



بررسی اثر فلزات سنگین مختلف بر صفات فیزیولوژیک گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.)

مجید رستمی^{۱*}، رویا کرمان^۲، زهرا جولایی^۳

تاریخ پذیرش: ۲۰ خرداد ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۲۶ دی ۱۳۹۳

چکیده

افزایش غلظت فلزات سنگین نظیر سرب، مس، نیکل و سایر فلزات سنگین در آب، خاک و هوا می‌تواند به دلیل تأثیر منفی بر کل بوم نظام باعث اثرات زیانباری برای سلامت همه موجودات زنده گردد. مهم‌ترین منبع این آلودگی‌ها در بیشتر قسمت‌های دنیا معادن، پساب‌های صنعتی، کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها می‌باشند. به منظور بررسی اثر فلزات سنگین مختلف بر روی تعدادی از ویژگی‌های فیزیولوژیک زعفران همچون میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، پرولین، کروسین و کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد فلزات سنگین به صورت نمک‌های نیتрат نقره، سولفات منگنز، نیترات نیکل، نیترات روی، کربنات مس، نیترات سرب و شاهد بودند. قبل از کاشت هر یک از فلزات موردنظر با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و همچنین نسبت کلروفیل a به b معنی‌دار بود ولی اثر این تیمارها بر میزان کاروتنوئیدهای برگ زعفران معنی‌دار نبود. میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول برگ به صورت معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ولی اثر تیمارها بر میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده معنی‌دار نبود. تیمارهای آزمایشی همچنین تأثیر معنی‌داری بر میزان کروسین موجود در کلاله زعفران داشتند و در همه تیمارها به غیر از نیترات نیکل میزان کروسین کلاله از تیمار شاهد بیشتر بود.

کلمات کلیدی: پرولین، تنش‌های محیطی، کربوهیدرات‌ها، متابولیت‌های ثانویه.

مقدمه

جهان در ایران تولید می‌شود. این گیاه در یونان، ایتالیا، اسپانیا، هند، مراکش و آذربایجان نیز کشت می‌شود. این محصول در مناطقی از ایران که زمستان‌های سرد و تابستان‌های گرم دارند، رشد می‌کند (Koocheki et al., 2006). زعفران به عنوان یکی از کارآمدترین گیاهان زراعی از لحاظ مصرف آب در جهان شناخته شده است و از نظر عناصر غذایی، گیاهی کم‌توقع می‌باشد (Kafi et al., 2006).

عوامل متعددی می‌توانند صفات فیزیولوژیک و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار دهند که از جمله آن‌ها می‌توان به حضور

زعفران^۴ (*Crocus sativus* L.) گیاهی علفی و از تیره زنبق^۵ می‌باشد که جزء قدیمی‌ترین گیاهان ادویه‌ای و دارویی بشمار می‌رود (Alizadeh et al., 2009). بیش از ۹۰ درصد زعفران

۱ - استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ملایر.

۲ - استاد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه بوعلی سینا همدان.

۳ - دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه ملایر.

(majidrostami7@yahoo.com)

*- نویسنده مسئول:

4- Saffron

5- Iridaceae

اسیدآمین به عنوان یک ماده اسمزی، برای خنثی کردن اثر تنش (از جمله تنش فلزات سنگین) در گیاه تجمع می‌یابد. به این صورت که گیاه آب درون بافتی خود را در سطح بالایی نگه می‌دارد و می‌تواند اعمال حیاتی خود را انجام دهد. بدین منظور و با سنتز و انباشت ترکیبات آلی مانند انواع کربوهیدرات‌های محلول (گلوکز، فروکتوز) برخی از اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین آزاد و پتاسیم غلظت سیتوپلاسم را بالا می‌برد و از طرف دیگر، یون‌های مسموم‌کننده جذب شده از محیط را در واکوئل‌ها ذخیره کرده و محیط سیتوپلاسم را برای انجام فعالیت‌های زیستی از راه تنظیم اسمز درون سلولی آماده می‌سازد. علاوه، پرولین سه نقش مهم را به‌عنوان کلاته‌کننده فلز، مولکول دفاعی آنتی‌اکسیداتیو و مولکول پیام‌رسان در طول تنش ایفا می‌کند (Hayat et al., 2012). افزایش میزان پرولین در تنش فلزات مختلف و در گیاهان گوناگون گزارش شده است اما نتایج برخی تحقیقات کاهش میزان آن را در مراحل مختلف رشد گیاه و غلظت‌های متفاوت از فلز موردنظر نشان داده‌اند (Azmat & Khan, 2011).

افزایش میزان کربوهیدرات در گیاه نشان‌دهنده کاهش میزان آب در سلول‌ها می‌باشد و کاهش میزان آب نیز عامل مهمی در کاهش رشد گیاه بشمار می‌رود (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2011). بسیاری از فلزات سنگین فعالیت پروتئین‌های کانالی آب را در گیاهان تغییر می‌دهند، روزه‌های برگ را می‌بندند و در نتیجه جریان آب در گیاه را متوقف می‌سازند. در شرایط تنش، افزایش کربوهیدرات‌های محلول به حفظ متابولیسم پایه مطلوب کمک می‌کند (Verma & Dubey, 2001). نتایج مربوط به تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که میزان کربوهیدرات محلول و نامحلول در گیاهان رشد یافته تحت تنش فلزات سنگین، با توجه به غلظت بکار رفته از فلزات در آزمایش، می‌تواند افزایش یا کاهش یابد (Gubrelay et al.,

فلزات سنگین^۱ در خاک مزرعه اشاره کرد. فلزات سنگین از آلاینده‌های زیست‌محیطی هستند که به مقدار کم در طبیعت وجود دارند و در غلظت‌های بالا برای انسان و سایر موجودات زنده سمی می‌باشند. این فلزات ماندگاری بالایی در خاک دارند (Gallego et al., 1996). فلزات سنگین ضروری و غیرضروری، هردو، در سطح بالای سمیت می‌توانند باعث آسیب رساندن به غشا سلولی، تغییر ویژگی آنزیم، مختل کردن وظایف سلول و آسیب رساندن به ساختمان DNA شوند (Bruins et al., 2000). از معروف‌ترین فلزات سنگین می‌توان به: کادمیوم، کروم، کبالت، مس، آهن، جیوه، منگنز، مولیبدن، نیکل، سرب، تیتانیوم، روی و نقره اشاره کرد.

حضور فلزات سنگین در منطقه ریزوسفر و ورود آن‌ها به گیاه باعث کاهش رشد شده و متابولیسم سلولی را بر هم می‌زند. بنابراین بر فرایندهای مهمی مانند انتقال آب، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، فتوسنتز و مقدار کلروفیل اثر منفی می‌گذارد (Vitoria et al., 2005). اثرات مستقیم فلزات سنگین بر واکنش‌های نوری فتوسنتز شامل تأثیر بر احیا NADP و فسفریلاسیون نوری و اثرات غیرمستقیم آن بر فرآیند سنتز و تجزیه کلروفیل، تغییر در نسبت کلروفیل a به b و رقابت با سایر فلزات ضروری می‌باشد (Aggarwal et al., 2011). یافته‌های برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فلزات سنگین می‌توانند در غلظت‌های پائین سبب افزایش میزان کلروفیل a و b (John et al., 2012; Ghorbanli & Kiapour, 2008) و در غلظت‌های بالا موجب کاهش این رنگدانه‌ها شوند (John et al., 2009).

در تنش‌های گوناگون، تجمع پرولین در گیاه پاسخی در برابر القا تنش می‌باشد و تولید بالای این اسیدآمین می‌تواند سبب تحمل گیاه در مقابل تنش شود (Theriappan et al., 2011). این

($Pb(NO_3)_2$)، کربنات مس ($CuCO_3$) و سولفات منگنز ($MnSO_4$) به میزان ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم (خاک) بودند و فلزات سنگین مختلف یک هفته قبل از کاشت به خاک افزوده شد. خلاصه مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. در هر گلدان بزرگ با قطر دهانه ۴۰ سانتی متر تعداد ۱۰ عدد بانه درشت با میانگین وزن ۹ گرم، پس از ضدعفونی کردن با قارچ کش کاشته شد. وزن خاک مورد استفاده در هر گلدان ۱۸ کیلوگرم بود و بر همین مبنا نیز میزان آب مورد نیاز برای رسیدن به ظرفیت زراعی محاسبه شد. اولین آبیاری در هفته اول مهرماه انجام شد و پس از آن نیز آبیاری های بعدی به صورت هفتگی و به منظور رسیدن به ظرفیت زراعی انجام شد. به منظور جلوگیری از شسته شدن فلزات سنگین و کاهش غلظت آن ها در محیط رشد ریشه در زیر هر گلدان یک عدد زیرگلدانی قرار گرفت و در صورت خروج زه-آب با فاصله زمانی دو ساعت مجدداً محتوی زیرگلدانی ها به هر گلدان اضافه شد. در طول فصل رشد نیز صفات فیزیولوژیک مختلف مورد سنجش قرار گرفتند.

سنجش رنگیته های فتوسنتزی با استفاده از روش لیختن تالر (Lichtenthaler, 1987) انجام شد. طول موج های بکار گرفته شده برای سنجش رنگیته ها با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل JENUS UV-1200) عبارتند از:

a ۶۶۳/۲ نانومتر برای سنجش کلروفیل

b ۶۴۶/۸ نانومتر برای سنجش کلروفیل

۴۷۰ نانومتر برای سنجش کاروتنوئید و گزانتوفیل

غلظت رنگیته ها بر حسب میکروگرم در میلی لیتر عصاره

گیاهی و با روابط زیر محاسبه گردید:

$$Chl.a = (12.25A663.2 - 2.79A646.8)$$

$$Chl.b = 21.21A646.8 - 5.1A663.2$$

$$Chl.T (a + b) = 7.15A663.2 + 18.71A646.8$$

$$Car = \frac{(1000A470 - 1.8 Chl.a - 85.02 Chl.b)}{198}$$

A = طول موج جذب به دست آمده از اسپکتروفوتومتر، Chl

کلروفیل، Car = کاروتنوئید

(John et al., 2008; 2013). در گیاهان عالی، تنش های زیستی و غیر زیستی (مانند تنش فلزات سنگین) سبب سنتز و تجمع متابولیت های ثانویه مشابهی می شوند که در گیاه نقش دفاعی دارند. گیاهان در طول تکامل برای سازگاری با محیط زیست خود متابولیت های ثانویه را تولید کرده اند، زیرا آن ها باید خود را با تغییرات محیط وفق داده و در محیط زیستی که دستخوش تغییر شده است، مخصوصاً در تنش های محیطی، توانایی بقا را که یک وظیفه اکولوژیکی ضروری برای آن ها بشمار می آید، افزایش دهند (Xiong et al., 2013). تنش های زیستی و غیر زیستی مکانیسم های دفاعی گیاه را کاهش می دهند و پردازش بسیاری از کمپلکس های بیوشیمیایی را تحریک می کنند (Holopainen & Gershenzon, 2010). دفاع شیمیایی در گیاهان شامل بکار گرفتن متابولیت های ثانویه گوناگون می شود. ترکیباتی نظیر فیتوالکسین ها، مخدرها و فلاون ها از این دسته اند که برای دفاع در برابر گیاهخواران و پاتوژن ها بکار می روند (Marrs, 2011). تنش فلزات سنگین نیز با توجه به نوع فلز، غلظت فلز در محیط رشد گیاه و زمان اعمال تنش، سبب افزایش (Izbianska et al., 2014; Najafi & Jamei, 2014) و یا کاهش (Hawrylak et al., 2007) سنتز متابولیت های ثانویه مختلف در گیاهان می شود. از آنجاکه مطالعات اندکی در زمینه امکان کاشت و تولید زعفران در خاک های آلوده به فلزات سنگین وجود دارد این آزمایش با هدف بررسی تغییرات فیزیولوژیک این گیاه در شرایطی که غلظت فلزات سنگین در محیط رشد ریشه زیاد است انجام شد.

مواد و روش ها

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ملایر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل شاهد و کاربرد ۶ فلز سنگین نیترات نقره ($AgNO_3$)، نیترات نیکل ($Ni(NO_3)_2$)، نیترات روی ($Zn(NO_3)_2$)، نیترات سرب

جدول ۱- بعضی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1- Some of physicochemical properties of soil

بافت خاک	روی Zn	آهن Fe	منگنز Mn	پتاسیم K	فسفر P	نیتروژن N	ماده آلی OC	شاخص واکنش pH	هدایت الکتریکی EC
Soil texture	mg.kg ⁻¹					%			(dS.m ⁻¹)
لومی سیلتی Silt loam	1.2	3.8	9.4	217	5.3	0.14	0.68	7.8	1.4

نتایج و بحث

تأثیر فلزات سنگین بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کلروفیل a در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. میزان کلروفیل a در تمام تیمارها بیشتر از شاهد بود و به غیر از تیمار نیترات نقره، سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان دادند. بیشترین میزان کلروفیل a نیز در تیمار کاربرد سولفات منگنز مشاهده شد (شکل ۱). اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کلروفیل b نیز در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. هرچند میزان کلروفیل b در همه تیمارها بیشتر از شاهد بود ولی فقط تیمار سولفات منگنز، اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. پس از تیمار شاهد کمترین میزان کلروفیل b در تیمار کاربرد نیترات نقره مشاهده شد (شکل ۲). نتایج آزمایش نشان داد که اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کلروفیل کل در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد، کربنات مس، نیترات نیکل و نیترات نقره دیده نشد. بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به سولفات منگنز بوده و کمترین میزان آن در شاهد مشاهده شد (شکل ۳). اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر میزان کاروتنوئید برگ زعفران در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود. با این حال بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار شاهد و کمترین میزان آن در تیمار کاربرد سولفات منگنز مشاهده شد. این نتایج کاملاً بر عکس نتایج مربوط به کلروفیل کل بود. از بین تیمارهای آزمایشی مختلف فقط کاربرد سولفات منگنز تأثیر معنی‌داری (در مقایسه با تیمار شاهد) بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b داشت و کمترین

سنجش پرولین به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973)

انجام شد. جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل JENUS UV-1200 در طول موج ۵۲۰ نانومتر از نمونه‌ها گرفته شد. مقدار میکرومول پرولین در گرم وزن تر نمونه با رابطه زیر محاسبه شد:

$$proline \mu mol/g = \frac{(prolin \frac{\mu g}{ml} \times Toluens ml)}{0.5 g sample} = \frac{115.5}{0.5 g sample}$$

برای سنجش میزان کروسین توسط دستگاه HPLC از روش عبدالیو و همکاران (Abdullaev et al., 2002) استفاده گردید. بر اساس اعداد به دست آمده از نمودارهای حاصل از HPLC، مقدار نهایی کروسین بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک کلاله محاسبه شد.

برای استخراج کربوهیدرات‌های محلول از روش عصاره‌گیری الکلی استفاده شد و از عصاره حاصل جهت سنجش کربوهیدرات‌های احیاکننده و محلول استفاده شد (Patumi et al., 1990). روش بکار رفته برای سنجش کربوهیدرات‌های احیاکننده، روش نلسون (Nelson, 1944) بود. جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و در نهایت مقدار کربوهیدرات‌های احیاکننده بر اساس منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید. آنالیز داده‌ها نیز توسط نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

میزان این نسبت در این تیمار مشاهده شد (شکل ۴).

در برخی از مطالعات مختلف کاهش در میزان کلروفیل a و b تحت تنش فلزات سنگین گزارش شده است. برای مثال، کادمیم کلروفیل ها و دیگر رنگیزه های فتوسنتزی گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) را کاهش داده و این امر سبب کاهش فتوسنتز و رشد شده و علایم کمبود را به صورت کلروز در برگ های گیاه ظاهر می کند (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2011). گزارش شده که رشد گیاه تربچه (*Raphanus sativus*) در خاک هایی که دارای غلظت بالای از فلزات کادمیم و روی هستند باعث کاهش محتوای کلروفیل برگ شد (Alipour et al., 2009). از طرف دیگر کمبود فلز روی سبب آسیب به کلروفیل می شود. روی جزء اصلی آنزیم های متعددی در گیاه است (Seregin & Kozhevnikova, 2006) و بنابراین افزایش و کاهش مقدار این فلز (نسبت به حد طبیعی مورد نیاز برای گیاه) بر فتوسنتز تأثیر گذار است.

فلز مس در تعدادی از واکنش های زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی و تنفس مورد نیاز بوده و افزایش غلظت آن سبب کاهش مقدار کلروفیل a و b در گیاه آتریپلکس (*Atriplex halimus*) می شود (Brahim & Mohamed, 2011). در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea L.*) نیز با افزایش غلظت سولفات مس (صفر تا ۱۵۰۰ میکرومول) میزان کلروفیل های a و b کاهش نشان داد (Ghorbanli & Kiapour, 2012).

نتایج به دست آمده از آزمایش حاضر نشان دهنده افزایش محتوای کلروفیل (a, b و کل) برگ زعفران نسبت به شاهد در غلظت ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم از نترات روی و کربنات مس می باشد. کاهش نیافتن محتوای کلروفیل برگ زعفران را می توان به مکانیسم های دفاعی مختلف که در مقابل تنش فلزات توسط گیاه بکار گرفته می شود، نسبت داد. تحقیقات مختلف نشان داده اند که برای خنثی سازی سمیت یون روی (Zn^{+}) و

مس (Cu^{2+}) این یون ها سنتز متالوتیونین ها^۱ و فیتوکلاتین ها^۲ را در سلول های گیاهی القا می کنند (Hall, 2002). همچنین، روی به همراه برخی یون های فلزی دیگر می توانند در واکنش تجمع داده شوند (Seregin & Kozhevnikova, 2006).

غلظت ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم نترات نیکل، نیز موجب افزایش کلروفیل های برگ زعفران شد. این فلز در غلظت های بالا میزان کلروفیل تربچه (*Raphanus sativus*) را کاهش می دهد (Alipour et al., 2009). نیکل بر واکنش های نوری فتوسنتز اثر می گذارد (Seregin & Kozhevnikova, 2006). فعالیت این آنزیم ها در گیاهان گوناگون در غلظت های مختلف نیکل افزایش یا کاهش نشان می دهند. برای مثال غلظت ۰/۵ میلی مولار از فلز نیکل فعالیت برخی آنزیم های برنج (*Oryza sativa*) را افزایش می دهد (Ros et al., 1990)؛ بنابراین میزان فتوسنتز در گیاهان مختلف که تحت تنش نیکل رشد یافته اند، با توجه به غلظت این فلز می تواند افزایش یا کاهش یابد.

یون نقره در گیاه با مس و سلنیوم برهمکنش متابولیکی داشته و سبب آزاد شدن H_2 از گروه های سولفیدریل آنزیم های فتوسنتزی می شود و به این وسیله ساختمان آن ها را تغییر داده و این آنزیم ها را غیرفعال می کند (Salisbury & Ross, 1991). از طرف دیگر، نتایج برخی از آزمایش ها اثر افزایشی نقره بر میزان رنگدانه های فتوسنتزی را نشان می دهد. برای مثال، نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm میزان کلروفیل a و b را در برگ های ماش سبز (*Vigna radiata*) به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش می دهند (Najafi & Jamei 2014). در آزمایش حاضر نیز نترات نقره میزان کلروفیل a, b و کل را نسبت به شاهد افزایش داد. آزمایش بر روی توتون (*Nicotiana tabacum*) و پنبه (*Gossypium hirsutum*) نشان داد که اثر سمیت نقره بر رشد و فیزیولوژی این دو گیاه شدیداً به شکل

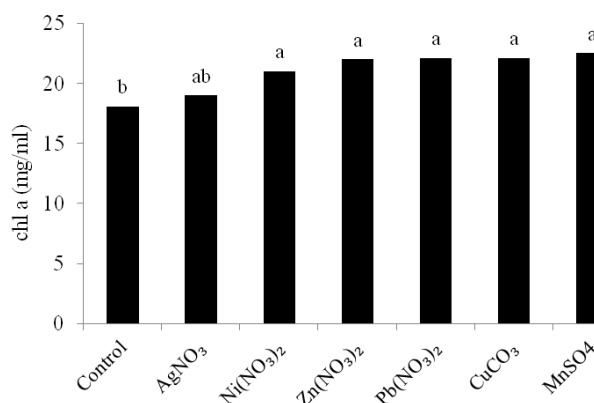
1- metallothioneins
2- phytochelatins

گزارش شده که مقدار کلروفیل عدسک (*Lemna polyrrhiza*) در غلظت‌های اندک کادمیم و سرب (۱ ppm) افزایش می‌یابد؛ اما با افزایش غلظت کادمیم و سرب و همچنین افزایش زمان قرار گرفتن در شرایط تنش میزان هر سه کلروفیل (a و b و کل) در عدسک کاهش می‌یابد (John et al., 2008). در خردل هندی (*Brassica juncea* L.) غلظت‌های صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار سرب و غلظت‌های صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ میکرومولار کادمیم، طی مدت ۴۰ روز تیمار، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل و نیز میزان کاروتنوئیدها در مرحله گلدهی را افزایش داد اما با تداوم شرایط تنش و گذشت زمان، میزان این رنگدانه‌ها کاهش یافت (John et al., 2009).

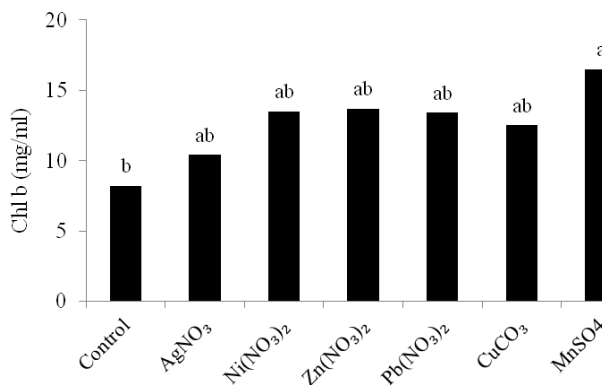
شیمیایی و غلظت نقره وابسته است (Ouzounidou & Constantinidou, 1999).

سرب از آپوپلاست به سلول گیاهی جذب می‌شود و می‌تواند در واکوئل تجمع یافته و یا بر واکنش‌های نوری فتوسنتز تأثیر گذارد (Seregin & Kozhevnikova, 2006). کاربرد نیتрат سرب با غلظت ۱۲۰ ppm باعث شد که میزان کلروفیل b در برگ‌های ماش سبز (*Vigna radiata*) نسبت به شاهد افزایش یابد (Najafi & Jamei, 2014). نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد که نیترات سرب سبب افزایش میزان کلروفیل (a، b و کل) در برگ زعفران می‌شود.

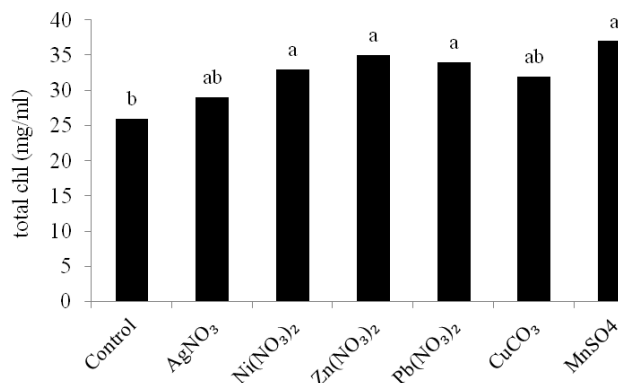
فلزات سنگین می‌توانند در غلظت‌های پائین سبب افزایش میزان کلروفیل و در غلظت‌های بالا موجب کاهش آن شوند.



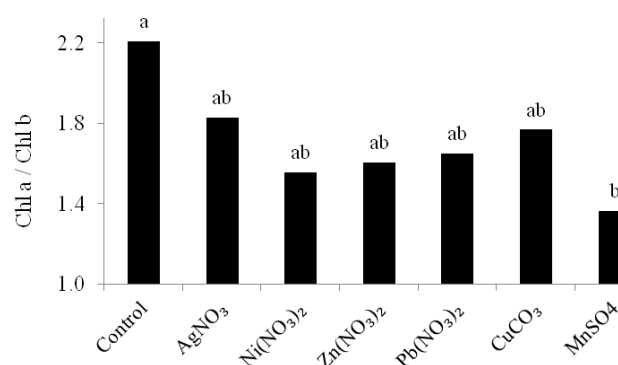
شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل a برگ زعفران
Figure 1- The effect of different treatments on Chlorophyll a content.



شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل b برگ زعفران
Figure 2- The effect of different treatments on Chlorophyll b content.



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کل کلروفیل برگ زعفران
Figure 3- The effect of different treatments on total chlorophyll content of saffron leaf.



شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف بر نسبت بین کلروفیل a و b در برگ زعفران
Figure 4- The effect of different treatments on chlorophyll a/ chlorophyll b of saffron leaf.

میکرومول) میزان کاروتنوئیدها روند افزایشی نشان داد (Ghorbanli & Kiapour, 2012).
غلظت‌های صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار سرب و صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ میکرومولار کادمیم، طی مدت ۴۰ روز تیمار، میزان کاروتنوئیدهای خردل هندی (*Brassica juncea* L.) را در مرحله گلدهی افزایش داده و با گذشت ۲۰ روز دیگر از اعمال تیمار و همچنین غلظت‌های ۹۰۰، ۱۲۰۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار سرب و غلظت‌های ۶۰۰، ۷۵۰ و ۹۰۰ میکرومولار کادمیم، طی ۶۰ روز تیمار، کاروتنوئیدها کاهش نشان می‌دهند (John et al., 2009). غلظت ۰/۵ گرم در کیلوگرم از فلزات بکار رفته در آزمایش حاضر نیز محتوای کاروتنوئید برگ زعفران را کاهش داد.

غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از فلزات به‌کار رفته در آزمایش حاضر، نسبت کلروفیل a به b را در مقایسه با شاهد کاهش داد. در گیاه چمن‌شور (*Aeluropus littoralis*) نیز غلظت ۱۰۰ میکرومولار سرب سبب کاهش نسبت کلروفیل a به b شد (Rastgoo & Alemzadeh, 2011). این نسبت در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر نیترات نقره در عدسک آبی *Spirodela polyrhiza* تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نمی‌دهد اما با افزایش غلظت از ۱ تا ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (Jiang et al., 2012). میزان کاروتنوئید در گیاهان مختلف با بالا رفتن غلظت فلز می‌تواند افزایش یا کاهش نشان دهد. در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) با افزایش غلظت سولفات مس (تا ۱۵۰۰

تأثیر فلزات سنگین بر میزان پرولین

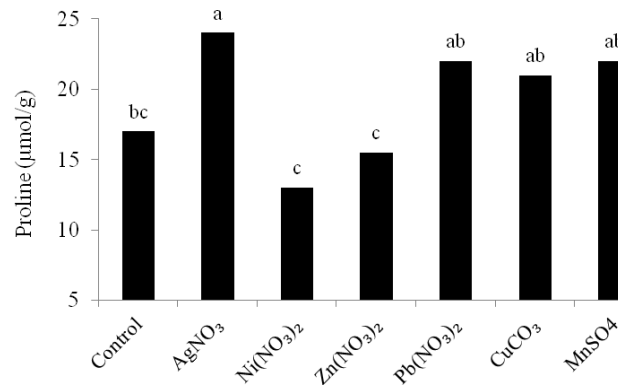
واکنش پرولین برگ زعفران به فلزات سنگین مختلف، متفاوت بود. به طوری که در غلظتی ثابت از فلزات، در برخی تیمارها افزایش و در برخی کاهش میزان این اسیدآمیننه دیده شد. تنها تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد، میان میزان پرولین تیمارهای نیترا نقره و شاهد بود. به غیر از نیترا ر روی و نیترا نیکل، سایر تیمارها نیز میزان پرولین بیشتری نسبت به شاهد داشتند اما تفاوت آن‌ها با شاهد معنی دار نبود. کمترین میزان پرولین مربوط به نیترا نیکل و بیشترین میزان آن مربوط به نیترا نقره بود (شکل ۵).

در گونه‌های گیاهی مختلف که تحت تنش فلزات سنگین قرار گرفته‌اند، تجمع اسیدآمیننه پرولین مشاهده می‌شود (Shah & Dubey, 1998). برای مثال، کادمیم سبب افزایش میزان پرولین در نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.)، (Al-Hakimi, 2007) جیوه، سرب و کادمیم سبب افزایش محتوای پرولین برگ لویبا (*Phaseolus vulgaris* L.)، (Zengin & Munzuroglu, 2005) و کبالت و کادمیم سبب افزایش تجمع این اسیدآمیننه در برگ‌های کلم (*Brassica oleracea* L.)، (Pandey & Sharma, 2002) می‌شوند. همچنین غلظت‌های ۳، ۵ و ۷ میکرومول بر لیتر نیترا ر سرب موجب افزایش میزان پرولین چغندر قند می‌شود (Naderi et al., 2013). با افزایش غلظت نیترا ر نقره از صفر به ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیز میزان پرولین در عدسک آبی (*Spirodela polyrhiza*) افزایش یافت (Jiang et al., 2012). نتایج ذکر شده با یافته‌های این تحقیق در ارتباط با افزایش پرولین برگ زعفران در تیمار نیترا ر سرب و نیترا ر نقره مطابقت دارند.

برخی پژوهش‌های انجام شده در مورد تجمع پرولین در تنش فلزات سنگین نشان داده‌اند که میزان این اسیدآمیننه در شرایط تنش، به غلظت فلز و مرحله رشد گیاه بستگی دارد و میزان پرولین با توجه به این دو عامل می‌تواند افزایش یا کاهش یابد.

به‌عنوان مثال، در مرحله گلدهی خردل هندی (*Brassica juncea* L.) با افزایش غلظت کادمیم (تا ۴۵۰ میکرومولار) میزان پرولین نیز افزایش می‌یابد اما در غلظت‌های ۷۵۰ و ۹۰۰ میکرومولار کادمیم، میزان این اسیدآمیننه کاهش پیدا می‌کند (John et al., 2009).

میزان پرولین تحت تنش فلزات سنگین به نوع گیاه نیز بستگی دارد گزارش شده که فلز مس تا حد ۰/۳ میکرومولار میزان پرولین برگ لویبا را افزایش می‌دهد (Zengin & Munzuroglu, 2005) اما میزان پرولین در گیاه ماش سبز (*Vigna radiata*) با افزایش غلظت سولفات مس تا ۲۵ ppm، کاهش می‌یابد (Azmat & Khan, 2011). کاهش میزان پرولین در ریشه و اندام‌هوایی در گیاهانی که با مس تیمار شده‌اند احتمالاً نتیجه کاهش بیوستز یا تسریع فعالیت پروتئاز یا فرآیندهای کاتابولیکی می‌باشد (Zengin & Munzuroglu, 2005). در آزمایش حاضر، کرنات مس محتوای پرولین برگ زعفران را افزایش داد. نتایج پژوهشگران دیگر نشان داده که فلز روی و نیکل موجب افزایش پرولین در گیاهچه و برگ‌های گل-کلم می‌شود (Theriappan et al., 2011; Pandey & Sharma, 2002)، اما نتایج آزمایش حاضر نشان داد که نیترا ر نیکل و نیترا ر روی پرولین برگ زعفران را کاهش می‌دهند. با توجه به اینکه یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین، انباشته کردن این فلزات در واکوئل‌ها به منظور کاهش سمیت فلزات در سلول می‌باشد، می‌توان کاهش میزان پرولین برگ زعفران در تیمارهای نیترا ر نیکل و نیترا ر روی را به این موضوع نسبت داد. از طرف دیگر، همان‌طور که در نتایج سایر تحقیقات اشاره شده است، میزان پرولین گیاهان مختلف که تحت تنش فلزات یکسان قرار گرفته‌اند، با توجه به نوع گیاه می‌تواند افزایش یا کاهش نشان دهد. مرحله رشد گیاه و غلظت فلز بکار گرفته شده در آزمایش نیز بر میزان پرولین تأثیرگذار است.



شکل ۵- اثر تیمارهای مختلف بر میزان پرولین در برگ زعفران
Figure 5- The effect of different treatments on proline content in saffron leaf.

و ۸۰۰ میکرومول کادمیم افزایش میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده را نشان می‌دهد (Soltani et al., 2006). همچنین افزایش غلظت این فلز از صفر به ۵۰ میکرومولار کاهش کربوهیدرات محلول در نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) را در پی دارد (Al-Hakimi, 2007). میزان کربوهیدرات ریشه، ساقه و برگ گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) همزمان با افزایش غلظت کلرید کادمیم (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌مولار) کاهش پیدا می‌کند (Gubrelay et al., 2013). غلظت ۰/۵ میلی‌مول بر لیتر نیکل و ۰/۱ میلی‌مول بر لیتر کادمیم سبب افزایش میزان نشاسته، کربوهیدرات‌های محلول و ساکارز در اندام هوایی برنج می‌شود (Moya et al., 1993). در آزمایش حاضر نیز کاربرد نیترات نیکل میزان کربوهیدرات‌های محلول در برگ زعفران را نسبت شاهد افزایش داد.

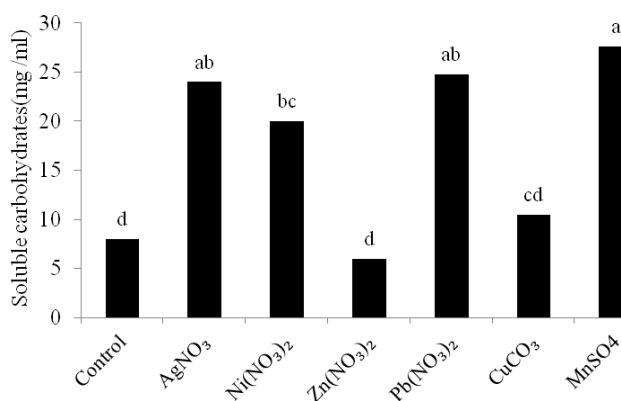
در آزمایشی اثر غلظت‌های ۱۵۰، ۲۸۰ و ۶۰۰ ppm از روی و مس به صورت جداگانه بر میزان کربوهیدرات برگ گندم نان (*Triticum aestivum* L.) مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که غلظت ۶۰۰ ppm از این فلزات سبب کاهش کربوهیدرات کل برگ می‌شود. این کاهش در تیمارهای مربوط به مس بیشتر از تیمارهای روی می‌باشد (Kumar et al., 2012).

تأثیر فلزات سنگین بر میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده و محلول

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کربوهیدرات‌های احیا کننده معنی‌دار نبود با این حال بیشترین میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار سولفات منگنز مشاهده شد ($P \leq 0.05$).

تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر میزان کربوهیدرات‌های محلول داشتند. بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در تیمار سولفات منگنز و کمترین میزان آن در نیترات روی دیده شد. تفاوت میان تیمارهای نیترات نقره، نیترات نیکل، نیترات سرب و سولفات منگنز با شاهد معنی‌دار شد (شکل ۶).

بسیاری از شرایط تنش‌زای محیطی بر متابولیسم کربوهیدرات‌های گیاهان در حال رشد اثر می‌گذارند. علاوه بر تنش فلزات سنگین، افزایش مقدار کربوهیدرات‌های احیاکننده تحت تنش شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است (Osareh & Shariat, 2009). با افزایش غلظت کلرید کادمیم از صفر به ۶۰۰ میکرومولار، کربوهیدرات‌های محلول ریشه و اندام‌های هوایی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) افزایش پیدا می‌کند (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2011). در ریشه و برگ کلزا (*Brassica napus* L.) نیز غلظت‌های ۶۰۰



شکل ۶- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ زعفران
Figure 6- The effect of different treatments on soluble carbohydrates of saffron leaf.

تأثیر فلزات سنگین بر میزان کروسین

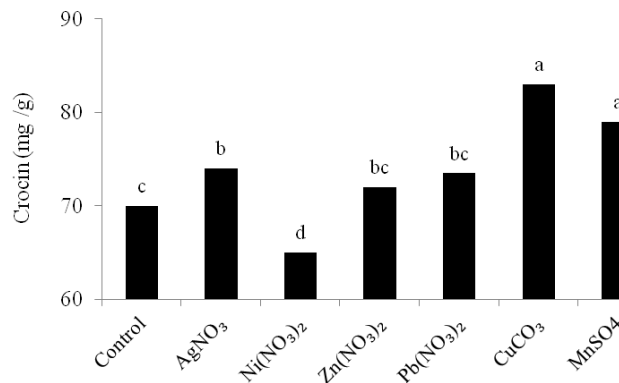
اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کروسین کلاله معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$). بیشترین میزان کروسین در تیمار کربنات مس و کمترین میزان کروسین در تیمار نیترات نیکل اندازه‌گیری شد. تیمار اخیر، تنها تیماری بود که موجب کاهش کروسین در مقایسه با شاهد شد (شکل ۸). در پاسخ به تنش‌های مختلف، میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان ممکن است افزایش یا کاهش نشان دهد.

فلزات نقره و سرب می‌توانند سبب کاهش و یا افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان شوند. برای مثال نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm و نیترات سرب با غلظت ۱۲۰ ppm میزان فلاونوئید و فنل کل را در ماش سبز (*Vigna radiata*) به ترتیب افزایش و کاهش دادند (Najafi & Jamei, 2014). در لپه‌ها و ریشه‌های لوبین زرد (*Lupinus luteus* L.) نیز غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات سرب میزان فلاونوئید را افزایش داد (Izbiańska et al., 2014). نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد که میزان کروسین کلاله زعفران در شرایط اعمال تنش نیترات سرب و نیترات نقره افزایش می‌یابد.

در آزمایش حاضر نیز با کاربرد نیترات روی میزان کربوهیدرات‌های محلول و الیگوساکاریدهای غیر احیاکننده برگ زعفران کاهش یافت. با کاربرد کربنات مس نیز میزان کربوهیدرات احیاکننده برگ زعفران کاهش و میزان کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافت.

در گیاه عدسک آبی (*Spirodela polyrhiza*) غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر نیترات نقره میزان کربوهیدرات محلول را نسبت به شاهد افزایش و غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان این کربوهیدرات‌ها را کاهش داد (Jiang et al., 2012). نتایج مشابهی نیز در این آزمایش مشاهده شد و با اعمال تیمار کاربرد نیترات نقره نیز میزان کربوهیدرات محلول برگ زعفران افزایش یافت.

با توجه به یافته‌های تحقیقات مختلف می‌توان چنین نتیجه گرفت که تغییر میزان کربوهیدرات کل در گیاهان گوناگون، به غلظت فلز مورد استفاده بستگی دارد. در آزمایش حاضر میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ زعفران (به جز تیمار نیترات روی) نسبت به شاهد افزایش و میزان کربوهیدرات‌های احیاکننده نسبت به شاهد کاهش نشان دادند.



شکل ۷- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان کروسین کلاله

Figure 7- The effect of different heavy metal treatments on crocin content of stigma.

Hawrylak et al., (2007) به طور معنی داری کاهش داد (*sativa L.*)، در آزمایش حاضر نیز نیترات نیکل میزان کروسین کلاله زعفران را کاهش داد.

نتیجه گیری

مطابق نتایج آزمایش غلظت ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم از نیترات نقره، نیترات نیکل، نیترات روی، نیترات سرب، کربنات مس و سولفات منگنز محتوای کلروفیل (a, b, کل) برگ زعفران را افزایش و نسبت کلروفیل a به b را کاهش داد اما اثری بر میزان کاروتنوئید برگ نداشت. نیترات نیکل و نیترات روی مقدار پرولین کمتری را نسبت شاهد نشان دادند. در صورتی که سایر تیمارها میزان این اسیدآمینها را در برگ افزایش دادند. میان تیمارهای آزمایش و شاهد برای میزان کربوهیدرات احیاکننده برگ تفاوت معنی داری مشاهده نشد اما همه تیمارها به غیر از نیترات روی، میزان کربوهیدراتهای محلول و الیگوساکاریدهای غیراحیا کننده را افزایش دادند. تمام تیمارها به غیر از نیترات نیکل، مقدار کروسین کلاله را نسبت به شاهد افزایش دادند؛ بنابراین می توان نتیجه گرفت که غلظت ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم از فلزات سنگین مورد بررسی در کوتاه مدت تأثیر یکسانی بر صفات فیزیولوژیک زعفران ندارد، با

همچون موارد قبل اثر فلزات روی و مس بر تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان مختلف، متفاوت است. در فلفل قرمز (*Capsicum annuum*) غلظت های ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم سولفات روی و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم سولفات مس میزان فنل و فلاونوئید را نسبت به شاهد به ترتیب کاهش و افزایش می دهند. اثر این فلزات بر میزان آنتوسیانین میوه فلفل قرمز در غلظت های مختلف، متفاوت است. به این صورت که افزایش غلظت سولفات مس از صفر به ۵ میلی گرم بر کیلوگرم میزان آنتوسیانین را افزایش می دهد اما در غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم مقدار آنتوسیانین به شدت کاهش می یابد. افزایش غلظت سولفات روی از ۱ به ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیز میزان آنتوسیانین میوه را به تدریج کاهش می دهد (*staveva- veselinovska et al., 2010*). نیترات روی و نیترات مس با غلظت ۰/۵ گرم در کیلوگرم سبب افزایش کروسین کلاله زعفران شدند.

نیکل سمیت اندکی برای بابونه (*Matricaria chamomilla L.*) نشان می دهد زیرا محتوای فنل کل در برگ تحت تیمار با این فلز (تا حد ۱۲۰ میکرومولار)، تغییری نشان نداد (Kováčik et al., 2009)؛ اما تنش این فلز (۵۰ میکرومولار) سطح آنتوسیانین را در گیاه کاهو (*Lactuca*)

این حال به نظر می‌رسد تداوم حضور فلزات در خاک و یا افزایش غلظت آن‌ها در محیط رشد ریشه می‌تواند به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم از طریق برهمکنش با سایر عوامل رشد و نمو زعفران را تحت تأثیر قرار دهد که این نکته نیاز به انجام آزمایش‌های تکمیلی به‌ویژه در ارتباط با تعیین میزان انتقال این فلزات به قسمت‌های مختلف گیاه را ضروری می‌سازد.

منابع

- Abdullaev, F.I., Caballero Ortega, H., Riveron Negrete, L., Pereda Miranda, R., Rivera Luna, R., Manuel Harnandez, J., Perez Lopez, I. and Espinosa, Aguirre. 2002. Evaluacion In Vitro Del Potencial Quimiopreventivo Del Azafran. Revista de Investigacion Clinica 54: 430-436.
- Aggarwal, A., Sharma, I., Tripathi, B.N., Munjal, A.K., Baunthiyal, M., and Sharma, V. 2011. Photosynthesis: Overviews on Recent Progress & Future Perspective. Metal Toxicity and Photosynthesis. New Delhi: IK International Publishing House.
- Al-Hakimi, A.M.A. 2007. Modification of cadmium toxicity in pea seedlings by kinetin. Plant Soil and Environment 53 (3): 129-135.
- Alipour Darvari, H., zare Mayvan, H., and Sharifi, M. 2009. Peroxidase activity in *Raphanus sativus* and its relationship to the amount of heavy metals in soil. Journal of Science (University of Tehran) 35 (1): 37-43. (In Persian).
- Alizadeh, A., Sayari J., Ahmadian, N., and Mohamadian, A. 2009. Study for zoning the most appropriate time of irrigation of saffron (*Crocus sativus*) in Khorasan Razavi, north and southern provinces. Journal of Water and Soil 23 (1): 109-118. (In Persian with English summary).
- Azmat, R., and Khan, N. 2011. Nitrogen metabolism as a bio indicator of Cu stress in *Vigna radiata*. Pakistan Journal of Botany 43 (1): 515-520.
- Bates, L.S., Waldern, R.P., and Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
- Brahim, L., and Mohamed, M. 2011. Effects of copper stress on antioxidative enzymes, chlorophyll and protein content in *Atriplex halimus*. African Journal of Biotechnology 10 (50): 10143-10148.
- Bruins, M.R., Kapil, S., and Oehme, F.W. 2000. Microbial resistance to metals in the environment. Ecotoxicology and Environmental Safety 198-207.
- Gallego, S.M., Benavides, M.P., and Tomaro, M.L. 1996. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. Plant Science 121: 151-159.
- Ghorbanli, M., and Kiapour, A. 2012. Copper-induced changes on pigments and activity of non-enzymatic and enzymatic systems in *Portulaca oleracea* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28 (2): 235-247. (In Persian).
- Gubrelay, U., Agnihotri, R.K., Singh, G., Kaur, R., and Sharma, R. 2013. Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of barley (*Hordeum vulgare* L.). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5 (22): 2743-2751.
- Hawrylak, B., Matraszek, R., and Szymanska, M. 2007. Response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. Vegetable Crops Research Bulletin 67: 63-70.
- Hayat, SH., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Shafi Wani, A., Pichtel, J. and Aqil Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments. Plant and Behavior 7 (11): 1456-1466.
- Holopainen, J.K., and Gershenzon, J. 2010. Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. Trends

- in *Plant Science* 15 (3): 176-184.
- Jiang, H.S., Li, M., Chang, F.Y., Li, W., and Yin, L.Y. 2012. Physiological AgNO₃ *Spirodela polyrrhiza*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (8): 1880-1886.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. *Plant Soil and Environment* 54 (6): 262-270.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S. 2009. Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production* 3 (3): 65-76.
- Kafi, M., Koocheki, A., Rashed, M. H., and Nassiri, M. 2006. Saffron (*Crocus sativus* L.), Production and Processing. Science Publisher.
- Koocheki, A., Ganjeali, A., and Abbassi, F. 2006. The effect of duration of incubation and photoperiod on corm and shoot characteristics of saffron plant (*Crocus sativus* L.). Proceedings of the 2nd International Symposium on Saffron Biology and Technology. Mashhad, Iran.
- Kováčik, J., Klejdus, B., and Backor, M. 2009. Phenolic metabolism of *Matricaria chamomilla* plants exposed to nickel. *Journal of Plant Physiology* 166 (13): 1460-1464.
- Kumar, V., Awasthi, G., and Chauhan, P.K. 2012. Cu and Zn tolerance and responses of the biochemical and physiochemical system of wheat. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 8 (3): 203-213.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Izbiańska, K., Arasimowicz-Jelonek, M., and Deckert, J. 2014. Phenylpropanoid pathway metabolites promote tolerance response of lupine roots to lead stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 110: 61-67.
- Marrs, K.A. 2011. The Functions and regulation of glutathione s-transferases in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 127-158.
- Moya, J.L., Ros, R., and Picazo, I. 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynthesis Research* 36: 75-80.
- Naderi, N., Mirzamasoumzadeh, B., and Aghaei, A. 2013. Effects of different levels of lead (Pb) on physiological characteristics of sugar beet. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 5 (10): 1154-1157.
- Najafi, S., and Jamei, R. 2014. Effect of silver nanoparticles and Pb(NO₃)₂ on the yield and chemical composition of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 10 (1): 316-325.
- Noorani Azad, H., and Kafilzadeh F. 2011. The effect of cadmium toxicity on growth, soluble sugars, photosynthetic pigments and some of enzymes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Iranian Journal of Biology* 24 (6): 858-867. (In Persian with English summary).
- Osareh, M.H., and Shariat, A. 2009. Salinity resistance in germination stage and growth stage in Some Eucalyptus species. *Journal Agriculture Science and Natural Resources* 15 (6): 145-157. (In Persian with English summary).
- Ouzounidou, g., and Constantinidou, H.A. 1999. Changes in growth and physiology of tobacco and cotton under Ag exposure and recovery: are they of direct or indirect nature? *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 37: 480-487.
- Pandey, N., and Sharma, C. 2002. Effect of heavy metals Co²⁺, Ni²⁺ and Cd²⁺ on growth and metabolism of

- cabbage. *Plant Science* 163: 753-758.
- Patumi, M., Fontanazza, G. Baldoni, L., Brambilla, I. 1990. Determination of some precursors of lipid biosynthesis in olive fruits during ripening. *Acta Horticulturae* 286: 199-202.
- Rastgoo, L., and Alemzadeh, A. 2011. Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. *Australian journal of crop science* 5 (4): 375-383.
- Ros, R., Cooke, D.T., Burden, R.S., and James, C.S. 1990. Effects of the herbicide MCPA, and the heavy metals, cadmium and nickel on the lipid composition, Mg²⁺-ATPase activity and fluidity of plasma membranes from Rice, *Oryza sativa* (cv. Bahia) shoots. *Journal of Experimental Botany* 41: 457-462.
- Salisbury, F.B., and Ross, C.W. 1991. Metal toxicity and resistance. In: *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Company, Belmont, CA. pp 126.
- Seregin, I.V., and Kozhevnikova, A.D. 2006. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 53 (2): 257-277.
- Shah, K., and Dubey, R.S. 1998. Effect of cadmium on proline accumulation and ribonuclease activity in rice seedlings: role of proline as a possible enzyme protectant. *Plant Biology* 40: 121-130.
- Soltani, F., Ghorbanli, M., and Manoucheri-Kalantari, Kh. 2006. Effect of cadmium on photosynthetic pigments, sugars and malondealdehyde content in (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Biology* 19 (2): 136-145. (In Persian with English summary).
- Stavreva- veselinovska, S., Zivanovic, J., and Dokic, M. 2010. Toxic influence of excessive concentrations of some heavy metals upon anthocyanins, flavonoids, and phenols in pepper (*Capsicum annuum*) as a vegetable. *nature montenegrina, Podgorica* 7 (2): 527-534.
- Theriappan, P., Gupta, A.K., and Dhasarathan, P. 2011. Accumulation of proline under salinity and heavy metal stress in cauliflower seedlings. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 15 (2): 251 – 255.
- Vitoria, A.P., Cunha, M.Da., and Azevedo, R.A. 2005. Ultra structural changes of Radish leaf exposed to cadmium. *Environmental and Experimental Botany* 58: 47-52.
- Xiong H., Duan C., Xinxiang A., and Chen M., 2013. Response of scutellarin content to heavy metals in *Erigeron breviscapus*. *International Journal of Environmental Science and Development* 4 (3): 277-281.
- Verma, S., and Dubey, R.S. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia plantarum* 44 (1): 117 – 123.
- Zengin, F K., and Munzuroglu O. 2005. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47 (2): 157-164.

Effect of Different Heavy Metals on Physiological Traits of Saffron (*Crocus sativus* L.)

Majid Rostami^{*1}, *Roya Karamian*² and *Zahra Joulaei*³

1. Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Malayer, Iran.

2. Professor, Department of Biology, Bu Ali Sina University, Iran.

3. Former M.Sc. Student of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Malayer, Iran.

(*-Corresponding Author E-mail: Majidrostami7@yahoo.com)

Received: 16 January, 2015

Accepted: 10 June, 2015

Abstract:

Increasing the concentration of different heavy metals, such as lead, copper, nickel and other heavy metals in air, soil and water can pose negative effects on the entire ecosystem and cause harmful health consequences for all forms of life. The major sources of pollution in many parts of world are overburdens of mine, industrial effluents, fertilizers and pesticides. In order to study the effects of different heavy metals on some of the physiological attributes of saffron such as photosynthetic pigments, Proline and carbohydrates of leaf and the amount of crocin in the saffron stigmas, an experiment was conducted based on completely randomized design (CRD) with four replications and seven treatments. The experimental treatments were control and six different heavy metals (i.e. nickel nitrate, silver nitrate, zinc nitrate, copper carbonate, lead nitrate and manganese sulfate). Before sowing the corms, all of the heavy metals were added to the soil based on the concentration of 500 mg.kg⁻¹ soil. The effects of experimental treatments on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and chlorophyll a/b were significant, but there was no significant effect on leaf carotenoids. Proline and soluble carbohydrates were significantly affected by the treatments. However, the effects of these treatments on reducing carbohydrates were not significant. Heavy metals also had significant effects on crocin content of the saffron stigmas. By using all of the heavy metals except for nickel nitrate, the amount of crocin increased.

Keywords: *Carbohydrates, Environmental stress, Proline, Secondary metabolites.*