نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 3، پاییز 1396، ص. 516-505
شاپا: 4730 - 2008

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 3, Fall 2017, P. 505-516
ISSN: 2008 - 4730

مطالعه تأثیر کادمیم، روی و زئولیت بر خصوصیات فیزیومورفولوژیکی گل راعی (*Hypericum perforatum* L.)

ژاله زندوی فرد[1*] - مجید عزیزی[2] - حسین آرویی[3] - امیر فتوت[4]

تاریخ دریافت: 1394/06/09
تاریخ پذیرش: 1394/11/13

چکیده

در بین عناصر سنگین، کادمیم به دلیل تحرک و زیست فراهمی زیاد در خاک و ایجاد سمیت در غلظت‌های کم، اهمیت ویژه‌ای دارد. گل راعی، دومین گیاه پرمصرف در درمان افسردگی،به عنوان یک گیاه بیش‌اندوز کادمیم شناخته شده است. به دلیل ظرفیت تبادل کاتیونی بالای کانی زئولیت و شباهت رفتار شیمیایی یون‌های روی و کادمیم، افزایش زئولیت و روی در محیط رشد گیاه، می‌تواند تعدیل کننده‌ی اثرات سمی کادمیم باشد. بدین منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل سه عاملی بر پایه‌ی طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 27 تیمار و سه تکرار، به صورت گلدانی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد طی سال‌های 1393-1392 اجرا گردید. تیمارها شامل سولفات کادمیم (0، 10، 20 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، سولفات روی (0، 25، 50 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و زئولیت معدنی (0، 5، 10 گرم در کیلوگرم خاک) بر خاک اعمال شدند. نتایج نشان داد که افزایش سطح کادمیم منجر به کاهش معنی‌دار صفات ارتفاع گیاه، طول ریشه، تعداد ساقه گل‌دهنده، تعداد گل، سطح برگ و میزان کلروفیل نسبی به ترتیب 6/28 ، 3/45 ، 2/04 ، 5/49 ، 0/82 و 15/71 درصد نسب به شاهد گردید و تنها، تعداد گرهک‌های سیاه در برگ را 4/23 درصد نسبت به شاهد افزایش داد. تیمار ترکیبی روی و کادمیم تنها در صفات ارتفاع گیاه و طول ریشه توانست به طور معنی‌داری اثرات کاهنده کادمیم را کاهش دهد. هم‌چنین اثر متقابل کادمیم و زئولیت تنها برای صفات طول ریشه و تعداد گل معنی‌دار شد. به طور کلی، کاربرد سولفات روی و زئولیت تا حدودی اثرات سوء کادمیم بر صفات اندازه‌گیری شده را تعدیل کرد.

واژه‌های کلیدی: بیش‌اندوز کادمیم، سولفات روی، سولفات کادمیم، کلینوپتیلولیت، گیاهان دارویی

مقدمه

کادمیم از سمی‌ترین عناصری است که به دلیل آلودگی‌های جوی، کاربرد آفت‌کش‌ها و استفاده‌ی درازمدت از کودهای فسفره با ناخالصی‌های کادمیمی و یا لجن فاضلاب‌ها، در زمین‌های کشاورزی گسترش وسیعی دارد (7). از آثار سمیت عنصر کادمیم بر روی اندام گیاهی می‌توان به قهوه‌ای شدن حاشیه برگ‌ها، سوختگی، قرمزی رگبرگ‌ها و دمبرگ‌ها، پیچیدگی برگ‌ها، کاهش تراکم، کاهش رشد ریشه و چوب پنبه‌ای شدن ساختمان آن، تداخل با جذب و انتقال عناصر غذایی، کاهش میزان کلروفیل و اختلال در فعالیت آنزیم‌های درگیر در فتوسنتز اشاره کرد. تنش کادمیم، علاوه بر کاهش رشد و نمو گیاه، مقدار و کیفیت ترکیبات مؤثره‌ی گیاهان دارویی که مشمول خواص درمانی آن‌ها می‌باشد، را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (11).

برخی از گیاهان قادر به تجمع مقادیر زیادی از کادمیم (غلظت‌های 10 تا 100 برابر از آن‌چه گیاه تحمل می‌کند) در ریشه و اندام هوایی خود هستند که به عنوان بیش‌اندوز کادمیم شناخته می‌شوند (14و16). گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) متعلق به تیره Hypericaceae دارای ترکیبات فعال و مکانیسم‌های پیشرفته‌ای است که به واسطه‌ی آن‌ها قادر است در خاک‌های آلوده به کادمیم رشد کند. این گیاه با مقادیر نسبتاً بالای کادمیم (1/087 میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک شاخه) می‌تواند به‌عنوان تجمع‌کننده‌ی کادمیم طبقه‌بندی شود (23). این گیاه دارای ترکیبات فعال متعددی متعلق به گروه‌هایی چون نفتودیانترون‌ها، فلاونوئیدها، اسانس‌ها و فلوروگلوسینول‌ها با اثرات بیولوژیکی ضد افسردگی، ضد سوختگی،... ثابت شده است (4). ترکیبات فعال هیپریسین و پسودوهیپریسین با خواص ضدویروسی، ضد رتروویروسی و ضدسرطانی درون گرهک‌های پرسلولی سیاه رنگ که ساختمان ترشحی خاص این گیاه می‌باشند، تجمع می‌یابند (13).

در ارزیابی روش های اصلاح خاک آلوده به کادمیم، اقتصادی

1، 2 و 3- به ترتیب دانشجوی دکتری گیاهان دارویی، استاد و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: zh.zandavifard@yahoo.com)
4- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
DOI: 10.22067/jhorts4.v31i3.41836

بودن و سازگاری با محیط زیست از جمله نکات مهم مورد توجه است. از جمله روش‌های اصلاح خاک، کاربرد تیمارهای کودی به منظور غیر پویا سازی و کاهش جذب و انتقال این فلزات می‌باشد. کادمیم و روی دارای آثار متقابل شدیدی نسبت به هم هستند. این دو یون دارای ساختارهای شیمیایی مشابه‌اند و بر سر مکان‌های تبادل در سطح ریشه با یکدیگر رقابت می‌کنند. هم‌چنین آن‌ها دارای یک سیستم انتقال در غشای پلاسمایی سلول‌های ریشه هستند (33). هم‌چنین روی نقش بازدارندگی در انتقال کادمیم به قسمت هوایی گیاه را دارد (2). به‌طور کلی، واکنش کادمیم و روی به صورت آنتاگونیسم (18، 19و 20) و یا سینرژیست (25، 27 و 29) گزارش گردیده است. آدیلوگلو (1) با کاربرد روی (Zn) در خاک آلوده به کادمیم مشاهده کرد که وزن خشک گندم نان، شبدر، جو و ذرت به طور معنی‌داری افزایش و غلظت کادمیم اندام هوایی در این گیاهان کاهش می‌یابد. یو وجیمز (34) گزارش کردند که در گیاه جو، مصرف 1 تا 50 میکرومول کادمیم در لیتر باعث کاهش غلظت روی (Zn) شد. این پژوهشگران هم‌چنین دریافتند که تغییرات فیزیولوژیکی که بر اثر سمیت کادمیم به وجود آمده با تیمار 300 میکرومول روی (Zn) در لیتر کاهش یافت. کومروا و همکاران (17) اثر کادمیم و روی (Zn) را بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی بابونه بررسی کردند. روی (Zn) توانست اثر سوء کادمیم بر محتوای کلروفیل و وزن خشک بابونه را بهبود بخشد. بهتاش و همکاران (5) عنوان کردند که کاربرد روی (Zn) باعث افزایش شاخص کلروفیل چغندر لبویی شده است. در این راستا، به نظر می‌رسد کاربرد کودهای روی، به ویژه سولفات روی، بر کاهش اثرات زیان بار کادمیم بر گیاه مفید واقع شود (28).

یکی دیگر از روش‌های کنترل آلودگی استفاده از روش غیر پویاسازی شیمیایی فلزات سنگین است. این روش با کاهش حلالیت فلزات سنگین باعث کاهش غلظت آن‌ها در گیاه می‌شود. یک گروه از کانی‌ها که به طور گسترده‌ای جهت غیر فعال سازی فلزات سنگین در خاک‌ها استفاده می‌شود زئولیت است. زئولیت دسته‌ای از آلومینوسیلیکات‌های متخلخل با بار منفی است که کارایی آن‌ها وابسته به ظرفیت تبادل بالای کاتیونی و میزان منافذ ریز آن‌ها است (8). ساختمان زئولیت از نظر بار الکتریکی خنثی خواهد بود. در ساختمان زئولیت تعدادی از یون‌های سیلیس چهار ظرفیتی توسط آلومینیوم سه ظرفیتی جایگزین شده که ایجاد بارالکتریکی منفی نموده و در نتیجه کمبود یک بار مثبت به وجود می‌آید. این کمبود بار مثبت از طریق قرار گرفتن کاتیون‌های یک ظرفیتی یا دو ظرفیتی (عمدتاً Na^{+} ، Ca^{2+} ، Mg^{2+} و K^{+}) متوازن می‌گردد (24). در بین زئولیت‌های طبیعی، کلینوپتیلولیت مؤثرترین تبادل‌کننده و جاذب یون به منظور تثبیت و حذف فلزات سنگین محسوب می‌شود (26). هم‌چنین کلینوپتیلولیت، فراوان‌ترین نوع زئولیت طبیعی است و از نظر فراوانی، ذخائر کلینوپتیلولیت در ایران در جایگاه دوم بعد از آهن قرار می‌گیرند (12). محمودآبادی و همکاران (21) اثر زئولیت و کادمیم را بر رشد سویا بررسی کردند. نتایج نشان داد که کاربرد کادمیم به میزان زیادی، وزن خشک ریشه و شاخه را کاهش داد. در حالی‌که غلظت آن در بخش‌های مختلف گیاه افزایش یافت. در عین حال کاربرد 15 گرم زئولیت در هر کیلوگرم خاک، کاهش قابل ملاحظه‌ای در بخش تبادل کادمیم ایجاد نمود. این پژوهش به منظور بررسی امکان استفاده از سولفات روی و زئولیت جهت کاهش سمیت ناشی از کادمیم بر برخی شاخص های رشدی و بهبود عملکرد در گل راعی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت گلدانی در مزرعه‌ی تحقیقاتی گروه علوم باغبانی واقع در پردیس دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد طی سال‌های 1393-1392 اجرا گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل 3 عاملی بر پایه‌ی طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 27 تیمار و 3 تکرار و جمعاً در 81 گلدان طراحی شد. تیمارها شامل سه سطح سولفات کادمیم (0، 10، 20 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، سه سطح سولفات روی (0، 25، 50 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و سه سطح زئولیت معدنی (0، 5، 10 گرم در کیلوگرم خاک) در نظر گرفته شدند. ترکیبات سولفات روی($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) و سولفات کادمیم ($CdSO_4 \cdot 4H_2O$) از شرکت MERCK خریداری شد و زئولیت کلینوپتیلولیت نیز از معادن استان سمنان تهیه گردید. به منظور آماده‌سازی خاک، ابتدا 18 کیلوگرم خاک شامل مخلوطی از لایه سطح‌الارض مزرعه، ماسه بادی شسته شده و خاک برگ به نسبت 2:1:1 توزین شد. سپس تیمارها به روش محلول‌پاشی و اختلاط به خاک اضافه گردیدند. جهت محلول پاشی سولفات کادمیم و سولفات روی، سطوح مختلف این ترکیبات را در 300 سی‌سی آب (به ازای هر 3 کیلوگرم خاک، 50 سی‌سی آب) کاملاً حل نموده و به روی سطح خاک اسپری و مخلوط کرده به‌طوری که تمامی سطح خاک را کاملاً پوشش دهد. بذور گل راعی رقم توپاز از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی جمع‌آوری گردید. جهت بهبود سرعت و درصد جوانه‌زنی، ابتدا بذور به مدت 24 ساعت در آب جاری مورد شستشو قرار گرفتند. سپس بذور با کمی ماسه بادی مخلوط و به صورت سطحی در گلدان‌ها در تاریخ 20 مهر 1392 کشت شدند. 10 روز پس از کاشت، بذور جوانه زدند. در ابتدا سرعت رشد گیاهچه‌ها بسیار کند و بطئی بود. پس از رشد گیاهچه‌ها تا ارتفاع یک سانتی‌متری، گیاهچه‌ها تنک شدند و تنها 10 عدد در هر گلدان نگهداری گردید. آبیاری بر حسب نیاز صورت گرفت. نمونه‌برداری از گیاهان و اندازه‌گیری صفات مورد نظر در مرحله‌ی گلدهی کامل صورت گرفت. نمونه برداری فقط از دو بوته‌ی وسط هر گلدان در

اوایل تیرماه 1393 انجام شد. روش نمونه برداری به صورتی بود که پس از خارج کردن کامل گیاه از گلدان، بخش‌های بالایی گیاه (به طول 30-20 سانتی متر) برداشت شدند. صفات مورفولوژیکی و رشدی از قبیل صفات ارتفاع گیاه، طول ریشه، تعداد ساقه گل‌دهنده، تعداد گل، سطح برگ، تعداد گرهک سیاه برگ و میزان کلروفیل نسبی اندازه‌گیری شدند. جهت شمارش تعداد گرهک‌های سیاه، از بخش‌های بالایی، میانی و پایینی هر بوته به طور مجزا سه برگ انتخاب گردید و تعداد گرهک‌های سیاه در زیر میکروسکوپ نوری شمارش شد. به منظور اندازه‌گیری سطح برگ از دستگاه سطح برگ سنج مدل (Li-Cor-1300,USA) استفاده شد. میزان کلروفیل نسبی نیز با دستگاه کلروفیل‌متر SPAD با سه تکرار تعیین شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌ها با نرم افزار JMP8 صورت گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال 5 درصد انجام گرفت و نمودارهای مربوطه با نرم افزار اکسل ترسیم شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس اثر کادمیم، روی و زئولیت بر صفات مورفولوژیکی گل راعی در جدول1 ارائه شده است. نتایج حاکی از آن است که ارتفاع گیاه به طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر اثر ساده‌ی کادمیم و روی (Zn) قرار گرفته است ولی تیمار زئولیت تأثیر معنی‌داری بر این صفت نشان نداد. این در حالی است که تنها، اثر متقابل روی و زئولیت در سطح احتمال یک درصد بر صفت ارتفاع گیاه اختلاف معنی‌داری ایجاد کرد. نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده‌ی تیمارها نشان می‌دهد که با افزایش سطح کادمیم، ارتفاع گیاه کاهش یافته به طوری‌که بیش‌ترین ارتفاع گیاه (62/74 سانتی‌متر) در سطح صفر کادمیم وکم‌ترین ارتفاع (56/46 سانتی متر) در بالاترین سطح کادمیم (Cd_{20}) مشاهده شد. بالاترین میزان ارتفاع (62/61 سانتی‌متر) در سطح متوسط روی (Zn_{25}) مشاهده گردید (جدول2).

جدول 1- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی در گل راعی تحت تأثیر کادمیم، روی و زئولیت

Table 1- ANOVA of morphological traits in *Hypericum perforatum* as affected by Cd, Zn and Zeolite.

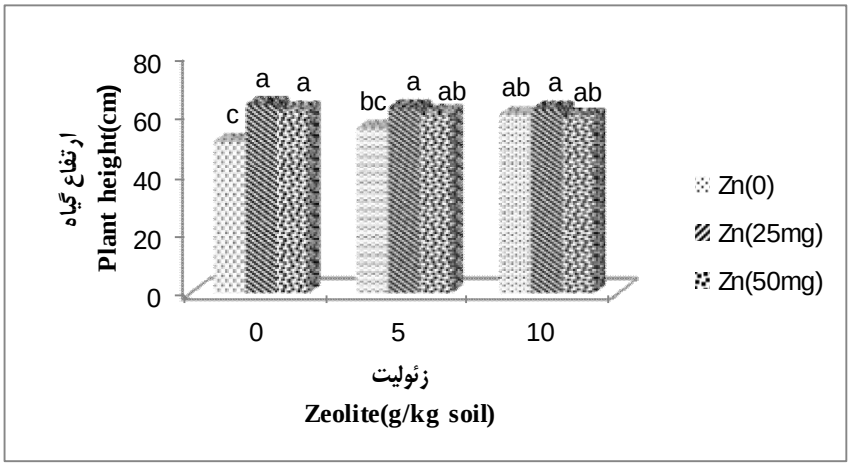
منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی (df)	میانگین‌مربعات Mean squares						
		ارتفاع گیاه Plant height(cm)	طول ریشه Root length (cm)	تعداد ساقه گل دهنده/گیاه No. of flowering stem/Plant	تعداد گل/گیاه No. of flower/Plant	سطح برگ Leaf area (cm^2)	تعداد گرهک سیاه/برگ No. of black nodule/leaf	کلروفیل نسبی Relative chlorophyll content(SPAD)
بلوک Block	2	13.7 ns	2.52*	1.44 ns	32.26 ns	5.90*	0.46 ns	5.58 ns
کادمیم Cd	2	265.96**	8.67**	45.37**	208.26*	4.63*	151.19**	106.85 **
روی Zn	2	362.79**	127.11**	14.92**	101.15**	8.69*	44.16 ns	9.71 ns
زئولیت Zeolite	2	21.06 ns	2.86*	0.26 ns	5.48 ns	0.70 ns	5.97 ns	25.57 *
کادمیم×روی Cd×Zn	4	3.80 ns	9.61**	2.01 ns	2.85 ns	0.30 ns	38.68 ns	2.91 ns
کادمیم×زئولیت Cd×Zeolite	4	27.42 ns	5.42**	5.18 ns	154.35**	0.64 ns	11.33 ns	3.71 ns
روی×زئولیت Zn×Zeolite	4	89.67**	6.17**	0.85 ns	11.35 ns	0.85 ns	13.01 ns	14.30 ns
کادمیم×روی×زئولیت Cd×Zn×Zeolite	8	13.65 ns	4.28**	1.00 ns	33.11 ns	0.42 ns	10.42 ns	2.38 ns
خطا Error	52	13.61	0.75	2.23	29.81	0.42	17.81	6.44

* معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد. ** معنی‌دار در سطح احتمال 1 درصد. ns عدم معنی‌داری

* , ** and ns are significant at $p\leq 0.05$, $p\leq 0.01$ and not significant, respectively

افزایش کادمیم در محیط رشد گیاه، جذب و توزیع عناصر ضروری از جمله آهن و منیزیم را کاهش می‌دهد و منجر به کاهش رشد گیاه می‌شود (36). شارما و همکاران (30) نیز اعلام نمودند که کادمیم از طریق کاهش در رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش فتوسنتز

باعث کاهش رشد گیاهان می‌شود. مهار رشد توسط کادمیم می‌تواند به علت مهار تقسیم سلولی و سرعت طویل شدن سلول‌ها باشد که اغلب توسط مهار غیر قابل برگشت پمپ پروتون که مسئول این فرایند می‌باشد رخ می‌دهد. در برهم‌کنش روی (Zn) و زئولیت بیش‌ترین ارتفاع (61/85 سانتی‌متر)، مربوط به سطح متوسط روی (Zn_{25}) در غیاب زئولیت بود وکم‌ترین ارتفاع (51/01 سانتی‌متر) در سطح صفر زئولیت و روی حاصل شد (شکل1). این نتایج با یافته‌های شوت و مکفی (31) بر گیاه سویا مطابقت داشت.



شکل 1- مقایسه میانگین اثر متقابل روی و زئولیت بر ارتفاع گیاه گل راعی

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آزمون توکی در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Figure 1- Mean comparison of the interaction effect of Zn and Zeolite on plant height of *Hypericum perforatum*. Means which followed by the same letter has no different significantly by the Tukey's test at 5% level of probability

کادمیم و روی (Zn) در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه نهادند. هم‌چنین زئولیت نیز در سطح احتمال 5 درصد در افزایش طول ریشه تأثیرگذار بود (جدول1). با افزایش سطوح کادمیم، طول ریشه کاهش یافته به‌طوری که بیش‌ترین طول ریشه (32/74 سانتی‌متر) در غیاب کادمیم و کم‌ترین مقدار آن (29/29 سانتی‌متر) در بالاترین سطح کادمیم مشاهده شد. مقایسه میانگین بین سطوح مختلف روی (Zn) نیز نشان داد که افزایش غلظت روی منجر به افزایش طول ریشه شده و در سطح Zn_{50} با میانگین (33/20سانتی متر) بیش‌ترین و سطح Zn_0 با میانگین (28/86سانتی‌متر) کم‌ترین طول ریشه حاصل گردید. مقایسه میانگین مربوط به سطوح زئولیت نیز، گویای اثر مثبت این تیمار بر افزایش طول ریشه است که بیش‌ترین مقدار طول ریشه (31/34سانتی‌متر) در بالاترین سطح Z_{10} و کم‌ترین مقدار (30/74سانتی‌متر) در غیاب زئولیت به‌دست آمد (جدول2).

بررسی اثر متقابل کادمیم و روی، بیش‌ترین طول ریشه (33/61 و 33/79 سانتی‌متر) را به ترتیب در سطوح کادمیم Cd_0 و Cd_{10} در ترکیب با Zn_{50} و کم‌ترین مقدار (26/74 سانتی‌متر) را در سطوح $Cd_{20}Zn_0$ نشان داد (شکل2). مشخص شده است که کاهش طول ریشه تحت تنش کادمیم به دلیل اختلال در جذب عناصر غذایی و آب می‌باشد (9). کادمیم با عناصر پرمصرف نظیر فسفر، کلسیم و منیزیم و عناصر کم مصرف مثل آهن، منگنز، مس و روی (Zn) جهت انتقال از طریق پروتئین‌های ناقل موجود در غشای سلولی رقابت می‌کند. کادمیم با کاهش طول و حجم ریشه از جذب دیگر عناصر ممانعت نموده و در نتیجه، جذب خود را بالاتر می‌برد. بنابراین با افزایش کادمیم در خاک و در نتیجه کاهش رشد ریشه، ریشه قادر نخواهد بود عناصر دیگر را به خوبی جذب کند. با افزایش روی (Zn) در خاک، رشد ریشه‌ی گیاهان افزایش یافته و انتقال مواد غذایی به نحو مطلوبی صورت می‌گیرد (32).

در اثر ترکیبی کادمیم و زئولیت، بالاترین مقدار طول ریشه (33/28 سانتی‌متر) در سطح صفر هر دو تیمار و کم‌ترین مقدار (28/44سانتی‌متر) در سطوح $Cd_{20}Z_0$ مشاهده گردید (شکل 3). هم‌چنین در مقایسه میانگین اثرات سه‌گانه در تیمار $Z_0Zn_{50}Cd_0$ بیش‌ترین میانگین (36/26 سانتی‌متر) و در تیمار $Z_0Zn_0Cd_{20}$ کم‌ترین مقدار (26/10سانتی‌متر) حاصل شد (شکل 4). نتایج گویای اثر افزاینده‌ی کود روی بر طول ریشه و اثر کاهنده‌ی کادمیم بر این صفت می‌باشد. یافته‌های یانگ و همکاران (33)، در مورد گیاه *Sedum alfredi* این نتایج را تأیید کرد.

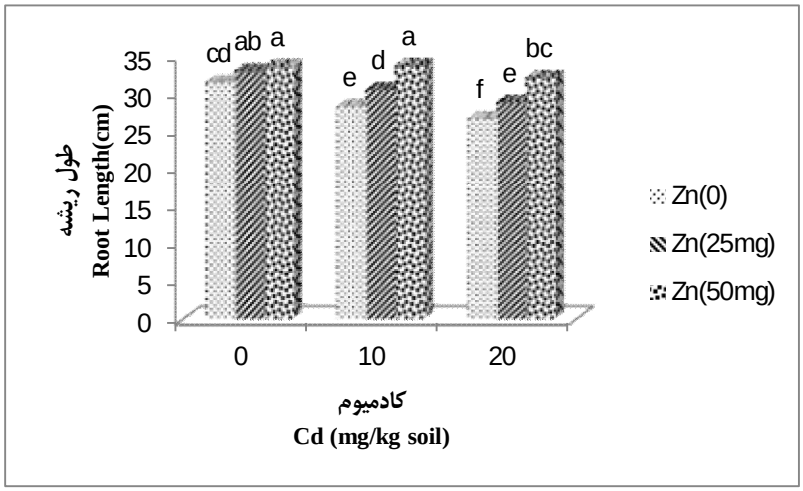
جدول 2- مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارها برای صفات مورفولوژیکی در گل راعی

Table 2- Mean comparison of the single effect of treatments on morphological traits in *Hypericum perforatum*

تیمار Treatment	ارتفاع گیاه Plant height(cm)	طول ریشه Root length (cm)	تعداد ساقه گل دهندهگیاه No. of flowering stem/Plant	تعداد گل گیاه No. of flower/Plant	سطح برگ Leaf area (Cm^2)	تعداد گرهک سیاه/برگ No. of black nodule/leaf	کلروفیل نسبی Relative chlorophyll content(SPAD)
کادمیم Cd							
0	62.74 a	32.74 a	9.48 a	38.74 a	3.80 a	13.29 b	99.31 a
10	59.75 b	30.89 b	7.07 b	35.22 b	3.27 b	13.55 b	13.29 b
20	56.46 c	29.29 c	7.44 b	33.25 b	2.98 b	17.52 a	16.28 b
روی Zn							
0	55.55 b	28.86 c	7.29 b	33.70 b	2.70 b	14.85 a	21.29 a
25	62.61a	30.86 b	7.92 ab	35.96 ab	3.76 a	16.03 a	40.30 a
50	60.78b	33.20 a	8.77 a	37.55 a	3.58 a	13.48 a	67.29 a
زئولیت Zeolite							
0	58.78 a	30.74 b	8.07 a	35.52 a	3.28 a	15.33 a	69.28 b
5	59.62 a	30.83 ab	7.88 a	44.35 a	3.24 a	14.52 a	1.30 ab
10	60.54 a	31.34 a	8.03 a	36.26 a	3.53 a	14.51 a	59.30 a

در هر ستون تیمارهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آزمون توکی در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی دار ندارند.

In each column, the data which followed by the same letter has no different significantly by the Tukey's test at 5% level of probability.



شکل 2- مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیوم و روی بر طول ریشه گیاه گل راعی

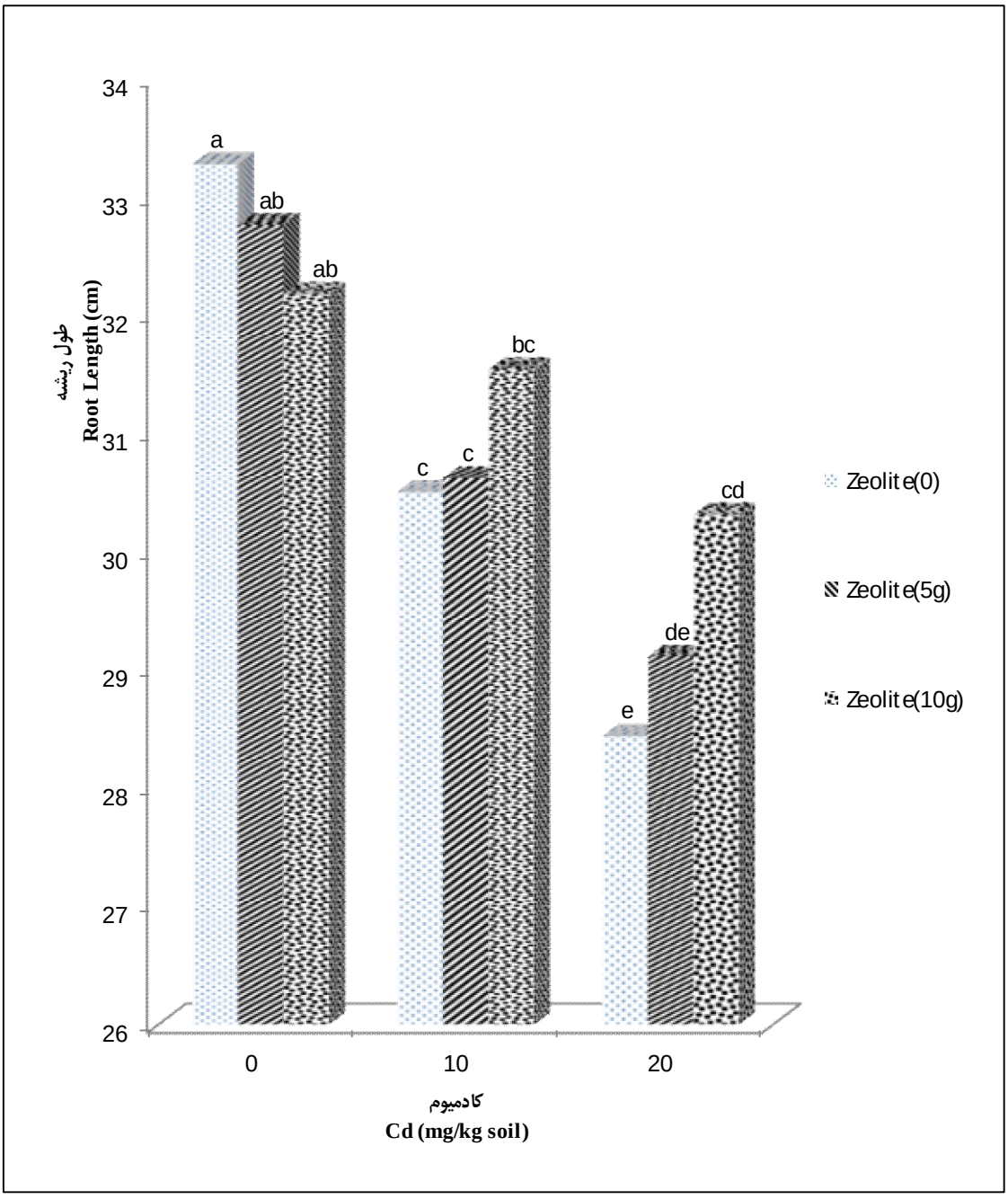
میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آزمون توکی در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Figure 2- Mean comparison of the interaction effect of Cd and Zn on root length of *Hypericum perforatum*. Means which followed by the same letter has no different significantly by the Tukey's test at 5% level of probability

تعداد ساقه‌ی گل‌دهنده در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر کادمیم و روی (Zn) قرار گرفت. ولی هیچ یک از اثرات متقابل نتوانست تأثیر معنی‌داری بر این صفت بگذارد (جدول 1). افزایش سطوح کادمیم منجر به کاهش تعداد ساقه‌ی گل‌دهنده شد به طوری که بیش‌ترین مقدار میانگین (9/48) در سطح صفر و کم‌ترین مقدار (7/44) در بالاترین سطح کادمیم حاصل گردید. روند معکوسی در تیمار روی (Zn) مشاهده شد به طوری که کم‌ترین تعداد ساقه‌ی گل‌دهنده (7/29) در نبود روی (Zn_0) و بیش‌ترین تعداد ساقه‌ی

گل‌دهنده (8/77) در بیش‌ترین سطح روی (Zn_{50}) به‌دست آمد (جدول 2).

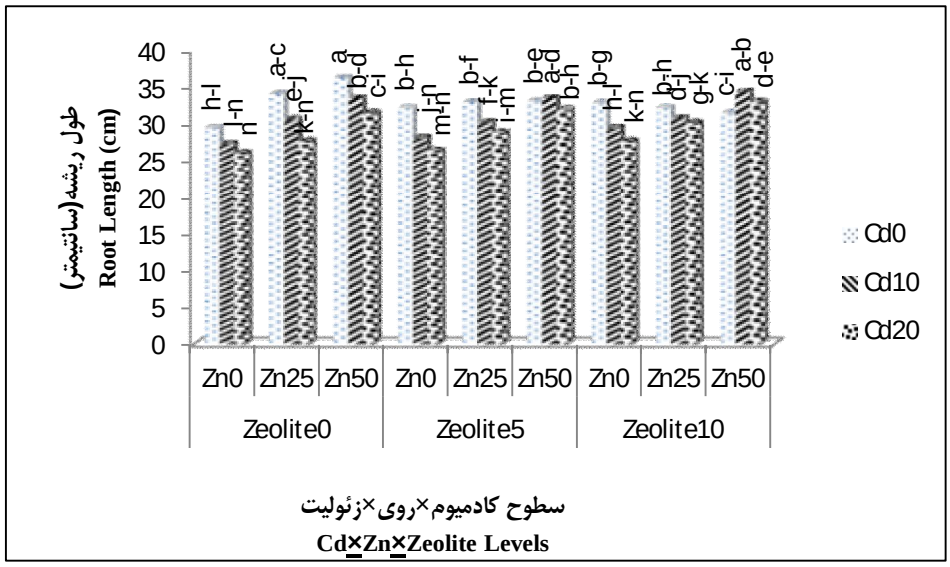
نتایج جدول تجزیه واریانس برای صفت تعداد گل نمایان می‌کند که اثر ساده‌ی کادمیم در سطح احتمال 5 درصد و اثر ساده‌ی روی در سطح احتمال 1 درصد بر تعداد گل در بوته تأثیر معنی‌دار داشته است (جدول 1).



شکل 3- مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیوم و زئولیت بر طول ریشه‌ی گیاه گل راعی

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آزمون توکی در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Figure 3. Mean comparison of the interaction effect of Cd and Zeolite on root length of *Hypericum perforatum*. Means which followed by the same letter has no different significantly by the Tukey's test at 5% level of probability



شکل 4- مقایسه میانگین اثرات سه‌گانه کادمیوم* روی * زئولیت بر طول ریشه‌ی گل راعی

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آزمون توکی در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

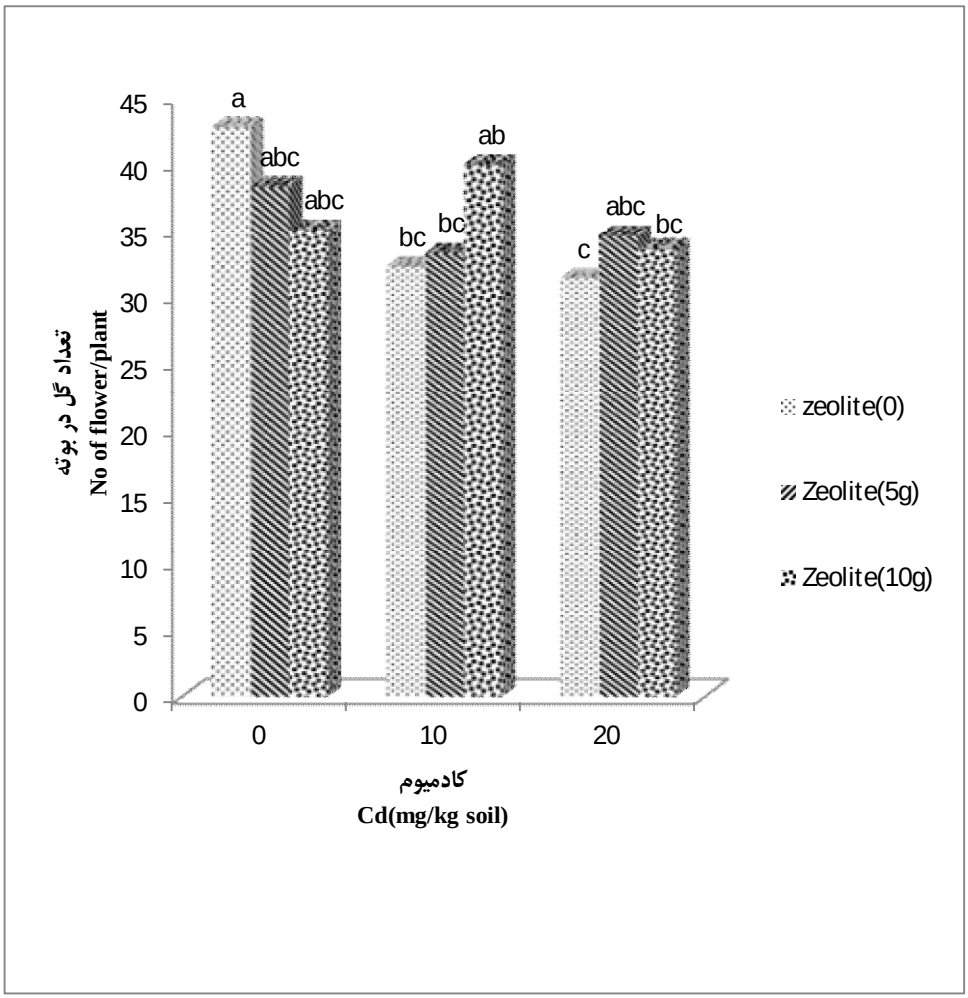
Figure 4. Mean comparison of the triple effect of Cd, Zn and Zeolite on root length of *Hypericum perforatum*
Means which followed by the same letter has no different significantly by the Tukey's test at 5% level of probability

مقایسه میانگین مربوط به صفت تعداد گل نیز نشان داد که بیش‌ترین تعداد گل در گیاه (38/74) در غیاب کادمیم و کم‌ترین آن (33/25) در بالاترین سطح کادمیم حاصل گردید. در تیمار روی (Zn) بیش‌ترین تعداد گل (37/55) و کم‌ترین تعداد (33/70) به ترتیب در کمترین و بیشترین سطوح روی به‌دست آمد که مؤید اثر مثبت این تیمار بر صفت مذکور است. هم‌چنین اثر متقابل کادمیم و زئولیت در سطح احتمال یک درصد برای این صفت معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین مندرج در (شکل 5) نشان داد که تیمار Cd_0Z_0 با بیش‌ترین تعدادگل (42/77) و تیمار $Cd_{20}Z_0$ با کمترین تعداد گل (31/44) تفاوت معنی‌دار دارند.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای صفت سطح برگ نشان داد که کادمیم و روی در سطح احتمال 5 درصد تأثیر معنی‌داری بر این صفت دارد (جدول 1). مقایسه میانگین مربوط به این صفت نیز بیانگر اثر کاهنده کادمیم است به طوری‌که سطح صفر کادمیم، بیش‌ترین سطح برگ (3/80 سانتی‌متر مربع) و بیشترین سطح کادمیم، کم‌ترین سطح برگ (2/98 سانتی‌متر مربع) را به خود اختصاص دادند. اما تیمار روی در غلظت‌های Zn_{25} و Zn_{50} مقادیر بالای سطح برگ (3/76 و 3/58 سانتی‌متر مربع) را حاصل نمود (جدول 2). بخشی از کاهش عملکرد گیاه ناشی از کادمیم زیاد به دلیل اثرات سمی کادمیم در گیاه است که باعث کاهش تعداد برگ‌ها، کاهش سطح برگ‌ها و کاهش فتوسنتز خالص و نهایتاً باعث افت عملکرد می‌شود (3). گزارشاتی مبنی بر تاثیرات منفی کادمیم بر سطح برگ واختلال در جذب آب وجود دارد که نتیجه آن کاهش فشار تورگر است. این کاهش همراه با کاهش قابلیت ارتجاعی دیواره سلول باعث کوچک شدن سلول‌ها و کاهش فضای بین سلولی در گیاهان تحت تنش با کادمیم می‌شود (32).

تعداد گرهک سیاه در برگ نیز تحت تأثیر کادمیم قرار گرفت که در بالاترین سطح کادمیم با میانگین (17/52) بیش‌ترین تعداد گرهک سیاه در برگ به دست آمد (جدول 1). زرین‌کمر و همکاران (35) نیز افزایش تعداد گرهک های سیاه درگل راعی تحت تنش سرب اعلام کردند. افزایش مقدار متابولیت های ثانویه تحت تنش فلز سنگین در گل راعی و بابونه میتواند در ارتباط با مکانیسم کلاته کردن فلزات سنگین باشد (22).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای کلروفیل نسبی نشان داد که کادمیم در سطح احتمال 1 درصد و زئولیت در سطح احتمال 5 درصد تأثیر معنی‌داری بر این صفت داشت. ولی هیچ یک از اثرات متقابل تیمارها نتوانست اختلاف معنی‌داری در مقادیر این صفت نشان دهد (جدول1). نتایج حاصل از مقایسه میانگین برای صفت مذکور به خوبی نشان داد که در بین سطوح کادمیم، سطح صفر کادمیم با میانگین (31/99) نسبت به دیگر سطوح بیش‌ترین مقدار کلروفیل نسبی را به خود اختصاص داد. با افزایش مقدار زئولیت میزان کلروفیل نسبی افزایش یافت به طوری که در بالاترین سطح زئولیت، بیش‌ترین میزان کلروفیل نسبی (30/59) به دست آمد (جدول2).



شکل 5- مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیوم و زئولیت بر تعداد گل در گیاه

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آزمون توکی در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی‌دار ندارند

Figure 5. Mean comparison of the interaction effect of Cd and Zeolite on Number of flower in plant. Means which followed by the same letter has no different significantly by the Tukey's test at 5% level of probability

کادمیم باعث کاهش سنتز کلروفیل از طریق جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های مؤثر در مراحل مختلف تشکیل کلروفیل از طریق اتصال به گروه سولفیدریل (SH-) می‌گردد (3) و با اختلال در فعالیت آنزیم های مؤثر در چرخه‌ی تثبیت گاز کربن و واکنش‌های نیازمند به نور و بی‌نیاز از نور باعث اختلال در فتوسنتز می‌شود (6). افزایش کادمیم در محیط رشد گیاهی، جذب و توزیع آهن را کاهش می‌دهد (36) و با تحریک کمبود آهن، سیستم انتقال الکترون فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می‌دهد. روی (Zn) از طریق محافظت از گروه سولفیدریل باعث استحکام آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و ساختمان چربی غشاء سلول و باعث سنتز کلروفیل می‌شود (15). شارما و همکاران (30) نیز اعلام نمودند که کادمیم از طریق کاهش در رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش فتوسنتز باعث کاهش رشد گیاهان می‌شود.

منابع

1- Adiloglu A. 2002. The effect of zinc (Zn) application on uptake of cadmium (Cd) in some cereal species. Journal of Soil Science, 48: 553-556.
2- An Y.J. 2004. Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. Environmental Pollution, 127: 21-26.
3- Aravind P., and Prasad M.N.V. 2004. Zinc protects chloroplasts and associated photochemical functions in cadmium exposed *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte. Journal of Plant Science, 166: 1321-1327.

4- Azizi M. 2000. The effect of environmental and physiological factors on growth, functional and active metabolites of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) in the field and in vitro conditions. PhD thesis, University of Tarbiat Modarres.(in Persian)
5- Behtash F., Tabatabei J., Malakuti M.J., Sarvaldin M.H. and Oustan Sh. 2010. Effect of zinc and cadmium on growth, chlorophyll content, photosynthesis and cadmium concentration in beet. Journal of Soil Science (water and soil), 24 (1): 31-41.(in Persian)
6- Chug L.K. and Sawhney S.K. 1999. Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in presence of cadmium. Plant Physiology and Biochemistry, 37: 297-303.
7- Gairola C.G., Wagner G.J. and Diana J.N. 1992. Tobacco: Cd and health. Journal of Smoking-related disorders, 3:3-6.
8- Gholizadeh A. 2004. Effects of drought stress and using of natural zeolite on physiomorphological properties of *Dracocephalum moldavica* medicinal plant. p. 27-39. Master thesis. Guilan University.(in Persian)
9- Gouia H., Ghorbal M.H. and Meyer C. 2001. Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiology, 38: 629-638.
10- Grant C.A., Buckley W.T., Bailey L.D. and Selles F. 1998. Cadmium accumulation in crops. Canadian Journal of Plant Science, 78: 1-17.
11- Kabata-Pendias A. and Pendias H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. Crc Press, Boca Raton. Florida. USA.
12- Kazemian H. 2004. Introduction to Zeolites, Magic Minerals. Paradise Publications. Tehran.(in Persion)
13- Kirakosyan A., Sirvent T.M., Giuson D.M. and Kaufman P.B. 2004. The production of hypericins and hyperforin by in vitro culture of St Johns Wort (*Hypericum perforatum* L.). Biotechnology and Applied Biochemistry, 39: 71-81.
14- Král'ová K. and Masarovičová E. 2003. *Hypericum perforatum* L. and *Chamomilla recutita* L. Rausch. Accumulators of some toxic metals. Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 58: 359-360.
15- Krupa Z. 1988. Cadmium-induced changes in the composition and structure of the light-harvesting chlorophyll a/b protein complex II in radish cotyledons. Journal of Physiology Plant, 73: 518- 524.
16- Kukier U., Peters C.A., Chaney R.L., Angle J.S. and Roseberg R.J. 2004. The effects of pH on metal accumulation in two *Allysum* species. Journal of environmental Quality, 33: 2090-2102.
17- Kummerova M., Zezulka S., Kralova K. and Masarovicova E. 2010. Effect of zinc and cadm-ium on physiological and production characteristics in *Matricaria recutita*. Biologia Plantarum, 54: 308-314.
18- Li S.L., Wang H.X. and Wu Y.S. 1990. Antagonistic effect of zinc on cadmium in water hyacinth. Acta Scientiae Circumstantiae, 10: 244-249.
19- Long X.X., Yang X.E., Ni W.Z., Ye Z.Q., He Z.L., Calvert D.V. and Stoffela J.P. 2003. Assesing zinc thresholds for phytotoxic and potential dietary toxicity in selected vegetable crops. Commun Soil Science Plant Anal, 34: 1421-1434.
20- Mackenna I.M., Chaney R.L. and Williams F.M. 1993. The effects of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. Journal of Environmental Pollution, 79: 113-120.
21- Mahmood-abadi M.K., Ronaghi A., Khayyat M. and Hadarbodi Gh. 2009. Effect of zeolite and cadmium on growth and chemical system. Australian Journal of Crop Sience, 10: 515-521.
22- Masarovičová E. and Kráľová K. 2007. Medicinal plants-past, nowadays, future. Acta Horticulturae, 749: 19- 27.
23- Masarovicova E. Kralova k. 2012. Plant-Heavy Metal Interaction: Phytoremediation, Biofortification and Nanoparticles. Comenius University public in Bratislava. Slovakia.
24- Mumpton F.A. 1996. Mineralogy and geology of natural zeolite. Department of the Art Science. University of New York, USA.
25- Nan Z., Li J., Zhang J. and Cheng G. 2002. Cadmium–zinc and their transfer in soil-crop system under actual field conditions. Science of the Total Environment, 285: 187-195.
26- Nava I., Garcia-Sosa I. and Solache-Rios M. 1995. Removal of Co and Cd by Zeolite. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 191: 83-87.
27- Piotrowska M., Dudka S. and Chlopecka A. 1994. Effect of elevated concentrations of Cd and Zn in soil on spring wheat yield and metal contents of the plants.Water Air Soil Pollution, 76: 333-341.
28- Rahimi, T. and Ronaghi, A. 2012. The effect of different sources using of zinc on cadmium concentrations and some micronutrients in spinach in a lime soil. Journal of Greenhouse Sciences and Technologies. Third year. Tenth number.(In Persian)
29- Salt D.E., Blaylock M. and Kumar N.P.B. 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic elements from the environment using plant. Biotechnology, 13: 468-474.
30- Sharma R.K., Agrawal M. and Agrawal S.B. 2008. Interactive effects of cadmium and zinc on carrots: Growth and biomass accumulation. Journal of Plant Nutrition, 31: 19-34.

31- Shute T. and Macfie S.M. 2006. Cadmium and zinc accumulation in soybean: A threat to food safety? Science Total Environment, 371: 63-73.
32- Vassilev A., Lidon C.F., Matos M.D.C., Ramalho J.C. and Yordanov I. 2002. Phytosynthetic performance and content of some nutrients in cadmium and copper treated barley plants. Journal of Plant Nutrition, 25: 2343-2360.
33- Yang X.E., Ye H.B., Long X.X., He B., He Z.L., Stoffella P.J. and Calvert D.V. 2004. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). Plant and Soil, 259: 181-189.
34- Yoo M.S. and James B.R. 2003. Zinc exchangeability as a function of pH in citric acid-amended soils. Soil Science, 168: 356-367.
35- Zarinkamar F., Ghelich S., and Soleimanpour S. 2013. Toxic Effects of Pb on Anatomy and Hypericin Content in Hypericum perforatum L., Bioremediation Journal, 17: 40–51.
36- Zornoza P., Va`zquez S., Esteban E., Ferna`ndez-Pascual M. and Carpena R. 2002. Cadmium-stress in nodulated white lupin: strategies to avoid toxicity. Plant Physiology and Biochemistry, 40: 1003–1009.

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 3, Fall 2017, P. 505-516
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 3، پاییز 1396، ص. 516-505
شاپا: 2008 - 4730

The Effect of Cadmium, Zinc and Zeolite Application on Physiomorphological Characteristics of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.)

Zh. Zandavifard[1]*- M. Azizi[2]- H. Aroiee[3]- A. Fotovvat[4]

Received: 31-08-2015
Accepted: 02-02-2016

Introduction: Among the heavy metals, cadmium, because of high mobility and bioavailability in soil and also toxicity at low concentrations is very important. Cadmium (Cd) is known as carcinogen and can induce many types of cancers. Human activities (metallic industries, contaminated fertilizer, herbicides or insecticides, irrigation with contaminated groundwater, and use of contaminated sewage sludge) are largely responsible for accumulation of different levels of Cd in soil. Saint John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) is a medicinal plant and belongs to the family Hypericaceae which its extract, one of the best-characterized herbal medicines, known as the Cd-hyperaccumulator, is widely sold for the treatment of depression. Hyperaccumulator plants are species able to accumulate high amounts of heavy metals in their tissue at concentrations of 10 to 100 times higher than tolerated by crop plants. Zinc (Zn) is an essential element occurring in several enzymes, where it plays a catalytic or structural role. Cadmium and zinc have similar electron configuration, valence state as well as affinity to S, N and O donor ligands and thus their geochemical and environmental properties are comparable. The antagonism activity between Cd and Zn in the environment and their chemical similarity can lead to interactions between Cd and Zn during plant uptake, transport from roots to shoots, or accumulation in edible tissues. Ion exchange is one of the methods used for the removal of several toxic substances. In recent years, natural amendments, such as zeolite have been widely used to address trace metals contamination. Therefore, adding zinc and zeolite to the growth medium of plant can be moderating the toxic effects of cadmium.

Materials and Methods: This pot experiment was conducted at the Experimental Field of Ferdowsi University of Mashhad (FUM) from September 2013 to June 2014. Treatments consisted of three levels of cadmium (0, 10 and 20 mg Cd kg^{-1} soil), three levels of zinc (0, 25 and 50 mg Zn kg^{-1} soil) and three levels of Zeolite (Clinoptilolite) (0, 5 and 10g zeolite kg^{-1} soil) arranged in a factorial based on Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replications. Cadmium sulfate ($CdSO_4 \cdot 4H_2O$) and zinc sulfate ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) were purchased from MERCK company. The zeolite used in this research was collected from the Semnan mine, located in South of Semnan Province. After preparing the soil, the pots (30 cm in diameter with 18 kg capacity) were filled with 18 kg soil and thoroughly mixed with appropriate amounts of cadmium, zinc and zeolite diluted in distilled water. Seeds of *H. perforatum* L. cv. "Topaz" were obtained from the FUM Research Field. After 24 hours of soaking in tap water, the seeds were sown on the surface of moistened soil in each pot and germinated after 10 days. Following germination, the seedlings (about 1.0 cm high) were thinned and only 10 seedlings in each pot were kept. At the full flowering stage, these plants were harvested after 9 months. Plant height, root length, flowering stem and flower number, leaf area, relative chlorophyll and number of black nodules was measured. Chlorophyll (Chl) content were determined by leaf area meter (Li-Cor-1300, USA) and SPAD chlorophyll meter. Data were analyzed statistically by using JMP 8 and Excel software. The differences between averages were tested by Tukey's test at $P < 0.05$.

Results and Discussion: The results showed that increasing cadmium levels lead to significant decrease of 6.28, 3.45, 2.04, 5.49, 0.82, 15.71 percents in plant height, root length, flowering stem, flower number, leaf area and relative chlorophyll, respectively compared with control. In comparison to control, the number of black nodules in leaf significantly increased by 4.23 percent. Combined application of cadmium and zinc could significantly decline the effects of cadmium on plant height and root length. Meanwhile, interaction effect of cadmium and zeolite was detected significantly on root length and number of flowers. The results of three-way interactions for root length were superior in $Zn_0Cd_0Z_{10}$ treatment. Cadmium is an inhibitor of uptake and accumulation of essential mineral nutrients, reduces conductivity of stomata andwater potential of cells and damaged photosystems; therefore, can decrease biomass production in stem, flower and root. The reduction of Chl content could lead to enzymatic degradation of these pigments or inhibition of their biosynthesis, which could be connected with Cd-induced deficiency of iron and zinc, decrease of magnesium content or cadmium bond to essential thiol groups in both the protochlorophyllide reductase protein and other enzymes involved in

1, 2 and 3- PhD Student of Medicinal Plants Physiology and Breeding, Professor and Asoociate Professor, Department of Horticulture, Ferdowsi University of Mashhad
(*- Corresponding Author Email: zh.zandavifard@yahoo.com)
4- Professor, Department of Soil Science, Ferdowsi University of Mashhad

the light dependent synthesis of 5-aminolevulinic acid. Heavy metal stress with impact on biosynthetic pathways of pharmacologically active molecules can either increase or decrease them. Changes in black nodules number, containing hypericin and other secondary metabolites in *H. perforatum* in response to heavy metals can help us understand the role of this material in stress conditions. It could be assumed that high metal accumulating ability of plants producing specific secondary metabolites in *H. perforatum* could be also connected with chelation of toxic metals with mentioned substances.

Conclusions: Our results confirmed that the addition of zeolite and zinc presumably improved plant growth, because of increased availability of essential nutrient elements such as K, Mg, Ca, NH4, and micronutrients in presence of zeolite or decreased Cd sorption and transmission in presence of zinc.

Keywords: Cd-hyperaccumulator, Cadmium sulfate, Clinoptilolite, Medicinal plants, Zinc sulfate