

اثر شوری و کادمیم بر محتوای کلروفیل، فعالیت آنتی اکسیدانی و وزن گیاه کوشیا (*Kochia indica*)

پویا استوار^۱، صدیقه صفرزاده شیرازی^{۲*}، جعفر یثربی^۲، عبدالمجید رونقی^۳ و سعید عشقی^۴

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۶)

چکیده

به منظور بررسی اثر شوری و کادمیم بر محتوای کلروفیل، فعالیت آنتی اکسیدانی و وزن خشک گیاه کوشیا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح کادمیم (صفر، ۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات کادمیم) و سه سطح شوری (۰، ۲/۵ و ۵ گرم در کیلوگرم خاک از منبع سدیم کلرید به ترتیب معادل قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع ۰/۶۵، ۹/۴ و ۱۸ دسی زیمنس بر متر) بودند. نتایج نشان داد که میانگین وزن تر و خشک شاخساره، وزن خشک ریشه، و ارتفاع گیاه در سطح ۵ گرم کلرید سدیم در کیلوگرم خاک، کاهش معنی داری به ترتیب در حدود ۲۲، ۲۴، ۲۳ و ۱۵ درصد و در سطح ۹۰ میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک به ترتیب ۵۲، ۶۷، ۴۵ و ۴۱ درصد نسبت به شاهد داشتند. بیشترین کاهش در وزن تر و خشک شاخساره، وزن خشک ریشه و ارتفاع گیاه در سطح ۵ گرم در کیلوگرم کلرید سدیم + سطح ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیم مشاهده شد. بیشترین مقادیر محتوای کلروفیل کل در تیمارهای شاهد (عدم کاربرد شوری و کادمیم) و ۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۵ میلی گرم در کیلوگرم کادمیم مشاهده شد. با افزودن نمک کلرید سدیم اثرات مضر کادمیم بر محتوای کلروفیل گیاه کاهش یافت. سطوح مختلف شوری و کادمیم اثرات متفاوتی بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه کوشیا داشتند. اما در سطوح بالای کادمیم (۶۰ و ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم)، با افزایش سطح شوری، تفاوت معنی داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز دیده نشد. به طور کلی، تغییر در الگوی فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی گیاه به ویژه آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز تحت شرایط بالای تنشی نشان داد که گیاه کوشیا با فعال سازی سیستم آنتی اکسیدانی خود می تواند تحمل خوبی به تنش از خود نشان دهد.

واژه های کلیدی: کلرید سدیم، فلز سنگین، شورپسند، آنزیم ها، رشد گیاه

۱، ۲ و ۳. به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و استاد، بخش علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴. استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: rsafar2010@gmail.com – safarzadeh@shirazu.ac.ir

مقدمه

کادمیم از جمله فلزات سنگین است که از سامانه گوارشی بدن به مقدار کمی دفع می‌شود. نیمه‌عمر زیستی آن در بدن انسان ۳۰-۱۰ سال است (۲۹). غلظت معمولی کادمیم در خاک ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم، حد سمیت آن ۸-۳ میلی‌گرم در کیلوگرم و حد بحرانی آن در گیاه ۳۰-۵ میلی‌گرم در کیلوگرم است (۳۴). همچنین حد مجاز جذب این عنصر برای انسان ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز است (۳۵). در سال‌های اخیر، به دلیل مصرف بیش از حد کودهای فسفاتی کادمیم دار، تجمع این عنصر سنگین در گندم، سیب زمینی، پیاز و در نتیجه افت کیفیت انواع سبزی‌ها گزارش شده است (۱۰ و ۱۷). بررسی‌ها نشان داده است که کادمیم بر تقسیم و رشد سلول‌ها، رشد کلی گیاه، تقسیم و رشد سلولی منطقه مریستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد (۱۸). یکی از آسیب‌های بافتی که در اثر قرار گرفتن گیاهان در معرض فلزات سنگین از جمله کادمیم رخ می‌دهد، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) و ایجاد تنش اکسیداتیو است. این ترکیبات می‌توانند به ترکیبات حیاتی سلول مانند اسیدهای چرب غیراشباع، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک حمله کرده و به‌طور طبیعی ویژگی‌هایی چون سیالیت غشاء، انتقال یونی، فعالیت آنزیمی و ساخت پروتئین‌ها را کاهش داده و باعث تخریب DNA هسته‌ای و میتوکندریایی و در نهایت مرگ سلولی شوند (۳۳).

از طرف دیگر، شوری آب و خاک نیز از جمله تنش‌های غیر زیستی مهم در بسیاری از مناطق جهان از جمله ایران است (۱). به‌طور کلی، بخش وسیعی از کشور ایران در مناطق خشک و نیمه‌خشک واقع شده است و بیش از ۲۶٪ از زمین‌های ایران در محدوده بین ۱ تا ۸ دسی‌زیمنس بر متر شوری دارند (۲)، که عامل اصلی شوری در بیشتر این مناطق، کلرید سدیم است و بر همین اساس، بیشتر پژوهش‌های شوری بر بررسی اثر کلرید سدیم متمرکز شده است (۲۰). همچنین نتایج تحقیقات نشان داده است که تنش شوری نیز منجر به تنش اکسیداتیو و در نهایت مرگ سلول می‌شود (۲۱).

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده، داری سیستم دفاعی با کارایی زیاد هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده یا خنثی کنند. در بافت‌های گیاهی این تخریب اکسیداتیو معمولاً به‌وسیله ساز و کارهای آنتی اکسیدانی آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، فنل پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) خنثی می‌شود (۲۷). سوپراکسید دیسموتاز، یک آنزیم میتوکندریایی است که در پیشگیری از اکسایش و تخریب غشاء میتوکندری‌ها نقش اساسی دارد (۸). پراکسیدازهای گیاهی، کاتالیزکننده‌ی احیاء پراکسید هیدروژن هستند (۲۸). این آنزیم مشابه کاتالاز باعث شکسته شدن آب اکسیژنه شده ولی بر خلاف آن به یک اهداکننده هیدروژن نیاز دارد (۹). به‌طور کلی، تحمل شورپسندها به تنش شوری در مقایسه با سایر گیاهان با یک سیستم آنتی‌اکسیدانی کارآمدتر همراه است (۴۶). در نتیجه انتظار می‌رود که شوری‌ها توانایی بیشتری در مقابله با تنش فلزات سنگین نسبت به سایر گیاهان داشته باشند، بنابراین کاربرد گونه‌های شورپسند با سامانه ریشه‌های عمیق، اهمیت ویژه‌ای در پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین دارند.

کوشیا، گیاهی از خانواده اسفناج و از جمله گیاهان شورپسند، دولپه‌ای، علفی و یکساله است که به‌دلیل داشتن سیستم ریشه‌ای گسترده و عمیق با نواحی خشک به‌خوبی سازگاری دارد. کوشیا می‌تواند در خاک‌های بسیار شور رشد کند و تنها گیاهی باشد که در این مکان‌ها دیده می‌شود (۱۶). گیاه کوشیا دارای مصارف متعددی است که از آن جمله می‌توان به مصرف آن به‌عنوان سبزی، زیتی و جارویی و مصرف علوفه‌ای اشاره کرد (۱۶). در ایران تحقیقی در مورد تحمل به شوری دو ژنوتیپ مختلف کوشیا (Indian و Sabzevar) انجام شده و بیان شد که این گیاه پتانسیل مناسبی جهت تولید علوفه دارد (۱۶). یکی از گونه‌های معروف این گیاه در ایران، ایندیکا (*Kochia indica*) است. *K. indica* بوته‌ای بوده و یک هالوفیت دفع‌کننده نمک است که در برخی از طبقه‌بندی‌ها جزو هالوفیت‌های اختیاری محسوب شده است (۱۵). این گونه شوری برای اولین بار از طریق کشور امارات متحده عربی و

مناسب به خاک گلدان‌ها افزوده شدند. تعداد ۱۰ عدد بذر کوشیا در داخل هر گلدان کشت و پس از ده روز گیاهان سبز شده به چهار عدد تنک شدند. پس از استقرار گیاهان، تیمارهای شوری به تدریج افزوده شدند. در طول آزمایش، رطوبت گلدان‌ها با وزن کردن روزانه آنها در حد رطوبت ظرفیت مزرعه نگهداشته شد. گیاهان حدود ۴ ماه پس از کاشت برداشت شده و قبل از برداشت کامل گیاه مقدار لازم از برگ گیاهان برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و برخی فعالیت‌های آنزیمی، نمونه‌برداری و با نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

به‌منظور تهیه عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نیم گرم بافت نمونه تازه برگ در نیتروژن مایع به وسیله هاون چینی پودر شد و سپس در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار خنک (pH ۷/۰)، حاوی ۲ میلی‌مولار سدیم اتیلن‌دی‌آمین‌تتراسیتیک‌اسید (Na-EDTA) و ۱٪ (وزنی به حجمی) پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP) (مجموعاً به‌عنوان بافر استخراج)، همگن‌سازی شد. مخلوط همگن به‌دست‌آمده در دمای ۴ درجه سلسیوس با دور ۱۰ هزار با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار مدل SIGMA 3-16PK، سازنده شرکت SIGMA آلمان، به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و پس از آن، محلول رویی به‌عنوان عصاره بلافاصله جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان استفاده و یا در دمای ۸۴- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه نگهداری شد (۲۴). فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز به روش گینوپولیتیس و رایز (۱۱) و در طول موج ۵۶۰ نانومتر، کاتالاز به روش اوزدن و همکاران (۲۴) در طول موج ۲۴۰ نانومتر و پراکسیداز به روش اوزدن و همکاران (۲۴) در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل 7315 ساخت شرکت JENWAY انگلستان، اندازه‌گیری شدند.

محتوای کلروفیل a، b و کل نیز با استفاده از دی متیل سولفوکساید (DMSO) معرفی شده به‌وسیله هیسکوکس و

در قالب یک پروژه مشترک بین مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای و مرکز بین‌المللی کشاورزی شورزیست (ICBA) در سال ۱۳۷۹ به‌منظور تهیه علوفه وارد کشور شد (۳۱).

آلودگی خاک به فلزات سنگین از جمله کادمیم و نیز فرایند شور شدن خاک در مناطق خشک در حال افزایش است. دو عامل محدودکننده رشد گیاهان در ایران، وسعت خاک‌های شور به‌ویژه در نواحی مرکزی و جنوبی آن از یک طرف و کمبود منابع آبی مناسب آبیاری از طرف دیگر، سبب شده است که تحقیقات بر روی گیاهان مقاومی که بتوانند در این شرایط رشد و تولید مطلوبی داشته باشند، در حال گسترش باشد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف تأثیر همزمان شوری و کادمیم بر فعالیت آنزیمی، محتوای کلروفیل، وزن تر و خشک، و ارتفاع گیاه کوشیا انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار و در شرایط گلخانه (به صورت گلدانی) انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۵ سطح کادمیم (صفر، ۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) از منبع سولفات کادمیم با فرمول $3(\text{Cd SO}_4) \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ و ۳ سطح شوری (صفر، ۲/۵ و ۵ گرم در کیلوگرم خاک از منبع کلرید سدیم به‌ترتیب معادل قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع ۰/۶۵، ۹/۴ و ۱۸ دسی-زیمنس بر متر) بودند. خاک مورد مطالعه از افق سطحی ایستگاه زراعی منطقه باجگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز جمع‌آوری شد که پس از هوا خشک شدن از الک دو میلی‌متر عبور داده شده و مقدار چهار کیلوگرم از آن وزن و درون پلاستیک ریخته شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. در ابتدا، تیمارهای کادمیم به خاک درون پلاستیک‌ها اعمال و به‌خوبی مخلوط و سپس به گلدان‌های پنج کیلوگرمی منتقل شدند. همچنین، بر اساس آزمون خاک عناصر موردنیاز گیاه، از منابع

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

ویژگی های خاک	مقدار
بافت	لومی سیلتی
رس (%)	۲۶
شن (%)	۲۴
سیلت (%)	۵۰
pH	۷/۴
قابلیت هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	۰/۶۵
ظرفیت تبادل کاتیونی (سانتی مول بر کیلوگرم)	۱۵
کربنات کلسیم معادل (%)	۳۸/۵
ماده آلی (%)	۱/۰۴
نیترژن کل (%)	۰/۱۳۵
فسفر قابل عصاره گیری با استات سدیم (میلی گرم در کیلوگرم)	۱۲/۵
پتاسیم قابل عصاره گیری با استات آمونیوم (میلی گرم در کیلوگرم)	۴۲۰
آهن قابل عصاره گیری با DTPA (میلی گرم در کیلوگرم)	۱/۱۴
مس قابل عصاره گیری با DTPA (میلی گرم در کیلوگرم)	۱/۱۳
منگنز قابل عصاره گیری با DTPA (میلی گرم در کیلوگرم)	۳/۱۴
روی قابل عصاره گیری با DTPA (میلی گرم در کیلوگرم)	۰/۲۸
کادمیم قابل عصاره گیری با DTPA (میلی گرم در کیلوگرم)	۰/۰۴
کادمیم کل (میلی گرم در کیلوگرم)	۱/۸

همچنین برخی ویژگی‌های عملکردی گیاه شامل وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و ارتفاع گیاه نیز اندازه‌گیری شد. تجزیه تحلیل آماری داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ورژن 9.1 و آزمون دانکن صورت گرفت و همچنین نمودارها نیز با نرم افزار اکسل (Excel) رسم شدند.

نتایج

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

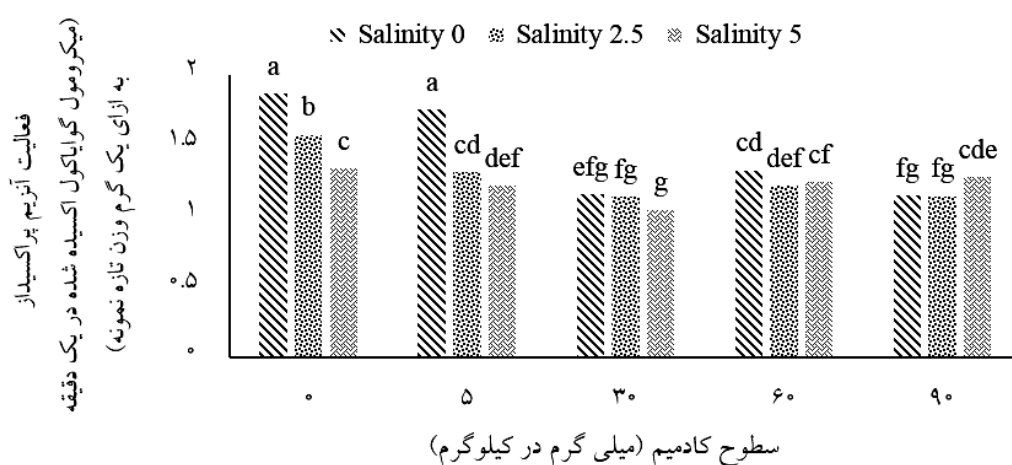
جدول (۲)، تجزیه واریانس اثرات سطوح مختلف شوری و کادمیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز،

ایزرانلستام (۱۴) اندازه‌گیری شد. در آزمایشگاه مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از برگ کوشیا در داخل لوله آزمایش قرار داده شد و مقدار ۷ میلی‌لیتر از DMSO روی آنها ریخته شد و در دستگاه انکوباتور به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس عصاره‌ی صاف و بافت‌های برگ داخل لوله آزمایش دور ریخته شده و با اضافه کردن DMSO حجم عصاره به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در نهایت با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب عصاره در طول موج ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. از DMSO به‌عنوان شاهد استفاده شد. محتوای کلروفیل (میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) با استفاده از فرمول‌های توصیه شده محاسبه شد (۱۴).

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف شوری و کادمیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کوشیا

منبع تغییرات	درجه آزادی	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	میانگین مربعات	کاتالاز
کادمیم	۴	۰/۳۷**	۷/۱۷**	۰/۰۱۴۷*	
شوری	۲	۰/۲۱**	۲۸/۱**	۰/۰۱۰۴**	
کادمیم×شوری	۸	۰/۷۲**	۳/۳۲*	۰/۰۲۰۰**	
خطا	۳۰	۰/۰۰۴	۱/۱۳	۰/۰۰۱۶	
ضریب تغییرات	-	۵/۰۷	۲/۶۲	۲۴/۲	

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف شوری و کادمیم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه کوشیا. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$)

گوایاکول اکسید شده در دقیقه در گرم وزن تازه) بود. همچنین کمترین فعالیت آنزیم مورد نظر ($1/05$ میکرومول گوایاکول اکسید شده در یک دقیقه به ازای یک گرم وزن تازه نمونه) نیز در تیمار ۵ گرم در کیلوگرم شوری + 30 میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم مشاهده شد که البته با تیمارهای 30 و 90 میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم بدون اعمال شوری و همچنین تیمارهای $2/5$ گرم در کیلوگرم شوری + 30 و 90 میلی‌گرم کاربرد کادمیم، تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱). به‌طور کلی، نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های موجود در شکل ۱ نشان می‌دهد که در سطوح صفر و 5 میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم با افزایش سطوح

سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گیاه کوشیا را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که اثرات اصلی و متقابل تیمارهای به‌کار رفته در این آزمایش به طور معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های فوق‌الذکر اثرگذار بودند.

آنزیم پراکسیداز

بر اساس مقایسه میانگین‌های ارائه شده در شکل ۱، بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شاهد (عدم کاربرد شوری و کادمیم) و تیمار 5 میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم بدون اعمال شوری مشاهده شد که به ترتیب $1/86$ و $1/75$ (میکرومول

تجزیه شده در دقیقه گرم وزن تازه) بود (شکل ۳). به‌طور کلی، نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که در سطوح صفر، ۵ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شرایط عدم اعمال شوری در هر دو سطح ۲/۵ و ۵ گرم در کیلوگرم شوری کاهش معنی‌دار داشت. در صورتی‌که در سطوح ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، شوری نه تنها اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرد بلکه سبب افزایش فعالیت آنزیم مذکور نسبت به شرایط عدم اعمال شوری نیز شد (شکل ۳). در سطح شوری صفر، با افزایش سطوح کادمیم تا سطح ۶۰، تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده نشد (شکل ۳). در سطح ۲/۵ گرم در کیلوگرم شوری، کاربرد ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد (عدم کاربرد کادمیم) شد. همچنین در سطح شوری ۵ گرم در کیلوگرم نیز کاربرد ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد (عدم کاربرد کادمیم) شد (شکل ۳).

در جدول ۳، نتایج تجزیه واریانس اثرات سطوح مختلف شوری و کادمیم بر وزن تر شاخساره، وزن خشک شاخساره و ریشه، ارتفاع گیاه و محتوای کلروفیل در گیاه کوشیا نشان داده شده است. بر این اساس، نتایج ارائه شده حاکی از آن هستند که اثرات اصلی و متقابل تیمارهای به‌کار گرفته شده در این آزمایش توانستند به‌طور معنی‌داری بر ویژگی‌های بیان شده اثرگذار باشند. در ادامه، مقایسه میانگین بین تیمارها در مورد هر ویژگی در قالب جدول و نمودار نشان داده خواهد شد.

محتوای کلروفیل برگ

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول تجزیه واریانس (جدول ۳)، اثرات اصلی و متقابل شوری و کادمیم به‌طور معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل برگ تأثیر گذاشتند ($P \leq 0.01$). بیشترین محتوای کلروفیل a برگ در تیمار شاهد یعنی در شرایط عدم کاربرد شوری و کادمیم مشاهده شد و همچنین کمترین محتوای کلروفیل a برگ نیز در تیمار ۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم به‌دست

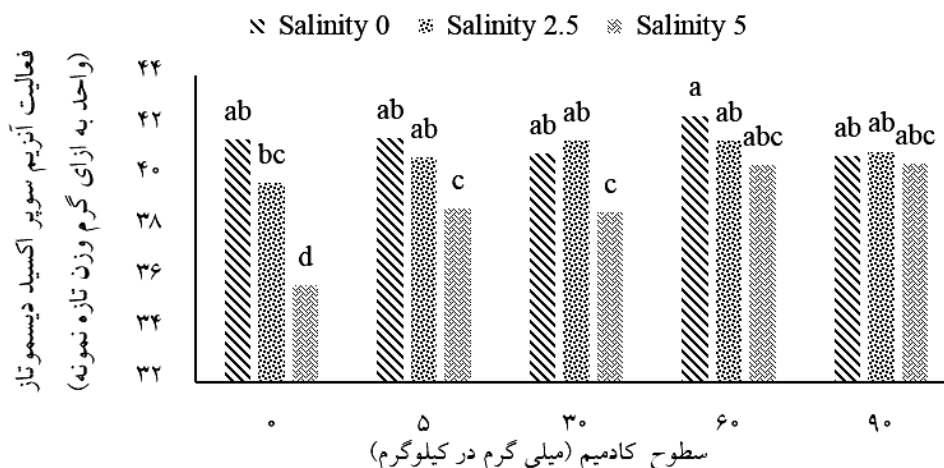
شوری، فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت در صورتی‌که در سطوح ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم با افزایش سطح شوری، در بیشتر موارد بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

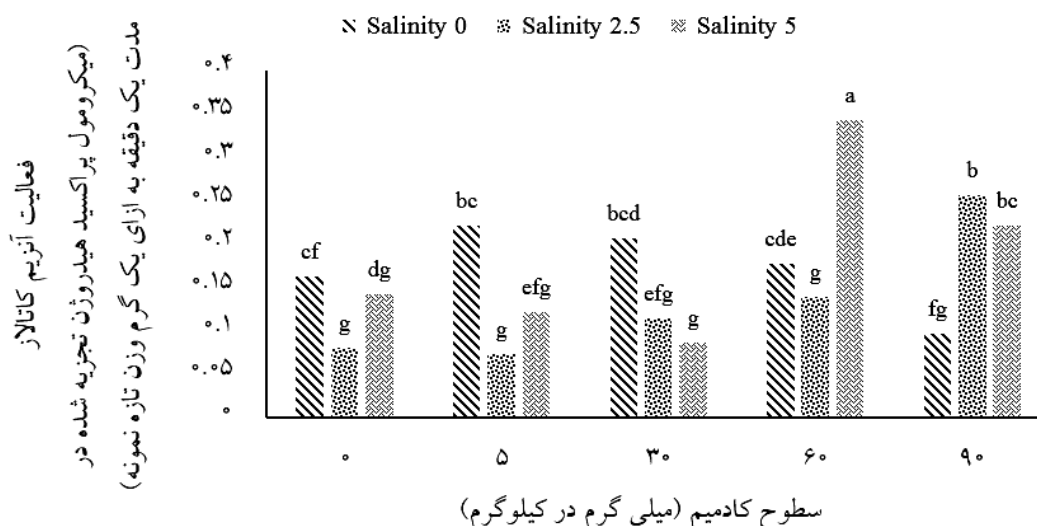
بیشترین و کمترین مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌ترتیب در تیمارهای ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم بدون اعمال شوری ۴/۲ واحد بر گرم وزن تازه) و ۵ گرم در کیلوگرم شوری بدون کاربرد کادمیم (۸/۳۵ واحد بر گرم وزن تازه) مشاهده شد (یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان مقدار آنزیم لازم برای ۵۰ درصد ممانعت از احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوترائزولیم کلراید در نظر گرفته شد (۳)). (شکل ۲). در اکثر قریب به اتفاق موارد، در هر سطح از شوری با افزایش سطوح کادمیم، تفاوت معنی‌داری در مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده نشد و همچنین در سطوح ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، با افزایش سطوح شوری اختلاف معنی‌داری در مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ایجاد نکرد (شکل ۲). علاوه بر این، در سطوح صفر، ۵ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تنها در سطح شوری ۵ گرم در کیلوگرم در مقایسه با دیگر سطوح شوری (صفر و ۲/۵ گرم در کیلوگرم)، مشاهده شد (شکل ۲).

آنزیم کاتالاز

بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم (۳۴/۰ میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه گرم وزن تازه) مشاهده شد (شکل ۳) و همچنین کمترین مقادیر فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در تیمارهای ۲/۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، ۲/۵ گرم در کیلوگرم شوری بدون کادمیم و ۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم مشاهده شد که به‌ترتیب ۰/۰۷، ۰/۰۸ و ۰/۰۹ (میکرومول پراکسید هیدروژن



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف شوری و کادمیم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه کوشیا. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند باشند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$)



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف شوری و کادمیم بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه کوشیا. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$)

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف شوری و کادمیم بر عملکرد و محتوای کلروفیل کوشیا

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر شاخساره	وزن خشک		ارتفاع گیاه	میانگین مربعات		
			شاخساره	ریشه		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
کادمیم	۴	۱۵۳۶**	۱۶۷**	۱/۱۳**	۲۰۱۹**	۰/۰۲۷**	۰/۰۰۲۹**	۰/۰۳۳**
شوری	۲	۴۸۹**	۳۷/۲**	۰/۵۱**	۴۶۷**	۰/۰۱**	۰/۰۰۰۹**	۰/۰۰۵۲*
کادمیم × شوری	۸	۹۶/۶**	۱۰/۳**	۰/۰۸**	۹۴/۲**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۸**
خطا	۳۰	۱۰/۱۲	۰/۸۱	۰/۰۰۹	۶/۵۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۰۱۲
ضریب تغییرات	-	۶/۹۴	۸/۵	۷/۱۸	۳/۷۱	۵/۵۰	۱۱/۴۲	۵/۱۸

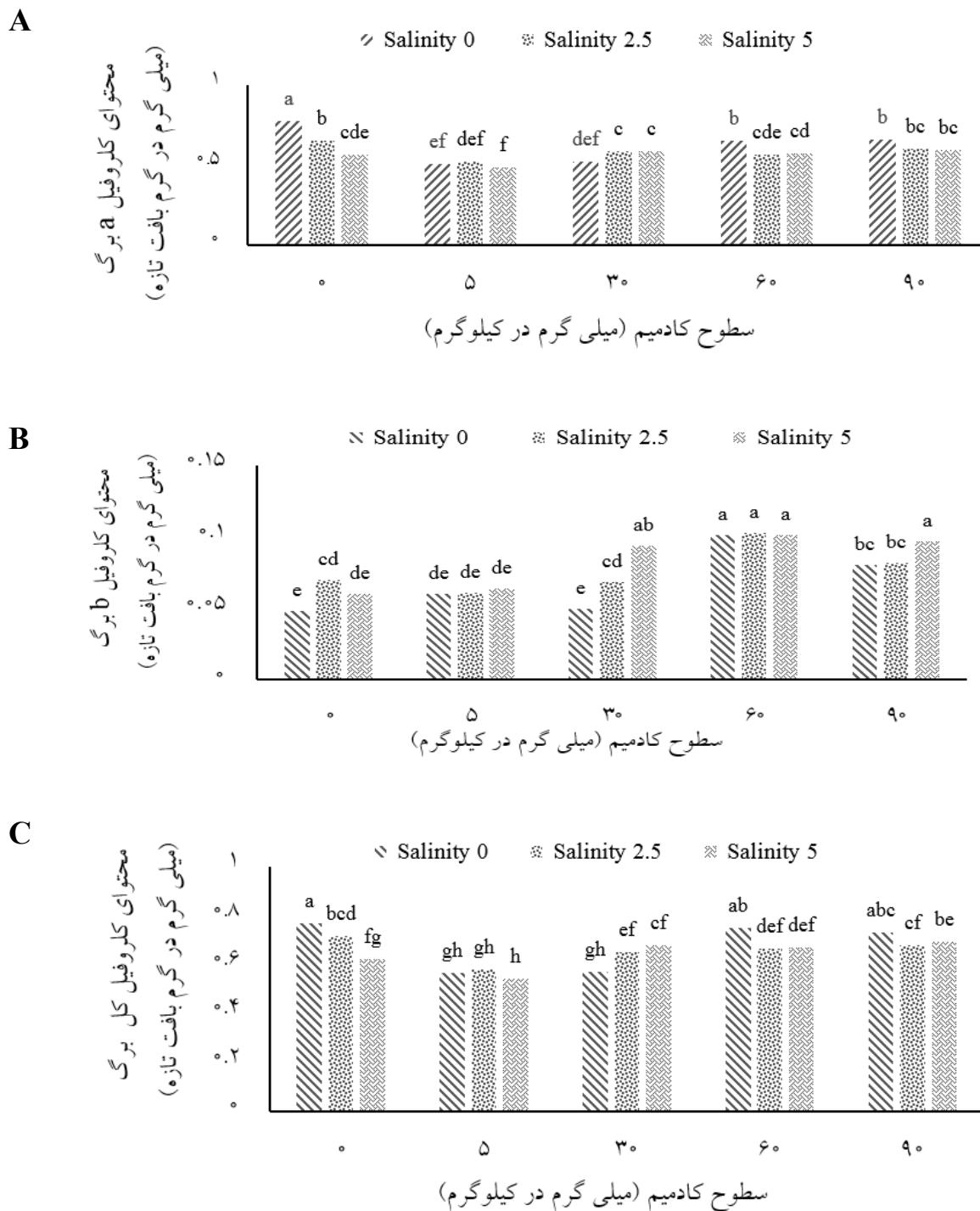
** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

در کیلوگرم کادمیم بر محتوای کلروفیل کل برگ نسبت به شرایط عدم استفاده از کادمیم فاقد اختلاف معنی‌دار بود، درحالی‌که کاربرد ۵ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم باعث کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل کل برگ در مقایسه با شرایط عدم استفاده از کادمیم شد (شکل ۴- C).

وزن تر، خشک و ارتفاع گیاه

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول تجزیه واریانس (جدول ۳)، اثرات اصلی و برهم‌کنش شوری و کادمیم به‌طور معنی‌داری وزن تر و خشک شاخساره، وزن خشک ریشه و ارتفاع گیاه را تحت تأثیر قرار داد ($P \leq 0.01$). مقایسه میانگین‌های برهم‌کنش شوری و کادمیم حاکی از آن است که در مورد وزن تر و خشک شاخساره، بیشترین مقادیر در سطح شوری ۲/۵ گرم در کیلوگرم و کاربرد کادمیم ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد که به‌ترتیب ۵۹/۸ و ۱۶/۹ گرم در گلدان بود، همچنین کمترین مقادیر وزن تر شاخساره نیز مربوط به سطح شوری ۵ گرم در کیلوگرم و کاربرد کادمیم ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که به‌ترتیب ۱۹/۸ و ۳/۵۴ گرم در گلدان بودند، البته برخی تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۴). به‌طورکلی، مطابق با آنچه که نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد (جدول ۴)، در سطوح ۰ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، با افزایش سطوح شوری نه تنها تفاوت چندانی در وزن تر و خشک شاخساره ایجاد نشده است بلکه بیشترین مقادیر این ویژگی‌ها نیز در تیمار تلفیقی سطح شوری ۲/۵ گرم در کیلوگرم و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم مشاهده شد که نسبت به شاهد به‌ترتیب ۷/۲ و ۲۶/۲ درصد افزایش داشته است (جدول ۴). در صورتی‌که با افزایش سطوح کاربرد کادمیم از ۳۰ تا ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم با افزایش سطوح شوری از ۰ تا ۵ گرم در کیلوگرم، وزن تر و خشک شاخساره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و کمترین مقادیر ویژگی‌های مذکور در تیمار ۵ گرم در کیلوگرم شوری و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم مشاهده شد که به‌ترتیب نسبت به شاهد ۶۴/۵۸ و ۷۳/۶۱ درصد کاهش

آمد (شکل ۴- A). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در تیمار عدم کاربرد کادمیم، با افزایش سطوح شوری محتوای کلروفیل a برگ به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت. درحالی‌که با افزایش سطوح کاربرد کادمیم از ۵ تا ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، اعمال شوری در سطوح ۲/۵ و ۵ گرم در کیلوگرم اثر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a برگ نداشت (شکل ۴- A). نتایج کاملاً متفاوتی در مورد محتوای کلروفیل b برگ به‌دست آمد. به این صورت که در مورد این رنگدانه کلروفیلی، بالاترین اعداد در تیمارهای ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم در هر سه سطح شوری (۰، ۲/۵ و ۵ گرم در کیلوگرم) و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم + ۵ گرم در کیلوگرم شوری اختصاص داشت (شکل ۴- B). همچنین کمترین محتوای کلروفیل b برگ نیز در دو تیمار شاهد (عدم کاربرد شوری و کادمیم) و تیمار ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم بدون اعمال شوری مشاهده شدند که البته بین آنها با برخی تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۴- B). به‌طورکلی در هر سطح از شوری، با افزایش سطوح کاربرد کادمیم از ۳۰ به ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، محتوای کلروفیل b برگ در مقایسه با آنچه که در سطح کاربرد ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم به‌دست آمد، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۴- B). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که مشابه با آنچه که در مورد محتوای کلروفیل a برگ گزارش شد، در مورد محتوای کلروفیل کل برگ نیز بالاترین (۰/۷۷ میلی‌گرم در کیلوگرم بافت تازه) و پایین‌ترین (۰/۵۴ میلی‌گرم در کیلوگرم بافت تازه) مقدار به‌ترتیب به تیمارهای شاهد (عدم کاربرد شوری و کادمیم) و ۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم اختصاص داشت (شکل ۴- C). در سطوح ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم با افزایش سطوح شوری، محتوای کلروفیل برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، در صورتی‌که در سطح ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، محتوای کلروفیل برگ در سطوح مختلف شوری تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۴- C). همچنین در هر سطح از شوری، اثر کاربرد ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف شوری و کادمیم بر محتوای کلروفیل a (A) و کلروفیل b (B) و کلروفیل کل (C) برگ در گیاه کوشیا. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$)

معنی‌داری باعث کاهش وزن خشک ریشه گیاه نسبت به شرایط عدم کاربرد کادمیم شد (جدول ۴). با توجه به مقایسه

نشان داد (جدول ۴). به‌طور کلی، در هر سطح از شوری، کاربرد کادمیم در سطوح ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌طور

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف شوری و کادیم بر برخی ویژگی های رشدی گیاه کوشیا

میانگین	شوری (گرم در کیلوگرم خاک)			میانگین	شوری (گرم در کیلوگرم خاک)			سطوح کادیم
	۵	۲/۵	۰		۵	۲/۵	۰	
ارتفاع گیاه (سانتی متر)				وزن تر شاخساره (گرم در گلدان)				(میلی گرم در کیلوگرم)
۷۸/۵ ^{AB}	۷۵/۲ ^{cd}	۸۱/۲ ^b	۷۹/۱ ^{bc}	۵۴/۹ ^{AB}	۵۵/۹ ^{ab}	۵۳/۱ ^{bc}	۵۵/۸ ^{ab}	۰
۸۰/۹ ^A	۷۹ ^{bc}	۸۶/۷ ^a	۷۷ ^{bc}	۵۶/۵ ^A	۵۳ ^{bc}	۵۹/۸ ^a	۵۶/۷ ^{ab}	۵
۷۸/۱ ^B	۶۸/۹ ^e	۷۹/۶ ^{bc}	۸۵/۷ ^a	۵۲/۹ ^B	۴۴/۱ ^d	۵۷/۶ ^{ab}	۵۷/۱ ^{ab}	۳۰
۶۲/۱ ^C	۵۳/۷ ^g	۶۰/۴ ^f	۷۲/۱ ^{de}	۳۸/۵ ^C	۲۵/۱ ^f	۴۲/۵ ^d	۴۸ ^{cd}	۶۰
۴۵/۹ ^D	۳۸/۴ ⁱ	۴۲/۷ ^{hi}	۵۶/۴ ^{fg}	۲۶/۳ ^D	۱۹/۸ ^f	۲۲/۹ ^f	۳۶/۲ ^e	۹۰
	۶۳/۱ ^C	۷۰/۱ ^B	۷۴/۱ ^A		۳۹/۶ ^C	۴۷/۲ ^B	۵۰/۸ ^A	میانگین
وزن خشک ریشه (گرم در گلدان)				وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)				
۱/۴۸ ^B	۱/۳۳ ^d	۱/۵۸ ^{bc}	۱/۵۲ ^{bc}	۱۴/۲۶ ^A	۱۳/۱۴ ^c	۱۵/۷۵ ^{ab}	۱۳/۴۳ ^c	۰
۱/۵۵ ^B	۱/۴۵ ^{cd}	۱/۵۶ ^{bc}	۱/۶۲ ^{bc}	۱۴/۱۰ ^A	۱۳/۱۸ ^c	۱۶/۹ ^a	۱۲/۶۵ ^c	۵
۱/۶۶ ^A	۱/۵۴ ^{bc}	۱/۶۴ ^{ab}	۱/۷۹ ^a	۱۲/۴۲ ^B	۸/۷۲ ^d	۱۳/۵ ^c	۱۵/۰۵ ^b	۳۰
۱/۰۹ ^C	۰/۸۶ ^f	۰/۸۴ ^f	۱/۵۶ ^{bc}	۷/۳۹ ^C	۵/۱۷ ^{fg}	۷/۲ ^e	۹/۸۲ ^d	۶۰
۰/۸۱ ^D	۰/۶۳ ^g	۰/۶۹ ^g	۱/۱۲ ^e	۴/۶۸ ^D	۳/۵۴ ^h	۴/۱ ^{gh}	۶/۳۸ ^{ef}	۹۰
	۱/۱۶ ^C	۱/۲۶ ^B	۱/۵۲ ^A		۸/۷۵ ^B	۱۱/۴۹ ^A	۱۱/۴۶ ^A	میانگین

میانگین هایی که در هر ردیف یا ستون در یک حرف بزرگ و اعدادی که در بدنه جدول در یک حرف کوچک مشترک هستند از نظر آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری ندارند.

۴). همچنین در مورد ارتفاع بوته نیز کاربرد کادیم در سطوح ۶۰ و ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم به طور معنی داری سبب کاهش ارتفاع بوته گیاه نسبت به شرایط عدم کاربرد کادیم شد (جدول ۴). بر اساس نتایج حاصله، بیشترین و کمترین ارتفاع بوته گیاه که تحت تأثیر اثرات متقابل کاربرد شوری و کادیم به دست آمدند که به ترتیب نسبت به شاهد ۸/۷۴ و ۵۱/۴۲ درصد افزایش و کاهش داشتند (جدول ۴).

بحث

فعالیت آنتی اکسیدانی

در ارتباط با فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در شرایط تنشی گفته شده است که گونه های فعال اکسیژنی مانند رادیکال های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن به صورت طبیعی در اثر

میانگین های ارائه شده در جدول ۴، بیشترین (۱/۷۹ گرم در گلدان) و کمترین (۰/۶۳ گرم در گلدان) وزن خشک ریشه به ترتیب در تیمارهای ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم کادیم بدون استفاده از شوری و ۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم کادیم مشاهده شد. بیشترین و کمترین مقدار وزن خشک ریشه به ترتیب ۱۷/۶۳ و ۵۸/۶۸ درصد نسبت به شاهد افزایش و کاهش داشتند. نتایجی که در مورد اثرات متقابل شوری و کادیم بر ارتفاع بوته دست آمد نیز تا حدودی مشابه با سایر ویژگی های عملکردی گیاه مورد مطالعه بود، به این صورت که بیشترین (۸۶/۷ سانتی متر) و کمترین (۳۸/۴ سانتی متر) ارتفاع بوته به ترتیب در تیمارهای ۵ میلی گرم در کیلوگرم کادیم + ۲/۵ گرم در کیلوگرم شوری و ۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم کادیم به دست آمد (جدول

فعالیت‌های متابولیکی گیاه تولید می‌شوند اما با وجود فلزات سنگین در محیط رشد گیاه، میزان تولید آنزیم‌های مذکور در گیاه افزایش می‌یابد. در واقع گیاهانی که مجهز به سامانه آنتی‌اکسیدانی مانند آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز هستند، می‌توانند از گیاه در مقابل تنش‌های وارده محافظت کنند (۶ و ۴۰). نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که در سطوح ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، با افزایش سطح شوری، تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز مشاهده نشد اما در غلظت‌های کم کادمیم (سطوح صفر و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) با افزایش سطوح شوری، روند کاهشی معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۱). همچنین در سطوح ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم، با افزایش سطوح شوری اختلاف معنی‌داری در مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ایجاد نشد (شکل ۲). اما افزودن شوری در سطوح ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شرایط عدم اعمال شوری شد (شکل ۳). نتایج متفاوتی از اثر فلزات سنگین و شوری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف شورپسند و غیرشورپسند گزارش شده است. هدایتی و همکاران (۱۳) گزارش کردند که تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربیک پراکسیداز در گیاه کوشیا شد. غلظت‌های بالای نمک از یک طرف در خاک باعث افزایش پتانسیل آب خاک شده و از طرف دیگر می‌توانند در گیاه سمیت ایجاد کنند، بنابراین لازم است گیاه سازوکاری برای تحمل این شرایط به‌کار برد که تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌تواند یکی از مکانسیم‌ها باشد (۲۳ و ۲۶). ونگ و سونگ (۴۱) طی تحقیقات خود بر دو گیاه شور پسند و غیر شور پسند اعلام کردند که گیاهان شورپسند در مقایسه با گیاهان غیر شورپسند بهتر توانستند تنش ناشی از شوری و آلودگی سرب و روی را تحمل کنند. آنان همچنین گزارش کردند که در گیاهان شورپسند بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به میزان بیشتری در مقایسه با گیاهان

غیر شور پسند صورت گرفته بود. در واقع این یافته‌ها نشان می‌دهد که گیاهان شورپسند به‌دلیل مکانسیم‌های فیزیولوژیکی خاص خود از نظر واکنش به وضعیت اکسیداتیو، توانایی بیشتری در سازگاری با تنش نمک و سمیت فلزات سنگین را دارند (۴ و ۴۴). ویسزنیوسکا و همکاران (۴۳) کاهش در پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت شرایط تنش شوری و آلودگی فلز سنگین را این‌طور توجیه کردند که چنین واکنشی می‌تواند ناشی از اختلال در منابع کربن و انرژی در طول مدت زمان قرار گرفتن در معرض تنش شدید باشد که سنتز متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنزیم‌های مربوطه را محدود می‌کند. شوتزندوبل و پول (۳۶) بیان کردند که تنش کادمیم و شوری می‌تواند سبب کاهش رشد و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌دلیل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژنی شود. بر اساس نتایج به‌دست آمده از برخی تحقیقات عدم وجود اختلاف معنی‌دار در مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی بین تیمارهای تحت تنش شوری و کادمیم و تیمار شاهد را می‌توان به توانایی گیاهان تحت مطالعه در تنظیم فعال متابولیسم خود با شرایط محیطی نسبت داد (۱۲).

محتوای کلروفیل برگ

به‌طور کلی، در ارتباط با تأثیر انواع تنش‌های زنده و غیرزنده بر محتوای کلروفیل، این اعتقاد وجود دارد که به‌دلیل تأثیر انواع تنش‌ها از جمله فلزات سنگین بر بیوسنتز کلروفیل و ایجاد تنش اکسیداتیو، محتوای کلروفیل در برگ می‌تواند معیاری برای سنجش شدت تنش محسوب شود (۳۷). کاربرد سطوح مختلف کادمیم اثر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل گیاه کوشیا نداشت، اما با افزودن سطوح نمک کلرید سدیم به خاک، اثر مضر کادمیم بر محتوای کلروفیل b کاهش یافت (شکل ۴). گزارش‌های متعددی مبنی بر اثر منفی کادمیم بر محتوای رنگدانه‌های کلروفیلی در بسیاری از گونه‌های گیاهی وجود دارد که علت آن را اثر بازدارنده کادمیم بر بیوسنتز کلروفیل از طریق ایجاد اختلال در جذب دیگر یون‌های اساسی مانند آهن، منگنز و

فتوستت و کلروز اندام هوایی در گیاه مورد مطالعه *(Thellungiella salsuginea)* شد.

وزن تر، خشک و ارتفاع گیاه

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر حاکی از آن بود که در اکثر قریب به اتفاق موارد، برهم کنش شوری و کادمیم در سطوح بالا سبب کاهش وزن گیاه مورد مطالعه شد (جدول ۴). در تحقیقی ونگ و سونگ (۴۱)، نیز گزارش کردند که تنش های شوری و آلودگی سرب به طور معنی داری زیست توده گیاه را تحت تأثیر قرار دادند. آنان نتیجه گرفتند که تحت شرایط تنش شوری متوسط، رشد گیاه سیاه شور خزری (*Suaeda salsa*) در محیطی با غلظت سرب پایین تحریک شد، درحالی که افزایش شوری خاک رشد گیاه را متوقف کرد. همچنین ونگ و همکاران (۴۲) نیز اعتقاد داشتند که توانایی قابل توجه شور پسندها در مقاومت در برابر فلزات سنگین به مقاومت آنها در برابر نمک مرتبط است. در واقع ساخت آنتی اکسیدان ها به شور پسندها کمک می کند تا در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین مقاومت کنند (۲۵). نتایج تحقیقات صورت گرفته در این زمینه نشان داده است که در مقایسه با غیر شور پسندها، شور پسندها دارای فعالیت دفاعی آنتی اکسیدانی بالاتری هستند که ممکن است برای سازگاری آنها با تنش های ناشی از فلزات سنگین و شوری مفید باشد (۴). به عنوان مثال، در شور پسندها سطح بالای بیان ژن سازوکارهای فیزیولوژیکی و دفاعی خاص، توانایی سازگاری این گیاهان را در مقابل تنش های شوری و سمیت فلزات سنگین افزایش می دهد (۴۴). مشابه با آنچه که در تحقیق حاضر گزارش شد، فاروق و همکاران (۷) نیز گزارش کردند که سطوح پایین آلودگی خاک به کادمیم، اثر معنی داری بر ویژگی های رشدی گیاه همیشه بهار نداشت، درحالی که در سطوح بالای آلودگی خاک به کادمیم (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) طول ریشه، ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاه مورد مطالعه ۲۵ تا ۳۳ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. آنان این کاهش در ویژگی های رشدی

منیزیم دانسته اند (۳۸). همچنین در ارتباط با تأثیر تنش شوری بر محتوای کلروفیل گیاهی، نتایج مطالعات نشان می دهد که قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش شوری منجر به افزایش تولید گونه های اکسیژن فعال شده که به اجزای سلولی آسیب رسانده و همچنین باعث تخریب کلروفیل و کاهش سیالیت و انتخاب پذیری غشاء می شوند و از این طریق محتوی کلروفیل در گیاه کاهش می یابد (۳۹). در تحقیق حاضر نیز با کاربرد سطوح شوری در هر سطح کادمیم، محتوای کل کلروفیل برگ کاهش یافت (شکل ۴) که شاید دلیل آن را بتوان به افزایش فعالیت برخی آنزیم ها مانند کاتالاز نسبت داد (شکل ۳). فاروق و همکاران (۷) گزارش کردند که کاربرد کادمیم در سطوح پایین تأثیر معنی داری بر کاهش محتوی کلروفیل در گیاه گل همیشه بهار نداشت، در صورتی که کاربرد آن در غلظت های ۷۵ تا ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم به طور معنی داری محتوای کلروفیل گیاه را کاهش داد. آنان دلیل آن را تخریب کلروفیل ناشی از تنش اکسیداتیو دانستند. همچنین در مطالعه دیگری گزارش شد که افزودن نمک کلرید سدیم در خاک تیمار شده با عناصر سنگین روی و کادمیم به طور قابل توجهی اثرات مضر این آلاینده ها را بر محتوی کلروفیل در گیاه پنیرک مردابی (*Kosteletzkya pentacarpos*) کاهش داد (۴۶). محققان علت این امر را به توانایی یون سدیم در کاهش تولید کربونیل و پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با عناصر سنگین دانستند (۴۵). در واقع نمک کلرید سدیم که از کلروپلاست ها که مهم ترین مکان برای سنتز گونه های فعال اکسیژنی هستند، محافظت می کند که این اثر محافظتی، با افزایش رسانایی روزنه ای و همچنین غلظت رنگدانه های کلروفیلی در گیاهان تیمار شده با عناصر سنگین همراه است و احتمالاً منجر به بهبود فتوسنتز خالص در گیاهان متأثر از عناصر سنگین می شود (۵). رحما و همکاران (۳۰) نیز گزارش کردند که کاربرد کادمیم منجر به کاهش محتوی کلروفیل شد. آنان همچنین گزارش کردند که کاربرد نمک کلرید سدیم باعث کاهش برخی از علائم مرتبط با سمیت کادمیم مانند آسیب غشاء، تخریب کلروفیل، کاهش

گیاه که در اثر آلودگی خاک به عنصر سنگین کادمیم ایجاد شده بود را به ایجاد اختلال در روابط آب، کاهش فعالیت فتوسنتزی، کاهش جذب عناصر غذایی و تغییر در فعالیت‌های آنزیمی نسبت دادند (۳۲). همچنین نتایج حاصل از مطالعات موهلینگ و لائوچلی (۲۲) نشان داد که سطوح متوسط شوری (۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم)، کاهش معنی‌داری در عملکرد و رشد گیاه گندم ایجاد نکرد، در صورتی‌که در غلظت‌های بالاتر کلرید سدیم (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار)، کاهش معنی‌دار در ویژگی‌های رشدی گندم مشاهده شد که آنان کاهش در عملکرد گیاه تحت تنش شوری و آلودگی کادمیم را به دلیل ایجاد کمپلکس‌های کلرید کادمیم در خاک و افزایش جذب آن توسط گیاه دانستند. در واقع جابه‌جایی کادمیم در خاک و ریشه به وسیله نمک کلرید سدیم باعث ایجاد اختلال در عملکرد غشاء سلولی در سلول‌های ریشه شده و از این طریق ممکن است منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاه شود (۱۹).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که تنش‌های بکارگرفته شده در این آزمایش در بیشتر تیمارها به‌ویژه در سطوح بالای کادمیم اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نداشتند. به‌طورکلی، با توجه به نتایج گزارش شده، می‌توان نتیجه گرفت که برهم‌کنش‌های کادمیم و شوری در سطوح پایین کاربرد کادمیم و شوری تا

حدودی اثر معنی‌داری بر ویژگی‌های عملکردی و محتوای رنگدانه‌های کلروفیلی گیاه کوشیا داشتند. اما در سطوح بالای کادمیم (۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، با افزایش سطح شوری، تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراسیداز و سوپراکسید دیسموتاز دیده نشد. همچنین در مطالعه وضعیت رنگدانه‌های کلروفیلی نیز مشاهده شد که با افزایش شدت تنش، محتوای کلروفیل a کاهش یافته و بیشترین مقدار آن متعلق به تیمار شاهد بود، در صورتی‌که در مورد کلروفیل b، تیمارهای ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کاربرد کادمیم در هر سه سطح شوری (۰، ۲/۵ و ۵ گرم در کیلوگرم) و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم + ۵ گرم در کیلوگرم شوری، بالاترین مقدار این رنگدانه کلروفیلی را به خود اختصاص دادند و همچنین در مورد محتوای کلروفیل کل، بالاترین مقدار مشاهدات به تیمارهای شاهد (عدم کاربرد شوری و کادمیم) و ۵ گرم در کیلوگرم شوری + ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم مربوط بود. در مجموع با بررسی نتایج به‌دست آمده از این آزمایش مشاهده شد که بیشترین کاهش در وزن تر و خشک شاخساره، وزن خشک ریشه و ارتفاع گیاه در سطوح بالای تنش شوری و کادمیم اتفاق افتاد. در نهایت برای ارائه یک نتیجه قابل اعتماد، بایستی مطالعات بیشتری جهت بررسی سطوح بالاتری از کادمیم و شوری و اثرات فردی و ترکیبی شوری و کادمیم در گیاه کوشیا و سایر گونه‌های مختلف شورپسند انجام شود.

منابع مورد استفاده

1. Abtahi, S. M. and M. Pakparvar. 2002. Monitoring of desertification by satellite data processing (Case Study: Kashan Plain), 2-Detection change of land use. *Iranian Journal of Range and Desert Research* 6: 85-104. (In Farsi).
2. Aliasgharzadeh, N., S. N. Rastin, H. Towfighi and A. Alizadeh. 2001. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. *Mycorrhiza* 11: 119-122.
3. Asada, K., M. Takahashi and M. Nagate. 1974. Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase. *Agricultural and Biological Chemistry* 38: 471-473.
4. Bose, J., A. Rodrigo-Moreno and S. Shabala. 2014. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. *Journal of Experimental Botany* 65: 1241-1257.
5. Cherif, J., N. Derbel, M. Nakkach, H. vopn Bergmann, F. Jemal and Z. Ben Lakhdar. 2012. Spectroscopic studies of photosynthetic responses of tomato plants to the interaction of zinc and cadmium toxicity. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 111: 9-16.
6. Demiral, T. and I. Turkan. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 53: 247-257.

7. Farooq, A., M. Nadeem, G. Abbas, A. Shabbir, M. S. Khalid, H. M. R. Javeed, M. F. Saeed, A. Akram, A. Younis and G. Akhtar. 2020. Cadmium partitioning, physiological and oxidative stress responses in marigold (*Calendula calypso*) grown on contaminated soil: implications for phytoremediation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 105: 270-276.
8. Galeshi, S., B. Torabi, G. H. Resam, A. RahemiKarizaki and A. Barzegar. 2009. Stress management in plants. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Press, Gorgan. (In Farsi).
9. Gasper, T., C. Penel, F. J. Castillo and H. Greppin. 1985. A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. *Journal of Plant Physiology* 64: 418-423.
10. Ghahremani, R. 2009. Evaluation of cadmium contamination in soils south of Tehran and its uptake by spinach. MSC Thesis. Tarbiat Modares University. Tehran. Iran. (In Farsi).
11. Giannopolitis, C. N. and S. K. Ries. 1977. Superoxide dismutases I. occurrence in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 59: 309-314.
12. Han, R. M., I. Lefe, A. Albacete, F. Pe' rez-Alfocea, G. Barba-Esp' in, P. D'iaz-Vivancos, M. Quinet, C. H. Ruan, J. A. Hernandez, E. Cantero-Navarro and S. Lutts. 2012. Antioxidant enzyme activities and hormonal status in response to Cd stress in the wetland halophyte *Kosteletzkya virginica* under saline conditions. *Physiologia Plantarum* 147: 352-368.
13. Hedayati Firoozabadi, A., A. Kazemeini and H. Pirasteh Anoosheh. 2018. Effect of salinity on antioxidant enzymes and dry weight in intercropping of Sorghum-Kochia. In: Proceeding of 5th National Conference on Plant Physiology of Iran, Zanzan, Iran. (In Farsi).
14. Hiscox, J. T. and G. F. Israelstam. 1979. A method for extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany* 57: 1332-1334.
15. Jones, D. I. H. and M. V. Hayward. 1973. A cellulose digestion technique for predicting the dry matter digestibility of grasses. *Jouranal of Science and Food Agriculture* 24: 1419-1426.
16. Kafi, M., H. Asadi and A. Ganjeali. 2010. Possible utilization of high salinity waters and application of low amounts of water for production of the halophyte *Kochia scoparia* as alternative fodder in saline agroecosystems. *Agricultural Water Management* 97: 139-147.
17. Malakouti, M. J., P. Keshavarz and N. Karimian. 2009. Comprehensive Method of Optimal Diagnosis and Recommendation of Fertilizers for Sustainable Agriculture. Tarbiat Modares University press, Tehran. (In Farsi).
18. Manara, A. 2012. Plant responses to heavy metal toxicity, In: A. Furini (Ed.), pp. 27-53, Plants and Heavy Metals. Briefs in Molecular Science. Springer, Dordrecht, Verona.
19. McLaughlin, M. J., K. G. Tiller, T. A. Beech and M. K. Smart. 1994. Soil salinity causes elevated cadmium concentrations in field-grown potato tubers. *Journal of Environmental Quality* 23: 1013-1018.
20. Mohammadkhani, A. 1994. Determining the resistance of pistachio rootstocks to salinity according to changes in respiratory intensity, stomata, uptake and transport of elements. MSc thesis, University of Tehran, Tehran, Iran. (In Farsi).
21. Molassiotis, A., T. Sotiropoulos, G. Tanou, G. Diamantidis and I. Therios. 2006. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM9 (*Malus domestica* Borkh). *Environmental and Experimental Botan* 56: 54-62.
22. Mühling, K. H. and A. Läuchli. 2002. Interaction of NaCl and Cd stress on compartmentation pattern of cations, antioxidant enzymes and proteins in leaves of two wheat genotypes differing in salt tolerance. *Plant and Soil* 253: 219-231.
23. Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167: 645-663.
24. Ozden, M., U. Demirel and A. Kahraman. 2009. Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H₂O₂. *Scientia Horticulturae* 119: 163-168.
25. Ozgur, R., B. Uzilday, A. H. Sekmen and I. Turkan. 2013. Reactive oxygen species regulation and antioxidant defence in halophytes. *Functional Plant Biology* 40: 832-847.
26. Pakar, N., H. Pirasteh-Anosheh, Y. Emam and M. Pessarakli. 2016. Barley growth, yield, antioxidant enzymes, and ion accumulation affected by PGRs under salinity stress conditions. *Journal of Plant Nutrition* 39: 1372-1379.
27. Parmar, P., B. Dave, A. Sudhir, K. Panchal and R. B. Subramanian. 2013. Physiological, biochemical and molecular response of plants against heavy metals stress. *International Journal of Current Research* 5: 80-89.
28. Petrov, V. D. and F. V Breusegem. 2012. Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. *Journal of Cell Biology* 14: 1-13.
29. Pour Moghadas, H., I. Javadi and R. Eslamieh. 2002. Study of the toxic trace elements cadmium, chromium, lead and mercury in tomato paste in Isfahan city. *Avicenna Journal of Clinical Medicine* 9: 40-46. (In Farsi).
30. Rahma, G., M. Arafet, D. Walid, G. Tahar, A. Chedly and B. Roberto. 2018. Combined effects of NaCl and Cd²⁺ stress on the photosynthetic apparatus of *Thellungiella salsuginea*. *BBA – Bioenergetics*. 1859: 1274-1287.
31. Ranjbar, G. H., H. Ghadiri, F. Razzaghi, A. R. Sepaskhah and M. Edalat. 2015. Evaluation of the SALTMED model

- for sorghum under saline conditions in an arid region. *International Journal of Plant Production* 9: 373-392.
32. Rehman, S., G. Abbas, M. Shahid, M. Saqib, A. B. Farooq, M. Hussain, B. Murtaza, M. Amjad, M. A. Naeem and A. Farooq. 2019. Effect of salinity on cadmium tolerance, ionic homeostasis and oxidative stress responses in conocarpus exposed to cadmium stress: Implications for phytoremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 171: 146-153.
 33. Romero-Puertas, M. K., F. J. Corpas, M. Rodriguez-Serrano, M. Gomez, L. A. Del Rio and L. M. Sandalio. 2007. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. *Journal of Plant Physiology* 164: 1346-1357.
 34. Samavat, S., A. Baybordi, M. J. Malakouti and M. M. Tehrani. 2006. Cadmium limit in chemical fertilizers, crops and horticulture. Sana Publications, Ministry of Jihad Agriculture, Soil and Water Research Institute, Tehran, Iran. (In Farsi).
 35. Saremi, A. 2013. Investigation of the role of cadmium in carcinogenesis. In: Proceeding of 3th Iranian Rare Elements Congress. Kashan University of Medical Sciences. Kashan, Iran. (In Farsi).
 36. Schutzendubel, A. and A. Polle. 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany* 53: 1351-1365.
 37. Shin, Y. K., S. R. Bhandari, J. S. Jo, J. W. Song and J. G. Lee. 2021. Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, phytochemical contents, and antioxidant activities in Lettuce Seedlings. *Scientia Horticulturae* 7: 238.
 38. Song, X., W. Chen, H. Jiang, Y. Han and X. Li. 2019. Detection of cadmium risk to the photosynthetic performance of hybrid *pennisetum*. *Frontiers in Plant Science* 10: 1-13.
 39. Taibi, K., F. Taibi, L. A. Abderrahim, A. Ennajah, M. Belkhodja and J. M. Mulet. 2016. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defense systems in *Phaseolus vulgaris*. L. *South African Journal of Botany* 105: 306-312.
 40. Valizadeh Kamran, R., L. Vojodi Mehrabani, and M. B. Hassanpouraghdam. 2018. Study of the effects of lead and cadmium on growth and enzymatic activity of *Spinacia oleracea* in vitro condition. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 6: 257-264. (In Farsi).
 41. Wang, F. and N. Song. 2019. Salinity-induced alterations in plant growth, antioxidant enzyme activities, and lead transportation and accumulation in *Suaeda salsa*: implications for phytoremediation. *Ecotoxicology* 28: 520-527.
 42. Wang, H. L., C. Y. Tian, L. Jiang and L. Wang. 2014. Remediation of heavy metals contaminated saline soils: a halophyte choice? *Environmental Science and Technology* 48: 21-22.
 43. Wiszniewska, A., I. Kamińska, E. Hanus-Fajerska, E. Sliwinska and A. Koźmińska. 2020. Distinct co-tolerance responses to combined salinity and cadmium exposure in metallicolous and non-metallicolous ecotypes of *Silene vulgaris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 201: 110823.
 44. Wu, H., X. Liu, J. Zhao and J. Yu. 2013. Regulation of metabolites, gene expression, and antioxidant enzymes to environmentally relevant lead and zinc in the halophyte *Suaeda salsa*. *Journal of Plant Growth Regulation* 32: 353-361.
 45. Yan, H., F. Filardo, X. Hu, X. Zhao and D. H. Fu. 2016. Cadmium stress alters the redox reaction and hormone balance in oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. *Environmental Science Pollution Research* 23: 3758-3769.
 46. Zhou, M. X., H. Dailly, M. E. Renard, R. M. Han and S. Lutts. 2018. NaCl impact on *Kosteletzkya pentacarpos* seedlings simultaneously exposed to cadmium and zinc toxicities. *Environmental Science Pollution Research* 25: 17444-17456.

Effect of Salinity and Cadmium on Chlorophyll Content, Antioxidant Activity and Weight of Kochia Plant (*Kochia indica*)

P. Ostovar¹, S. Safarzadeh Shirazi^{2*}, J. Yasrebi², A. Ronaghi³ and S. Eshghi⁴

(Received: April 03-2022; Accepted: June 06-2022)

Abstract

In order to investigate the effect of salinity and cadmium (Cd) on yield, chlorophyll content and antioxidant activity of *Kochia* plant, a factorial experiment in a completely randomized design with three replications was conducted under greenhouse conditions. The experimental treatments included five Cd levels (0, 5, 30, 60 and 90 mg Cd kg⁻¹ soil as cadmium sulphate) and three salinity levels (0, 2.5 and 5 g kg⁻¹ soil as NaCl equal to electrical conductivity (EC) 0.65, 9.4, and 18 dS m⁻¹, respectively). The results showed that mean shoot fresh and dry weight, root weight, and plant height at 5 g NaCl Kg⁻¹, decreased significantly by 22, 24, 23, and 15 %; and at 90 mg Cd Kg⁻¹ soil decreased by 52, 67, 45, and 41%, respectively. The greatest reduction in shoot fresh and dry weight, root dry weight and plant height observed at 5 g NaCl Kg⁻¹ + 90 mg Cd Kg⁻¹ levels. The highest total chlorophyll content observed at control (with no salinity and Cd) and 5 g kg⁻¹ salinity + 5 mg Cd kg⁻¹. With addition of NaCl, the harmful effect of Cd on chlorophyll content of the plant decreased. Salinity and Cd levels had a different effects on antioxidant activity of *Koshia* plant. However, at higher Cd levels (60 and 90 mg Cd kg⁻¹), with increasing of salinity levels, no significant differences was observed in peroxidase and superoxide dismutase activity. In general, the change in the activity pattern of the plant antioxidant system, especially catalase and superoxide dismutase enzymes under high stress conditions showed that *Kochia* plant can withstand stress conditions via activating its antioxidant system.

Keywords: NaCl, Heavy metal, Halophyte, Enzymes, Plant growth

1, 2, 3. PhD. Student, Assistant Professor and Professor, Respectively, Department of Soil Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

4, Professor, Department of Horticultural Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

*: Corresponding Author, Email: safarzadeh@shirazu.ac.ir – rsafar2010@gmail.com