نعناع، بادرشی، مرزه، مریم‌گلی، گل‌مکزیک، ریحان، آویشن باغی، بادرنبویه، زوفا، اسطوخودوس را می‌توان نام برد (امید بیگی، ۱۳۸۴).

۱-۲-۱- تاریخچه و منشا مرزه

مرزه با نام انگلیسی *Summer savory* و نام علمی *Satureja hortensis*. L یک‌ساله از تیره نعناعیان و زیرخانواده Nepetoideae و قبیله Menthae می‌باشد که شمار کروموزوم‌های آن $2n=48$ می‌باشد (هادیان و همکاران، ۲۰۰۸). مرزه بومی مناطق مدیترانه‌ای است و بیش از ۳۰ گونه از آن در بخش‌های شرقی مدیترانه قرار دارند (بندیکیسی و همکاران، ۱۹۹۲؛ امیدبیگی و حجازی، ۲۰۰۴). چهل گونه از جنس *Satureja* به صورت وحشی در بخش‌های شمالی و غربی ایران رشد یافته‌اند (ریچینگر ۱۹۸۲؛ آباد و همکاران ۱۹۹۹).

۱-۲-۲- ریخت‌شناسی اندام‌های مرزه

ویژگی‌های مورفولوژیکی این گونه از گیاهان خانواده نعناعیان تبعیت می‌کند. ریشه مرزه مستقیم بوده و از انشعاب‌های فراوانی برخوردار است. در این گیاه، ساقه چهارگوش و مستقیم است و ارتفاع آن به شرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد و بین ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر است. (قسمت تحتانی) ساقه چوبی و بندرت کرکدار بوده و رنگ آن سبز تیره است و در مرحله گلدهی، رنگ آن به بنفش یا قهوه‌ای روشن تبدیل می‌شود (امیدبیگی، ۱۳۸۸). ساقه‌ها عمودی، شاخه‌دهی در پایه صورت می‌گیرد و طول شاخه‌ها ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر می‌باشد این گونه دارای برگ‌هایی است که در جهت طولی تاخوردگی داشته و به شکل مستطیلی-خطی بوده و به صورت مجتمع در طول ساقه قرار گرفته‌اند. روی برگ‌ها در سطح زیرین و همچنین کاسه گل و گل‌غده‌های ترش‌چی که حاوی اسانس می‌باشد، دیده می‌شود (امیدبیگی و حجازی، ۲۰۰۴). گل‌ها دوجنسی به رنگ صورتی مایل به ارغوانی، میوه کپسول دارای دانه‌های قهوه‌ای تیره و وزن هزار دانه‌اش ۰.۴ تا ۰.۶ گرم است (طاهره ملاحی، ۱۳۸۹).

۱-۲-۳- موارد مصرف و خواص دارویی مرزه

مرزه به عنوان یک سبزی پرمصرف، مقوی معده، مدر (یزدانپرست و همکاران، ۲۰۰۸) بادشکن، تقویت‌کننده قوای جنسی، ضد تشنج، خلط‌آور، اشتها‌آور و ضد اسهال است (هادیان و همکاران، ۲۰۰۸). امروزه نیز مطالعاتی برای بررسی اثرهای دارویی و درمانی آن نظیر ضد نفخ، اثرهای گوارشی، ضد تشنج، خلط‌آور، قارچ‌کش، ضد اسهال، مسکن و آنتی‌اکسیدانی انجام شده است. باکتریهای گرم مثبت نسبت به اسانس آن در مقایسه با باکتریهای گرم منفی حساسیت بیشتری از خود نشان دادند. نتایج آزمایش خواص ضد میکروبی *S. subspicata* را ثابت کرد و نشان داد که این گیاه می‌تواند در صنایع غذایی و داروسازی به عنوان یک منبع ضد میکروبی مورد استفاده قرار گیرد. دیک‌باس و همکاران طی تحقیقاتی گزارش کردند که ماده مؤثره کارواکروول می‌تواند برای کنترل غلظت آفلاتوکسین در غلات مفید باشد و نیز در تحقیقی که روی اثرات ممانعت‌کنندگی اسانس مرزه روی رشد و تولید آفلاتوکسین در قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس به اثبات رسیده است (داوری و همکاران، ۱۳۹۵). ترکیبات اصلی اسانس مرزه شامل فنول‌ها، کارواکروول، تیمول، همچنین پسیمن، بتاکاریوفیلن، لینالول و دیگر ترپنوئیدها می‌باشد (امیدبیگی و حجازی، ۲۰۰۴). مقدار اسانس بین ۱ تا ۲ درصد است. میزان کارواکروول ۳۰ تا ۴۰ درصد

و میزان تیمول ۲۰ تا ۳۰ درصد اسانس بوده است. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های گیاهی برحسب منطقه جغرافیایی رویش، رقم، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، اسانس گیری از اندام های مختلف و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه، می تواند تغییر کند (کامکار و همکاران، ۱۳۹۱). از مواد دیگر پیکره رویشی این گیاه می توان از ترکیبات آهن دار و ترکیبات قندی و تعدادی از اسیدهای آلی یاد کرد (امیدیگی، ۱۳۸۸). اسانس و الثوروزین به طور گسترده ای به عنوان عامل چاشنی، آنتی اکسیدانت و ضدباکتری در غذاها و صنعت داروسازی استفاده می شود (امیدیگی و حجازی، ۲۰۰۴). میزان اسانس در اندام هوایی مرزه متفاوت بوده و به شرایط اقلیمی محل رویش گیاه بستگی دارد. در مرحله گلدهی میزان اسانس در این گیاه حداکثر است (امیدیگی، ۱۳۸۸).

۱-۲-۴-۱- کولوژی رشد

نوع خودروی مرزه بیشتر در زمین های خشک آهکی و در محل های گرم آفتابگیر و نواحی سنگلاخی و مزارع شنی می - روید. اصولا مرزه در طول رویش به هوای گرم و نور کافی نیاز دارد. بذور در دمای ۱۲ تا ۱۵ درجه سانتی گراد جوانه می زند ولی درجه حرارت مطلوب برای آنها بین ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد می باشد. گیاهان جوان به درجه حرارت پایین حساس هستند و بطوریکه در ۱- تا ۲- درجه سانتی گراد دچار سرمازدگی شده و از بین می روند. رشد مرزه در دمای ۱۰ درجه سانتی - گراد متوقف می شود. pH خاک برای کشت مرزه بین ۵.۶ تا ۸.۲ مناسب است.

۱-۲-۵- کاشت مرزه

مرزه را مانند سایر گیاهان یکساله می توان با اکثر گیاهان به تناوب کشت کرد بطور کلی ۲ تا ۳ سال پس از برداشت مرزه باید آنرا در همان زمین کشت کرد. کاشت ردیفی در زمین اصلی در فصل بهار شروع می شود. فاصله ردیف ها در کشت مرزه متفاوت و بستگی به روش کشت دارد. تعداد بذر در هر متر طول ردیف ۱۲۰ تا ۱۴۰ عدد مناسب است. عمق کاشت بذر مرزه در خاک های مختلف متفاوت و بین ۰/۵ تا ۱/۵ سانتی متر می باشد. کاشت بذر در اعماق بیشتر مناسب نیست و سبب عدم جوانه زنی آنها می شود. (ملاحی، ۱۳۸۹).

۱-۲-۶- برداشت مرزه

گیاهان در مرحله گل دهی حاوی حداکثر مقدار اسانس می باشند از اینرو برداشت پیکر رویشی آنها از این مرحله آغاز می شود. در صورت مراقبت مناسب از نظر آبیاری رسیدگی به خاک و عناصر موجود در آن جهت رویش مناسب گیاه، می توان در طول سال ۲ یا حتی ۳ بار محصول برداشت نمود. اولین برداشت همواره در آغاز گل دهی انجام می گیرد. دومین برداشت معمولا اواخر شهریور-اوایل مهر مناسب می باشد. برداشت محصول توسط ماشین یا داس صورت می گیرد و کلیه اندام های هوایی گیاهان برداشت می شوند. پس از جمع آوری محصول را خشک می کنند. دمای مناسب برای خشک شدن اندام های رویشی مرزه ۴۰+ درجه سانتی گراد است. مقدار عملکرد وزن خشک پیکر رویشی بین ۱/۴ تا ۱/۸ تن در هکتار است. معمولا ۱۴۰ تا ۱۶۰ روز پس از سبز شدن بذر میوه ها می رسند. زمان مناسب برای جمع آوری بذر در اوایل

شهریور ماه است. رنگ بذر از اوایل شهریور بتدریج قهوه ای می شود. بذور کاملاً رسیده با کوچکترین ضربه ای به اطراف پراکنده می شوند. مقدار محصول بذر بین ۱۵۰ تا ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار است (ملاحی، ۱۳۸۹).

۱-۳-تنش

تنش به مفهوم تغییر شرایط طبیعی و بهینه فیزیولوژی گیاه است که باعث کاهش رشد و نمو می گردد. گیاهان همانند سایر موجودات زنده تحت تأثیر تنش‌های مختلف از جمله تنش‌های غیرزیستی ناشی از شوری، خشکی، سرما، یخ‌زدگی، دمای بالا، فلزات سنگین، شرایط غرقابی، تابش پرتوهای فرابنفش و آسیب‌های ناشی از کمبود و یا بیش بود برخی از عناصر خاک قرار می گیرند. همچنین گیاهان در معرض تنش‌های زیستی نظیر آفات، بیمارگرها و علف‌های هرز قرار گرفته و میزان محصول تولیدی آنان نیز کاهش می‌یابد. تنش‌های محیطی مهمترین عوامل کاهش دهنده عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند. چنانچه تنش‌های محیطی حادث نمی‌شدند، عملکرد واقعی باید برابر با عملکرد پتانسیل گیاهان می بود، در حالی که در بسیاری از گیاهان زراعی متوسط عملکرد گیاهان کمتر از ۲۰-۱۰ درصد پتانسیل عملکرد آنان است. در نقاط خاصی از کره زمین به دلیل موقعیت خاص جغرافیایی، عوامل تنش‌زا در تولید محصولات ک کشاورزی تأثیر منفی بیشتری دارند و کشاورزی در آن مناطق با تحمل هزینه بیشتر و بازده کمتر صورت می‌گیرد (آئینی و همکاران، ۱۳۹۳).

۱-۳-۱-تنش فلزات سنگین

فلزات سنگین فلزاتی با چگالی بیش از ۵ گرم/سانتی‌متر مکعب هستند. ۹۰ عنصر طبیعی وجود دارند که ۵۳ عنصر از آن‌ها فلزات سنگین هستند اما همه آن‌ها از نظر بیولوژیکی مهم نیستند. در شرایط فیزیولوژیکی و بر پایه قابلیت حل‌الیت آنها، ۱۷ فلز سنگین ممکن است در سلول‌های زنده وجود داشته باشند و برای اندام‌ها و اکوسیستم اهمیت داشته باشد (ساتسنبل و پال، ۲۰۰۲). آلودگی فلزات سنگین یک مسئله در حال رشد است که به‌خاطر فعالیت‌های شدید انسانی در طول قرن گذشته به‌وجود آمده و ثابت شده که فلزات سنگین، بسته به مقدار جذب، به‌طور وسیعی به گیاهان آسیب می‌زند که منجر به اثرات زیر می‌شود:

۱-عناصری مانند کادمیم (Cd) (کومار و همکاران، ۲۰۱۲)، آرسنیک (As) (مالیک و همکاران، ۲۰۱۲)، سرب (pb) (مروزک و واجسیک، ۲۰۱۱)، آلومینیوم (Al) (کارتز و همکاران، ۲۰۱۰) و آنتیموان (Sb) (فنگ و همکاران، ۲۰۱۱) می‌توانند تنش اکسیداتیوی را تحریک کنند. ۲-فلزات سنگین مانند کادمیم (Cd) (فایلیک و همکاران، ۲۰۰۹)، سرب (pb)، مس (Cu)، روی (Zn) (فارگاساوا و همکاران، ۲۰۰۶) و آرسنیک (As) (مالیک و همکاران، ۲۰۱۲) از فتوسنتز جلوگیری می‌کنند و مقدار کلروفیل را کاهش می‌دهند. ۳-فلزات سنگین مانند کادمیم تمامیت غشای سلولی را تجزیه می‌کند (فایلیک و همکاران، ۲۰۰۹). ۴-عناصری مانند کادمیم (Cd) (زمبالا و همکاران، ۲۰۱۰)، آرسنیک (As) (کائو و همکاران، ۲۰۰۴) و آنتیموان (Sb) (شاتانگیوا و همکاران، ۲۰۱۱) از جذب عناصر ضروری جلوگیری می‌کنند. در میان این فلزات آهن (Fe)، مولیبدن (Mo)، مس (Cu)، کبالت (Co)، وانادیوم (V)، تنگستن (W) و کروم (Cr) عناصر نشانه هستند اما در غلظت‌های بالاتر سمی هستند و عناصر دیگر

مانند آرسنیک (As)، جیوه (Hg)، نقره (Ag)، آنتیمون (Sb)، کادمیم (Cd)، پالادیوم (Pd) و اورانیوم (U) عملکرد خاصی ندارند و به نظر می رسد برای میکروارگانیزم ها و گیاهان سمی باشند (نظر و همکاران، ۲۰۱۲).

۱-۳-۲- تاثیر فلزات سنگین روی گیاهان

۱-۳-۲-۱- رشد و نمو

آلودگی فلزات سنگین نه تنها برای مناطق مختلف در جهان یک مشکل بزرگ است، بلکه ممکن است تولیدات کشاورزی را نیز کاهش دهد. بسیاری از فعالیت های کشاورزی و صنعتی، آلودگی فلزات سنگین را در سطوح شهر توزیع می کند. فلزات سنگین در جذب و انتقال عناصر ضروری تاثیر منفی دارند. در نتیجه متابولیسم را مختل می کنند و رشد و تولید مجدد را تحت فشار قرار می دهد (سو و همکاران ۲۰۰۸). بیشتر از ۳۰ میکروگرم سرب، منجر به کاهش رشد و کاهش سنتز کلروفیل در برگ می شود (رولی و همکاران ۲۰۰۴). سمیت و تحمل به تنش فلزات سنگین از یک گیاه به گیاه دیگر متفاوت است، و تلاش های زیادی برای مکانیسم تحمل در سطح ملکولی بطور کامل نتیجه نداشت. بنابراین برای مقابله با این تنش، گیاهان به یک شرایط فیزیولوژیکی پیچیده و فرایندهای بیوشیمیایی نیاز دارند (هوانگ و همکاران ۲۰۱۲). بیان ژن، تغییر پروتیین، تغییر در ترکیب متابولیک که منجر به تحمل و دریافت سیگنال مناسب تنش خواهد شد (اورانو و همکاران ۲۰۱۰). در گیاهچه هایی که با فلزات سنگین آلوده شده اند، سیستم ریشه ای به طور ضعیف توسعه یافته و یا از رشد بازداشته می شوند که پتانسیل جذب آب و نیتروژن از خاک را کاهش می دهد و بدین وسیله از رشد بیشتر جلوگیری می کند. کاهش معنی دار شمار و سطح برگ ها، ناشی از فلزات سنگین، می تواند به فعالیت فتوسنتزی کاهش یافته و مقدار نیتروژن پایین نسبت داده شود (فایزان و همکاران، ۲۰۱۱). کادمیم (Cd)، آلومینیوم (Al) و جیوه (Hg) شدیداً سمی هستند و از جذب آب و نیترات در نخودفرنگی (*Pisum sativum* L) ممانعت می کند و همزمان در ریشه ها تجمع می یابند و به حمل کننده های یون های ضروری مانند کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg) و پتاسیم (K) متصل می شوند (وانگ و گریگر، ۲۰۰۴). طول ریشه ها و شاخه ها در *Bracica juncea* که در معرض کادمیم (Cd) و پالادیوم (Pd) قرار داشتند کاهش یافت (جان و همکاران، ۲۰۱۲). کاهش رشد در گیاه خردل به دلیل سطوح بالای کادمیم (Cd) و پالادیوم (Pd) که باعث کاهش پتانسیل جذب آب و جذب نیترات می شود (احمد و همکاران، ۲۰۱۲). اثرات بازدارندگی عناصر سنگین مانند کادمیم (Cd) و جیوه (Hg) روی پارامترهای مورفولوژی در گیاه *Abelmoschus sculentum* گزارش شده است. علائم سمیت در پاسخ به تنش فلزات سنگین ممکن است ناشی از دامنه ای از واکنش ها در سطح سلولی باشد. تنش بیش از حد فلزات باعث تشکیل رادیکال های آزاد می شود که به عملکرد سلولی گیاهان آسیب می رساند (احمد و همکاران، ۲۰۱۲). تنش فلزات سنگین منجر به کاهش وزن خشک و عملکرد بذر می شود و مقدار پروتیین بذر را پایین می آورد. کادمیم سمی ترین فلز برای عملکرد محصولات و به شدت وزن خشک شاخه، ریشه و عملکرد بذر را کاهش می دهد (احمد و همکاران، ۲۰۱۱). میزان سمیت نسبی کادمیم (Cd) و کبالت (Co) بیشتر از منگنز است (احمد و همکاران، ۲۰۱۱).

۱-۳-۲-۲-تنش اکسیداتیو

وقتی گیاهان در معرض تنش فلزات سنگین قرار می‌گیرند و در گیاه اختلال ایجاد می‌شود، رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) را فعال می‌کند. رادیکال‌های آزاد اکسیژن ها مانند رادیکال (O₂) و هیدروژن پراکسید (H₂O₂) و رادیکال هیدروکسیل (-OH) می‌تواند تاثیرات زیان‌آوری روی متابولیسم طبیعی داشته باشد که منجر به آسیب‌های پراکسیداسیون برای لپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شود (هوانگ و همکاران، ۲۰۱۲). برخی از یون‌ها با ویژگی‌های احیا کنندگی زیاد مس و شاید حتی یون‌هایی که فاقد این ویژگی‌ها هستند مانند روی و کادمیوم به عنوان آغازکننده‌های پراکسیداسیون لیپید و غشاء و تحریک‌کننده‌های تولید گونه‌های فعال اکسیژن شناخته شده‌اند (شارما و همکاران، ۲۰۰۴). پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی در سطوح مورفولوژیک، آناتومی، سلولی و مولکولی متفاوت است (یاماگوچی و همکاران، ۲۰۰۲). گیاهان برای محافظت از خود در مقابل آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های اکسیژنی دارای یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند (گروپا و همکاران، ۲۰۰۷).

۱-۳-۳-۳-متابولیت‌های ثانویه

متابولیت‌های ثانویه گیاه یا تولیدات طبیعی گیاه از متابولیت‌های اولیه با فعالیت‌های مختلف فیزیولوژیکی تشکیل شده است. متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، یک نقش حیاتی در ایجاد تعامل قوی بین گیاه و محیط، برای حفظ و بقای گیاه بازی می‌کنند، که این متابولیت‌ها را برای متابولیت اولیه گیاه ضروری می‌سازد (کلاینستین، ۲۰۱۲). اگرچه متابولیت‌های ثانویه هیچ تاثیر کوتاه مدتی بر بقاء گیاه ندارد ولی در دراز مدت، اثرات سودمندی بر حفظ و بقاء گیاه دارد (کاستا و همکاران، ۲۰۱۲). گیاهان بیش از ۱۰۰۰۰۰ متابولیت ثانویه تولید می‌کنند که به گروه‌های خاصی طبقه‌بندی می‌شوند. براساس روش‌های بیوسنتز، متابولیت‌های ثانویه به سه گروه عمده شامل: تریپن‌ها (یا ایزوپرنونوئیدها)، ترکیبات فنولیکی (فنیل پروپانوییدها یا فلاونوئیدها) و ترکیبات حاوی نیتروژن (آلکالوئیدها، گلوکوزینولات‌ها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک).

۱-۳-۳-۱-نقش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان

متابولیت‌های ثانویه ترکیبات کلیدی هستند که باعث ایجاد طعم، رنگ و بو در گیاهان می‌شوند و در شرایط مختلف مانند تنش‌های محیطی، آفات و پاتوژن‌ها، به عنوان یک مکانیسم دفاعی از گیاهان حفاظت می‌کند. متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی در صنایع دارویی، تغذیه و لوازم آرایشی دارد (فانگ و همکاران، ۲۰۱۱). داروهایی مانند وینبلاستین، کمپوتوتسین و نیکوتین که توسط بسیاری از متابولیت‌های ثانویه تهیه شده‌اند در درمان بیماری‌های شدید مانند سرطان کاربرد دارند. با وجود چنین کاربردهایی که برای انسان و گیاهان دارند، مقدار این متابولیت‌ها به دلیل شرایط محیطی در گیاهان، متغیر است. مقدار متابولیت‌های ثانویه مختلف از یک گونه به

گونه دیگر و همچنین در یک گونه یکسان متفاوت است (بارتون و کاریچوا، ۲۰۱۰). انتقال و ذخیره متابولیت‌های ثانویه به محل اصلی که توسط مسیرهای بیوسنتزی تولید می‌شوند، تحت تاثیر فاکتورهای سلولی و بیوشیمیایی قرار دارد. آغازش و تمایز ساختارهای سلولی ویژه برای سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه نیز تحت تاثیر عوامل رشدی قرار دارد (بران و همکاران،

۲۰۰۶). غلظت آنها نیز تحت تاثیر چندین عامل غیرزیستی مانند فلزات سنگین، دما، خشکی، شوری، تابش UV، نور و کمبود مواد غذایی قرار دارد (گواویا و همکاران، ۲۰۱۲).

۱-۳-۲- تاثیر فلزات سنگین بر متابولیت‌های ثانویه

گیاهان دارویی به دلیل وجود متابولیت‌های ثانویه در برخی از گونه‌ها و خانواده‌های خاص، از گیاهان غیردارویی متمایز شده‌اند. متابولیت ثانویه معمولاً بر اساس منشأ زیست ساختی به سه گروه مهم شامل ترین‌ها، فنول‌ها و ترکیبات نیتروژن‌دار تقسیم می‌شوند (بورگارد و همکاران، ۲۰۰۱). یونهای فلزی (لانتانوم، اوروپیم، نقره، کادمیم) و اکسالات‌ها تولید متابولیت‌های ثانویه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (مارشتر، ۱۹۹۵). فلزات سنگین به طور آشکاری بیوسنتز آنتوسیانین‌ها را با جلوگیری از فعالیت ۱-فنیل آلانین آمونیلایز (PLA)، محدود می‌کند (بارانفسکا و همکاران ۱۹۹۶). تجمع موثر فلزات کروم (Cr)، آهن (Fe)، روی (Zn) و منگنز (Mn) مقدار روغن تولید شده جنس پراسیکا را به بیشتر از ۳۵ درصد افزایش می‌دهد (سینگ و سینها ۲۰۰۵). نشان داده شده است که مس (Cu) و کادمیم (Cd) عملکرد بالای متابولیت‌های ثانویه را همچون شیکونین (میزوکامی و همکاران ۱۹۷۷) و همچنین تولید دیجیتالین را تحریک می‌کند (اولسون و برگلند، ۱۹۹۸). همچنین مس (Cu) تولید بتا آلانین در چغندر قند (*Beta vulgaris L*) را تحریک کرده (تریه-تاپیا و همکاران ۲۰۰۱). کبالت (Co) و مس (Cu) تاثیرات تحریک آمیزی را روی تولید متابولیت‌های ثانویه نشان داده (تریه-تاپیا و همکاران ۲۰۰۱). در یک تلاش برای تسهیل تولید بتا آلانین، ریشه‌های مویی یون‌های فلزی را نمایان ساختند (رودراپا و همکاران، ۲۰۰۴) و اوبرونوویچ (۱۹۹۰) اثرات تحریک آمیز مس (Cu) روی تجمع بتاسیانین را در کالوس ارقام (*Amaranthus caudatus L*) اثبات کردند به علاوه روی (Zn) (۹۰۰ میکرومولار) عملکرد لیپیدین را در ارقام گیاه شاهی (*lipidium sativum L*) افزایش می‌دهد (اوبرونوویچ ۱۹۹۰). اگرچه ثابت شده است مس (Cu) در افزایش عملکرد تاثیر گذارتر از روی (Zn) می‌باشد (پاند و همکاران ۲۰۰۰). در گیاهان جو دوسر (*Avena sativa L*) و لوییا (*Phaseolus vulgaris L*)، که با کادمیم و مس تیمار شدند به طور معنی داری مقدار پوتریسین (put) افزایش یافت (وینستین و همکاران، ۱۹۸۶). سطح برگ‌های آفتابگردان (*Helianthus annuus L*) کاهش معناداری در مقدار اسپرمیدین (spd) نشان دادند ولی زمانی که به ترتیب با کادمیم (Cd) یا مس (Cu) تیمار شدند، هیچ نوسانی در سطح اسپرمین (spm) نبود (گروپا و همکاران، ۲۰۰۰). جاکوبسن و همکاران گزارش کردند که هیچ تغییری در مقدار اسپرمیدین (spd) و اسپرمین (spm) برگ‌های گیاهان جو (*Hordeum vulgare L*) و گل جالیز (*Obancher*) که در معرض کرومیوم قرار گرفتند، ندارد (جاکوبسن و همکاران ۱۹۹۲). اما با افزایش غلظت یا مدت قرارگیری، پوتریسین (put) تجمع می‌یابد. لین و کائو گزارش کردند که تیمار مس، پوتریسین (put) را در برگ‌های برنج (*Oryza sativa L*) کاهش می‌دهد (لین و کائو، ۱۹۹۹). تنش کادمیم در گیاه دارویی فیلاتنوس آمارانتوس^۱ باعث افزایش تولید فیلاتین و هیپوفیلاتین می‌شود (رای و همکاران، ۲۰۰۵). در ریحان (*Ocimum basilicum L*) افزایش کادمیم، کروم و سرب باعث کاهش میزان لینالول و افزایش میزان متیل چاویکول می‌شود (پراساد و همکاران، ۲۰۱۱).

1. *Phyllanthus amarus schum*

۱-۳-۲-۴-اختلال مواد غذایی

یکی از دلایل بروز سمیت ناشی از کادمیم در گیاهان، برهمکنش آن با عناصر غذایی ضروری گیاه است. تأثیر کادمیم بر جذب و توزیع عناصر غذایی در گیاه می تواند دلیل برخی کمبودهای عناصر در گیاهان باشد که باعث برهم خوردن تعادل عناصر غذایی و کاهش باروری گیاه می گردد (دادکا و همکاران، ۱۹۹۶). کادمیم از لحاظ شیمیایی شبیه روی است، وظایف متابولیسمی روی در گیاه را تقلید می کند (منگال، ۲۰۰۱) و ممکن است به جای روی جذب شده و در گیاه انتقال یابد (گرت، ۱۹۹۸). این تشابه در ویژگی های کادمیم و روی نشان دهنده اهمیت برهمکنش آنها در جذب و انتقال از ریشه به اندام هوایی و تجمع در بافت های خوراکی و در نهایت ورود به زنجیره غذایی می باشد (آن، ۲۰۰۴).

۱-۳-۳-۳-کادمیم

۱-۳-۳-۱-ماهیت شیمیایی و فیزیکی

کادمیم یک عنصر فلزی متعلق به گروه دوم B جدول تناوبی با عدد اتمی ۴۸ می باشد. کادمیم در شکل عنصری، فلزی سفید-نقره ای و نرم می باشد. کادمیم اغلب در طبیعت به صورت ترکیبات اکسیدی، سولفیدها و کربنات هایی در روی، سرب و سنگ های معدنی مس می باشد و به صورت نادر در مقادیر بزرگ به صورت کلریدها و سولفات ها وجود دارند (فری برگ و همکاران، ۱۹۷۴). این عنصر غیر ضروری در سیستم خاکی-گیاهی تحریک زیادی ارد که اجازه می دهد به سادگی وارد سبزی-ها شده می تواند چندین فرایند حیاتی را مختل کند، که باعث رشد ضعیف و عملکرد اقتصادی پایین در گیاهان می شود که منتج به اثرات سمی بر روی سلامتی انسان از طریق زنجیره غذایی می شود (شمسی و همکاران، ۲۰۰۸).

۱-۱۲-۲-منشا و منابع آلودگی

در سراسر دنیا پنج منبع آلودگی کادمیم تشخیص داده شده است که مهمترین آنها شامل کودهای فسفاته و سولفات روی، مصرف فاضلاب در اراضی کشاورزی، کود های دامی که از طریق جیره غذایی آلوده به کادمیم در فضولات دامی یافت می شود، از طریق اتمسفر و سوخت های فسیلی به ویژه ماشین های بنزین سوز و خاک هایی که میزان کادمیم به طور طبیعی در آنها بالا است. در اروپا عمده ترین منبع آلودگی خاک به کادمیم رسوبات اتمسفری و لجن فاضلاب گزارش گردیده در حالی که در استرالیا کودهای شیمیایی فسفاتی مهمترین منبع آلودگی خاک به کادمیم به حساب می آید (چراتی و ملکوتی، ۱۳۸۳).

۱-۳-۳-۳-رشد و نمو

کادمیم از لحاظ سمیت به یک عنصر حدواسط طبقه بندی می شود. اما مکانیسم سمیت کادمیم هنوز به طور کامل شناخته نشده است. باز شدن روزنه ها، فتوسنتز و تعرق بوسیله کادمیم تحت تاثیر قرار می گیرد و تا خوردگی برگ ها و کوتاه قدی از علائم اصلی سمیت کادمیم می باشد (ساندالیو و همکاران، ۲۰۰۱). کادمیم از جذب و انتقال نیترات از ریشه به ساقه با بازدارندگی آنزیم نیترات ردوکتاز در ساقه، جلوگیری می کند (هرناردز و همکاران، ۱۹۹۶). اثرات بازدارندگی کادمیم روی تجمع وزن خشک و تر، ارتفاع، طول ریشه، سطح برگ و دیگر پارامترهای بیومتریکی گیاه در اکثر گزارش ها، علائم قهوه ای

شدن ریشه، تغییر رنگ قرمز-قهوه‌ای برگ، اپیناستی برگ و کلروز برگ مشاهده شده است (واسلیو و یردانو، ۱۹۹۷). اختلاف در درجه سمیت بیان شده، ناشی از غلظت‌های مختلف کادمیم بکار برده شده در محیط ریشه، مدت تیمار و همچنین ویژگی‌های گونه‌ها و ارقام می‌باشد. افزایش مدت تیمار و یا غلظت کادمیم منجر به انتقال کلروز برگ به زرد شدن و نکروز نوک برگ می‌شود. نشانه‌های سمیت با وضوح بیشتری در ریشه‌ها دیده می‌شود به این دلیل که به طور معناداری تجمع فلزات سنگین در آنها بالاتر است (فوی و همکاران ۲۰۰۵). علائم ذکر شده در بالا تنها مخصوص کادمیم نیست، گیاهان در پاسخ به دیگر فلزات سنگین نیز دیده می‌شود. اثرات منفی کادمیم روی رشد گیاه، با افزایش در میزان وزن تر و خشک در همه اندام‌ها همراه است (مویا و همکاران ۱۹۹۳). سمیت با آلودگی فلزات تنش اکسیداتیوی را تحریک می‌کند به این دلیل که آنها در چندین مکانیسم مختلف گسترش ROSها درگیرند (حسینی و زرگری، ۱۹۹۵). ROSها در غلظت‌های بالا شدیداً برای گیاه مضر می‌باشد. ROS می‌تواند پروتئین، لیپید و نوکلئیک اسیدها را اکسید کند و اغلب باعث تغییر ساختار سلولی و جهش می‌شود (هالیول و گاتریدج ۲۰۰۰). تعادل بین حالت‌های پایدار سطوح ROSها توسط واکنش بین تولیدکننده‌های ROS و از بین برنده‌های ROS تعیین می‌شود (پال ۲۰۰۱) پروتئین‌های مختلف به عنوان تمییزکننده‌های ROSها عمل می‌کند مانند سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APOX)، گلوکاتیون ردوکتاز (GR) و تیوردوکسین (بناویدس و همکاران ۲۰۰۵). مشخص شده که کادمیم باعث تنش اکسیداتیوی می‌شود اما در تقابل با دیگر فلزات سنگین به نظر می‌رسد به طور مستقیم روی تولید ROS عمل نمی‌کند (سالین ۲۰۰۳).

۱-۳-۴- حد سمیت کادمیم در خاک و گیاه

بولان و آدریانو گزارش کردند که غلظت کادمیم اکثر خاک‌های غیر آلوده کمتر از ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم است و غلظت بحرانی آن در خاک ۱.۵ تا ۲.۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (بولان و آدریانو، ۲۰۰۳). در حالی که آلوی (۱۹۹۵) گزارش داد که خاک‌های حاوی غلظت‌های صفر تا ۱ میلی‌گرم کادمیم غیر آلوده، غلظت‌های یک تا سه میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم نسبتاً آلوده و خاک‌های حاوی غلظت‌های ۳ تا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلوده هستند. کارینی حد مجاز کادمیم را یک تا پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم بیان نموده است و حد بحرانی کادمیم در گیاه ۵ تا ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (زند و سهرابی، ۱۳۹۳) و همچنین سازمان بهداشت جهانی حد مجاز کادمیم در محصولات کشاورزی را ۰/۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیان کرده است.

حد مجاز کادمیم در گیاه	حد مجاز کادمیم در خاک	سازمان گزارش دهنده
۰/۵	۳	*EU
-	۳	€NZWWA
۰/۱-۰/۲	-	°SEPA
-	۰/۳	CEPA
۰/۳	-	#PFA
/۰۱-۰/۱۵	-	¥CODEX

*: European commission (EU)

€: New Zealand Water and Wastes Association (NZWWA)

°: State Environmental Protection Administration of china (SEPA)

#: Prevention of Food Adulteration Act Indian (PFA)

¥: CODEX Commission Alimentarius

۱-۴-۱- سلنیم

۱-۴-۱- ماهیت شیمیایی

سلنیم یک عنصر شبه فلز با عدد اتمی ۳۴ و جرم اتمی ۷۸.۹۶ گرم بر مول و در گروه ششم جدول تناوبی قرار دارد و به دلیل نزدیکی با گوگرد خواصی مشابه با این عنصر دارد (فریمان و همکاران، ۲۰۰۶). سلنیم (Se) از مدت‌ها قبل به عنوان یک عنصر سمی مورد نظر بود، تا این که در سال ۱۹۵۷ مشخص شد که یک عنصر ضروری است (اسوارزاند و فالتر، ۱۹۵۷). از آن پس نقش سلنیم در کاهش تنش‌های محیطی به طور گسترده‌ای در انسان و حیوانات مورد بررسی قرار گرفت ولی در گیاهان کمتر بررسی شد و مشخص شده که کمبود سلنیم به طور مستقیم بر سلامتی آسیب می‌رساند و بیش از ۴۰ نوع بیماری با کمبود سلنیم همراه است مانند بیماری کیشان، سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری کبدی و آب‌مرورید (تاپیرو همکاران، ۲۰۰۳). خصوصیات آنتی‌اکسیدانی سلنیم برای انسان، حیوان و گیاهان به اثبات رسیده است. بررسی‌ها موید این است که سلنیم بخش مهمی از ساختار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. به طور کلی سلنیم یک عنصر ضروری برای ۳۰ سلنوآنزیم و سلنو پروتئین است و بخش مهمی از ساختار آنزیم‌هایی است که از سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. همچنین الحاق سلنیم به پروتئین‌ها، از بافت‌ها و غشاها در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند (شارما و همکاران، ۲۰۰۰).

۱-۴-۲- اثر بر رشد گیاه

سلنیم به عنوان یک ریزمغذی ضروری برای حیوانات، انسان‌ها، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شود (روتراک و همکاران، ۱۹۷۳). سلنیم سه سطح فعالیت بیولوژیکی را نشان می‌دهد. راندمان غلظت عنصر برای رشد و نمو طبیعی لازم است، غلظت متوسط را می‌توان برای حفظ عملکرد هموستاتیک استفاده کرد و غلظت‌های بالا می‌تواند منجر به اثرات سمی شود (هامیلتن و همکاران، ۲۰۰۴). مطالعات مختلف بر روی گیاهان چچم چندساله (*Lolium perenne*) و کاهو (*Lactuca sativa*) ثابت کرده‌است که سلنیم در غلظت‌های بالا مضر است ولی در غلظت‌های پایین، اثرات مفیدی دارد (هارتیکاین و

همکاران، ۲۰۰). نشان داده شده است که اثر سلنیم در طول ساقه و ریشه، وزن تازه و وزن خشک در غلظت های مناسب در گیاهان مختلف تأثیر مثبت دارد. همچنین گزارش هایی وجود دارد که نشان می دهد افزایش این پارامترها در حضور انواع مختلف تنش ها، نشان دهنده اثرات محافظتی سلنیم است. سینگ و همکاران (۱۹۸۰) برای اولین بار گزارش شده است که سلنیم به صورت سلنیت رشد و عملکرد خشک ماده در خردل قهوه ای *Brassica juncea* را افزایش داد. پاسخ مثبت به رشد نیز در گیاهان دیگر مانند کاهو، چچم و سویا (*Glycine max*) گزارش شده است (هارتیکاین و سو، ۱۹۹۹). پاسخ رشدی کدو مسمایی *Cucurbita pepo* به اسپری پاشی برگی سلنیم در غلظت ۱.۵ میلی گرم لر لیتر در شرایط اشعه UVB محیط گزارش شد (گرم و همکاران، ۲۰۰۵) و اثر تحریک کننده بر عملکرد میوه های کدو تنبل *Cucurbita maxima* L. مشاهده شد. تاثیرات مشابه نیز در گیاه چچم (*Lolium perenne*) (هارتیکاین و همکاران، ۲۰۰)، کاهو (سو و همکاران، ۲۰۰۱) و سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L) (تورا کاین و همکاران، ۲۰۰۴) مشاهده شد. اثر سلنیم در کلروفیل a، b و کلروفیل کل در سنبل آبی (*Eichhornia crassipes* L) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت های پایین تر باعث افزایش محتوای کلروفیل شد، در حالی که غلظت های بالاتر اثر منفی داشتند (مان و همکاران، ۲۰۱۱). مشخص شده است که با افزایش غلظت سلنیم، مقدار کلروفیل نیز در گیاه جو (*Hordeum vulgare*) افزایش می یابد و مقدار این افزایش به غلظت و مدت محلول پاشی بستگی دارد. به علاوه افزایش مستمر در مقدار کلروفیل، پس از چهار هفته بعد از کشت نیز مشاهده شد (لیو و همکاران، ۲۰۱۱).

۱-۴-۳- اثر بر تنش های غیرزیستی

نتایج به دست آمده از تحقیقات محققان مختلف نشان می دهد وقتی که سلنیم در غلظت های کم بکار می رود، گیاه را از آسیب ناشی از تنش شوری محافظت می کند. کانگ و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که سلنیم در غلظت های (۱-۵ میکرومولار) پایین تمایل دارد که رشد، فعالیت آنزیم های SOD و POD، همچنین تجمع قندهای محلول در آب در برگ-های گیاهچه خربزه را تحریک کند. اگرچه غلظت های بالاتر (۱۰-۳۰ میکرومولار) اعمال شده، تاثیرات سودمند روی رشد و فعالیت آنزیم ها را می کاهد. تادینا و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده کردند که در گیاهانی که دارای کمبود آب هستند، هدایت روزنه ای به طور معناداری پایین تر است، در حالی که کاربرد سلنیم در گیاهان دچار تنش، هدایت روزنه ای به طور معناداری بالاتر است. تیمار گیاهان تحت تنش خشکی با سلنیم، به طور معناداری کارآمدی فتوشیمیایی حقیقی فتوسیستم ۲ (PS2) بالاتر بود. که احتمالاً ناشی از بهبود مدیریت آب گیاهان در طول تیمار می باشد. یک واکنش معنادار بین تاثیرات سلنیم و کمبود آب، روی پتانسیل تنفسی مشاهده شد. در یک مطالعه اخیر روی گیاه گندم، چو و همکاران (۲۰۱۰) نقش حفاظتی سلنیم در گیاهان تحت تنش سرمایی را گزارش کردند. آنها مشاهده کردند که تیمار با سلنیم (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) معناداری مقدار MDA و میزان تولید O_2^- در گیاهچه های رشد یافته تحت تنش سرمایی، کاهش یافت، که نشان داد تیمار سلنیم پراکسیداسیون لیپید غشا و تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تنش را کاهش می دهد، همچنین در مقایسه با گیاهان شاهد، تیمار سلنیم مقدار آنتوسیانین، فلاونوئید و ترکیبات فنولی گیاهان حساس به تنش سرمایی را افزایش می دهد. یائو و همکاران کاربرد مقدار مناسب سلنیم می تواند به طور معناداری توانایی آنتی اکسیدانی را افزایش دهد و پراکسیداسیون لیپید غشای بخش های هوایی گیاه گندم که در

معرض تنش تابش UV-B هستند را کاهش دهد. یائو و همکاران (۲۰۱۰) ثابت کردند که تیمار سلنیم مقدار تولید O₂ و مقدار MDA در ریشه‌های گندم رشد یافته در شرایط تنش تابش UV-B را کاهش می‌دهد.

۱-۴-۴-۱ اثر بر تنش فلزات سنگین

سطوح افزایش یافته فلزات سنگین در محصولات منجر به تهدید سلامتی انسان، مخصوصاً در کشورهای در حال توسعه مانند چین می‌شود. یک جریان تکنولوژی برای کاربرد کودهای سلنیم به صورت محلول پاشی برگی یا براساس کوددهی برای افزایش مقدار سلنیم در پروتئین‌های خوراکی محصولات به کار می‌رود و به‌طور همزمان آسیب‌های گسترش یافته توسط تنش‌های مختلف محیطی را خنثی می‌کند (برودلی و همکاران، ۲۰۱۰). برای مثال در یک آزمایش مشخص شد که اضافه کردن سلنیت به گیاه کاهو که حساس به سرب و کادمیم است، به‌طور معناداری تجمع این فلزات سنگین کاهش یافت و همزمان جذب عناصر ضروری معین تسهیل شد (هی و همکاران، ۲۰۰۴). ورویتس بیان کرد که گیاه در پاسخ به تیمار سلنیم، تحت تنش سرب میزان GSH تغییر مشخصی نشان می‌دهد، همچنین بیان کرد که اثرات حفاظتی سلنیم ناشی از تشکیل کمپلکس‌های غیرسمی فلز-سلنیم است. پدررو و همکاران مشاهده کردند که تیمار سلنیم در گیاهان تحت تنش کادمیم، غلظت آلفا-توکوفرول (α -tocopherol) افزایش یافت که این افزایش غلظت به پاک‌کننده‌های گونه‌های اکسیژن منفرد در کلروپلاست کمک می‌کند که منجر به افزایش تحمل به تنش می‌شود. سری‌واستاوا و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که سلنیم به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و از طریق افزایش سطوح تیول و GSH (تا ۲۴٪ افزایش می‌یابد) از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کند. (حسن‌زمان و همکاران، ۲۰۱۰) اثرات سودمند تیمار سلنیم برای تخفیف سمیت کادمیم در نخودفرنگی (*Pisum sativum* L) بررسی شد. تیمار سلنیم سطوح رنگیزه‌های فستوسنتزی (کلروفیل a+b و کاروتینوئیدها) را افزایش داد. سطوح سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و گلووتاسیون پراکسیداز) افزایش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته کمک می‌کند به کاهش آسیب اکسیداتیوی و تحمل به تنش کادمیم را افزایش می‌دهد. تیمار سلنیم مقدار آب نسبی را در مقایسه با گیاهان تحت تنش کادمیم افزایش می‌دهد. تیمار سلنیم مقدار عناصر درشت مغذی (نیترژن N، پتاسیم K، فسفر P) را در گیاهان تحت تنش افزایش می‌دهد. سلنیم همچنین پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهد و اثرات مثبتی بر روی ثبات غشای سلولی دارد (راغب‌موسی و عبدالله، ۲۰۰۴).

۱-۴-۵-۱ تاثیر بر تنش اکسیداتیو:

مصرف و بهره برداری از اکسیژن در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف منجر به تولید ROS می‌شود. سپس این سیستم‌های ROS توسط سیستم‌های گیاه خنثی می‌شوند و وقتی که سطوح ROS بیش از توانایی سیستم برای خنثی سازی و از بین بردن آنها است، شرایط تنش ظاهر می‌شود و این به عنوان شرایط تنش اکسیداتیو تعیین می‌شود. این ناهماهنگی در تولید و تخلیه ROS ممکن است به علت عدم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی رخ دهد که بیشتر به دلیل اختلال در تولید، توزیع یا به علت ROS بیش از حد است. ROS بیش از حد می‌تواند به چربی‌ها، پروتئین‌ها یا DNA آسیب برساند، بنابراین مسیر انتقال سیگنال و عملکرد طبیعی سلولی را مهار می‌کند. سلنیم در تحقیقات زیادی نشان داده شده است برای ترویج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تحت تنش‌های مختلف موثر است. بسیاری از تنش‌ها می‌تواند ناشی از تجمع ROS در گیاهان باشد مانند تنش سرما،

خشکی، دمای بالا، غرقابی، شوری و تنش فلزات سنگین. افزایش تولید ROS می‌تواند یک حالت تهدید برای گیاه باشد اما بسیاری معتقدند که ROS به عنوان یک سیگنال برای فعال کردن پاسخ به تنش و روش‌های دفاعی عمل می‌کنند (مایترلر، ۲۰۰۲). ROS عمدتاً شامل یون سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل (OH^*)، اکسیژن واحد (O_2^*)، رادیکال متیل (CH_3) و رادیکال آزاد پراکسیداسیون (ROO^* ، LOO^*) می‌باشد (فنگ و همکاران، ۲۰۱۲). بعد از گسترش O_2 ، فرایند انتقال یک سری از الکترون‌ها تحریک می‌شود و مقدار $(CuI)Fe^{2+}$ و Fe^{3+} گسترش می‌یابد و سپس برای گسترش رادیکال هیدروکسیل (OH^*) با H_2O_2 واکنش می‌دهد (که به میزان زیادی فعال می‌شود و غشای سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهد). عمدتاً دو نوع آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان موجب تعادل در سوح افزایش یافته ROS می‌شود. یک نوع مواد با وزن مولکولی پایین است و نوع دیگر آنزیم‌ها هستند مانند SOD، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلو تاسیون پراکسیداز (GSH-PX)، گوایکول پراکسیداز (GPOX) و گلو تاتیون ردو کناز (GR) (تامپسون و همکاران، ۱۹۸۷). این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق آنزیم‌های کاتالیزری با ROS‌ها واکنش دهند (فنگ و همکاران، ۲۰۱۲). سلنیم به‌طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق تنظیم آنتی‌اکسیدان‌ها، تولید و حذف ROS را کنترل کند. تنظیم سطوح ROS با استفاده از سلنیم ممکن است یک مکانیسم کلیدی برای خنثی کردن تنش محیط در گیاهان باشد. در شرایط معمولی، تولید ROS در سلول‌های گیاهی در سطح پایین قرار می‌گیرد (کمتر از ۲۴۰ میکرومولار $O_2^{\cdot-}$ و ۵/۰ میکرومولار H_2O_2 در کلروپلاست) اگرچه در شرایط تنش، سطوح مسئول به ۲۴۰-۷۲۰ میکرومولار $O_2^{\cdot-}$ و ۵-۱۵ میکرومولار H_2O_2 افزایش می‌دهد (مایترلر، ۲۰۰۲). افزایش مقدار جزئی سلنیم به پیش‌ماده‌های رشد، می‌تواند گسترش بیش از حد ROS را کاهش دهد، مخصوصاً O_2 و H_2O_2 در گیاهان حساس به تنش‌های محیطی را (کارتر و همکاران، ۲۰۱۰).

۱-۵- نیتریک اکسید

۱-۵-۱- ماهیت شیمیایی

نیتریک اکسید ابتدا توسط جوزف پریستلی در سال ۱۷۷۲ کشف شد و ابتدا به عنوان نیتروژن هوایی شناخته می‌شد (پریستلی، ۱۹۷۴). نیتریک اکسید ابتدا در سیستم پستانداران کشف شد. به همین دلیل بسیار مورد توجه قرار گرفت. نیتروژن هوایی یا گاز خنده که باعث تحریک مستی همراه با خنده‌های غیرقابل کنترل می‌شود (کلپلر، ۱۹۷۹). نیتریک اکسید یکی از نیتروژن‌های متعلق به زنجیره گونه‌های واکنش‌گر نیتروژن است (RNS) (نصیرخان و همکاران، ۲۰۱۴). RNSها مولکول‌های با قابلیت فعالیت مجدد هستند. مانند پراکسی نیترات‌ها ($ONOO$)، دی و تری نیتروژن و تتراکسید (N_2O_4 ، N_2O_3)، اس نیتروساگلو تاسیون ($GSNO$)، اس نیتروساتیول ($SNOS$) و نیتروژن دی اکسید (NO_2). این مولکول‌ها حاصل واکنش نیتریک-اکسید (NO) با اکسیژن‌های مولکولی اتمسفر و یا آنیون‌های سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) است (یان و همکاران، ۲۰۱۶). نیتریک اکسید یک گاز بی‌رنگ و همچنین یک رادیکال آزاد است. همچنین و اخیراً تحقیقات به ارتباط بین نیتریک اکسید و پاسخ‌های بیولوژیکی گیاهان متمرکز شده است (کلپلر، ۱۹۷۹).

۱-۵-۲- اثر نیتریک اکسید بر رشد گیاه

نیتریک اکسید نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف در گیاهان بازی می کند، شامل تسریع جوانه زنی بذر، کاهش خواب بذر (بلیگنی و همکاران، ۲۰۰۰)، تنظیم بلوغ و پیری در گیاهان (لشم و همکاران، ۱۹۹۸) سرکوب انتقال گل (هی و همکاران، ۲۰۰۴) دخالت در سبز شدن توسط نور (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۶) و چندین پاسخ به تنش های زیستی و غیرزیستی مانند تنش خشکی، شوری، گرما و بیماری های عفونی در گیاهان را تنظیم می کند کاربرد خارجی نیتریک اکسید، مقاومت گیاهان به تنش های ویژه را افزایش می دهد. نیتریک اکسید در گیاهان، چندین عمل بیولوژیکی پیچیده به عنوان سیتوتوکسین یا سیتوپروتانت را انجام می دهد. عملکرد دو گانه نیتریک اکسید، به عنوان یک اکسیدانت قوی یا یک آنتی اکسیدانت موثر، عمدتاً به غلظت نیتریک اکسید و شرایط محیطی بستگی دارد. وقتی نیتریک اکسید در دوزهای بالا به کار رود، متابولیسم های طبیعی گیاه را به هم می زند. ثابت شده است که نیتریک اکسید (در غلظت های بالا) توانایی آسیب به غشاها، پروتئین نوکلئیک اسید در غلظت های بالا را دارد (یاماساکی و همکاران، ۲۰۰۰). فتوسنتز در برگ های جو و یونجه کاهش می یابد وقتی که در معرض نیتریک اکسید قرار می گیرند. نیتریک اکسید می تواند تنفس در سلول های سوسپانسیون هویج (*Daucus carota subsp. sativus*) کاهش دهد (زاتینی و همکاران، ۲۰۰۲). سطوح بالای نیتریک اکسید مانع از جفت شدن الکترون های انتقالی فتوسنتزی می شود و از نمو شاخه ها و ریشه ها جلوگیری می کند (لشم و همکاران، ۱۹۹۷). اگرچه در غلظت های پایین رشد و نمو در گیاهان را تسریع می کند (بلیجنی و لاماتیا، ۲۰۰۱).

۱-۵-۳- اثر نیتریک اکسید بر تنش های غیرزیستی

نیتریک اکسید توسط چندین نوع مختلف تنش های مختلف محیطی، شیمیایی و مکانیکی به سرعت در گونه های مختلف گیاهان تحریک می شود و پاسخ گیاهان به تنش های مختلف غیرزیستی را تنظیم می کند. کاربرد نیتریک اکسید خارجی، هدر رفت آب در برگ های گندم و گیاهچه های تحت تنش خشکی را کاهش می دهد، میزان نشت یونی و میزان تعرق را کاهش می دهد و بسته شدن روزنه ها را تحریک می کند. بدین وسیله مقاومت گیاهان به تنش خشکی را افزایش می دهد (گارسیا-متا و لاماتینا، ۲۰۰۱). پیش تیمار با سدیم نیتروپروساید گیاهچه های جوان برنج را در برابر تنش شوری محافظت می کند و باعث بهبود رشد و قابلیت زیستی در گیاهان می شود (اوجیدا و همکاران، ۲۰۰۲). جوانه زنی بذر و رشد ریشه در گیاهچه های لوبین زرد را افزایش می دهد (کاپیرا و همکاران، ۲۰۰۳). رشد و وزن خشک را در گیاهچه های ذرت تحت تنش شوری را افزایش می دهد (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۶). پیش تیمار با سدیم نیتروپروساید آسیب های تحریک شده توسط گرما در گیاهچه های برنج را کاهش می دهد و باعث جفت شدن فتوسیستم ۲ می شود (اوجیدا و همکاران، ۲۰۰۲). نیتریک اکسید در طول دماهای زیاد، سطح ROS در گیاهان را کاهش می دهد (نیل و همکاران، ۲۰۰۲). در شرایط تنش فلزات سنگین سنتز درونی نیتریک اکسید در گیاهان صورت می گیرد، در اصل محل اصلی سنتز درون گیاه می باشد اما ممکن است از محیط اطراف و از خاک نیز وارد گیاه شود. نیتریک اکسید در سلول گیاهی، همسو با تجمع ROS ها در اندامک های مختلف مانند میتوکندری، پراکسی زوم، کلروپلاست و سیتوپلاسم بیوسنتز می شوند. همچنین شبکه آندوپلاسمی و آپوپلاست به عنوان منبع سنتز درونی نیتریک اکسید گزارش شده است (فرولیک و دارنر، ۲۰۱۱). نیتریک اکسید در روش های اکسیداسیون و احیاء در حضور و یا عدم حضور آنزیم ها گسترش

می‌یابد(گوپتا و همکاران، ۲۰۱۱)، روش‌های احیاکنندگی آنزیمی شامل واکنش‌های وابسته به نیترات مانند گرانترین-اکسیدراکتاز(XOR)، نیترات‌ردوکتاز(NR)، Ni:NOR (نیترات وابسته به نیتریک‌اکسید ردوکتاز) و mtNi(نیترات میتوکندریایی) می‌باشد(تاوری و همکاران، ۲۰۱۳).

به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف نیتروپروسیاید SNP (۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، میکرومولار) بر رشد و مورفولوژی گیاه شاهی تحت تاثیر سطوح مختلف مس (۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ میکرومولار) صورت گرفت. نتایج نشان داد که غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار SNP اثر مطلوبی بر بهبود تنش فلز سنگین مس در گیاه شاهی دارد و تیمار SNP باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، افزایش محتوای کلروفیل *b* و *a*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش مس می‌شود. همچنین تیمار SNP موجب کاهش معنی‌دار آلدئیدهای اندام هوایی در همه غلظت‌های سمی مس و کاهش مالون‌دآلدئید اندام هوایی و ریشه و سایر آلدئیدهای ریشه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار مس شد (رئییسی و همکاران، ۱۳۸۸). اثر کادمیم و تیمار همزمان سدیم نیتروپروسیاید بر رشد و برخی شاخصهای فیزیولوژیکی گیاه زیتون تلخ (*Melia azedarach L*) نشان داد که تیمار سدیم نیتروپروسیاید باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه نسبت به تیمار بدون سدیم نیتروپروسیاید شد. از آنجا که اکثر فاکتورهای رشدی اندازه‌گیری شده در زیتون تلخ تحت تاثیر ماده سدیم نیتروپروسیاید قرار نداشتند نتیجه‌گیری شد که این ماده نقش محسوسی در حفاظت این گیاه در برابر عناصر سنگین ایفا نمی‌کند (مصلح آرانی و همکاران ۱۳۹۴). آزمایش تاثیر نیتریک‌اکسید روی خرفه (*Portulaca oleracea L*)، تحت تنش مس نشان داد که تیمار نیتریک‌اکسید، طول ریشه‌ها و شاخه‌ها و همچنین وزن شاخه‌ها و ریشه‌های تازه و همچنین مقدار کلروفیل *a* و *b* تحت تنش مس افزایش یافت. نیتریک‌اکسید مقدار کربوهیدرات‌های محلول را افزایش داد و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی به جز کاتالاز و پراکسیداز کاهش یافت. پیش تیمار با نیتریک‌اکسید نقش حفاظتی را در تیمار با تنش مس، با واکنش با ROS و روزه‌های فتوسنتزی بازی می‌کند (فندرسکی و همکاران، ۲۰۱۵). تاثیرات ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروسیاید (SNP) روی ریشه‌ها و شاخه‌های برنج واریته HU3022 انجام شد که تحت تنش ۵۰ میکرومولار کادمیم بودند. کاربرد مقادیر هم مول SNP برای برنج‌های مورد تنش، باعث کاهش جذب کادمیم و از تاثیرات سمیت تحریک شده بوسیله کادمیم توسط غشای در حال تجدید جلوگیری می‌کند. سطوح H_2O_2 و O_2 به طور قابل توجهی توسط تیمار SNP کاهش یافت. نتایج نشان داد که کاربرد خارجی NO تاثیرات زیان‌آور کادمیم در گیاه برنج را تقلیل می‌دهد(سینگ و شاه، ۲۰۱۴). سینگ و همکاران(۲۰۱۶) نقش حفاظتی نیتریک‌اکسید(NO) را در مقابل سمیت آرسنات (As^5) در برنج، ارزیابی کردند. کاربرد NO برای گیاهانی که در معرض As^5 قرار گرفته‌اند سطوح $OsLsi1$ و $OsLsi2$ را کاهش داد. تنش As^5 به طور معناداری متابولیسم تیول را تحت تاثیر قرار داد. As^5 مقدار GSH و نسبت GSH/GSSG را کاهش داد و سطح PCs را افزایش داد. کاربرد NO ازالقای کمبود آهن توسط As^5 در شاخه‌ها جلوگیری کرد و تاثیر معناداری به سطح بیان ژن انتقال دهنده‌های آهن داشت. قطعاً کاربرد خارجی NO می‌تواند برای مقابله با سمیت As^5 سودمند باشد.

۱-۶-اهداف پژوهش

با توجه به بررسی منابع انجام شده، میزان آلودگی به عناصر سنگین مخصوصاً عنصر کادمیم در محیط و زمین‌های کشاورزی نیز در حال افزایش است. از سوی دیگر با افزایش جمعیت میزان تقاضا برای محصولات کشاورزی نیز در حال

Family name: Azizi	Name: Iraj
Title of Thesis: Effect of nitric oxide and selenium nutrition on growth physiology and secondary metabolite <i>Satureja hortensis</i>.L plants under cadmium stress condition.	
Supervisor: Behrooz Esmailpour (Ph.D)	
Advisors: Ali Reza Ghanbari (Ph.D) & Hamide Fatemi (M.Sc)	
Graduate Degree M.Sc.	
Major: Agriculture	Specialty: Horticultural Science (Olericulture)
University: Mohaghegh Ardabili	Faculty: Agriculture and Natural Resources
Graduation date: 12/11/2017	Number of pages: 86
Abstract:	
<p>Contamination of agricultural land is increasing. Cadmium is one of the most important heavy metals and one of the environment pollutants. Plants growth regulators such as Nitric Oxide has positive effects on soil and environmental and can serve suitable alternative for chemical fertilizers. Selenium has known as an element to reduce the toxicity of heavy metal. In order to evaluation of effect of nitric oxide and selenium on growth, physiological and biochemical characteristic of savory (<i>Satureja hortensis</i>.L) under cadmium stress condition, two separated factorial experiments based on completely randomized design was conducted in three replication in laboratory and research greenhouse of Mohaghegh Ardabili University at 2016-2017. Experimental factors included soil contamination by cadmium (0, 75, 100 and 150 mg/kg soil), spray with plant growth regulator nitric oxide and selenium nutrition has been done, the treatments of first experiment Selenium was solubilized with concentrations of 10, 20 and 40 μM and distilled water (control). In second experiment Plants with nitric oxide (50, 100 and 200 μM) and water (as control) were soluble., then physiological and biochemical growth indexes were measured. The result indicated that concentration of 150 ppm of cadmium caused a significant reduction in all growth criteria, photosynthetic pigments, relation water content, membrane integrity. This concentration of cadmium to increase the carbohydrates, leaf proline, antioxidant enzyme activity. The higher content of this element accumulation resulted in root and air part but the application of plant nitric oxide and selenium spray improve the toxicity of cadmium in plant and accumulation of this metal decrease especially in air part of plant.</p>	
Keywords: cadmium, heavy metal, nitric oxide, selenium, savory	



University of Mohaghegh Ardabili
Faculty of Agriculture and Natural Resources
Department of Horticultural Science

Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of
M.Sc. in Olericulture

Title:

Effect of Nitric Oxide and Selenium Nutrition on Growth Physiology
and Secondary Metabolites of *Satureja hortensis*.L Plants Under
Cadmium Stress Condition

Supervisor:

Behrooz Esmailpour (Ph. D)

Advisors:

Ali Reza Ghanbari (Ph. D)

Hamide Fatemi (M.Sc)

By:

Iraj Azizi

Nov – 2017