فصلنامه علوم محیطی، دوره هجدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۹

۱۰۹-۱۲۴

بررسی آلایندگی ناشی از فلز سنگین کادمیوم و اثر آن بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای گیاه یونجه

کیوان آقائی[1*]، مونا بوریایی[1] و عباسعلی زمانی[2]

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[2] گروه علوم محیط زیست، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۰

آقائی، ک.، م. بوریایی و ع. زمانی. ۱۳۹۹. بررسی آلایندگی ناشی از فلز سنگین کادمیوم و اثر آن بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای گیاه یونجه. فصلنامه علوم محیطی. ۱۸(۴): ۱۰۹-۱۲۴.

سابقه و هدف: یونجه مهمترین گیاه علوفه‌ای در کشور و نیز استان زنجان است که در برخی از منطقه‌های زنجان کشت می‌شود که آلوده به فلزهای سنگین از جمله فلز سمی کادمیوم می‌باشد. استفاده از برگ‌های آلوده‌ی این گیاهان می‌تواند سلامت دام‌ها و در نهایت انسان را تهدید کند. فلزهای سنگین نیز جزء مهمترین و خطرناکترین آلاینده‌های محیط زیستی از جهت ماندگاری بالا، عدم تجزیه‌پذیری توسط میکروارگانیسم‌های خاک و دارای پتانسیل بالای جذب توسط گیاهان و ورود به زنجیره غذایی می‌باشند. کادمیوم یکی از انواع بسیار سمی فلزهای سنگین برای گیاهان است. بنابراین به‌منظور بررسی پتانسیل آلایندگی گیاهان یونجه کاشته شده در منطقه‌های آلوده به فلزهای سنگین از جمله کادمیوم در استان زنجان، تحقیقی با هدف بررسی میزان انباشت‌سازی این فلز در گیاه و اثر آن بر برخی ویژگی‌های تغذیه‌ای، رشدی و بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی آن انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: بذرهای یونجه (*Medicago sativa* L.) رقم همدانی در شرایط کشت هیدروپونیک درون گلدان‌هایی حاوی پرلیت و محیط کشت نصف غلظت هوگلند کشت گردیدند و پس از رسیدن به مرحله ۴ تا ۵ برگی به‌مدت سه هفته تحت تیمار کادمیوم نیترات با غلظت‌های، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرو مولار قرار گرفتند. سپس ویژگی‌های رشدی از قبیل طول ریشه و ساقه، وزن خشک ریشه و ساقه و نیز ویژگی‌های تغذیه‌ای از قبیل: میزان تجمع کادمیوم در اندام‌های مختلف، میزان پروتئین، میزان قندهای محلول، میزان کلروفیل‌ها و نیز ویژگی‌های بیوشیمیایی مانند میزان پرولین و میزان کاروتنوئیدها در گیاهان شاهد و تیمار مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۴ تکرار انجام شد.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه به‌عنوان سنجه‌های رشد، میزان کلروفیل a، میزان کلروفیل b و میزان پروتئین‌های محلول به‌عنوان سنجه‌های تغذیه‌ای در ریشه و اندام هوایی در گیاهان تحت تنش کاهش یافت. این کاهش از تیمار ۲۵ میکرومولار تا ۱۰۰ میکرومولار برای بیشتر ویژگی‌های بررسی شده روند صعودی داشت و بیشترین میزان کاهش در تمام موارد مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم بود. در حالیکه میزان کاروتنوئیدها، پرولین و قندهای محلول در گیاهان تیمار شده با کادمیوم افزایش نشان داد. با افزایش غلظت کادمیوم میزان تجمع این فلز در اندام هوایی و بویژه در ریشه به شدت افزایش یافت. میزان

* Corresponding Author: *Email Address*. keyvanaghaei@znu.ac.ir
http://doi.org.10.52547/envs.18.4.109

تجمع کادمیوم در ریشه بسیار بالاتر از اندام هوایی بود.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی می‌توان گفت که آلودگی ناشی از کادمیوم موجب کاهش سنجه‌های رشد و تغذیه‌ای بویژه از نظر مقدار پروتئین و رنگیزه‌های کلروفیلی در گیاهان یونجه مورد آزمایش شد. هرچند در گیاه یونجه با افزایش فاکتورهایی مانند افزایش فعالیت آنزیم پر اکسیداز و میزان پرولین و کاروتنوئیدها تا حدی از اثرهای سمی فلز کادمیوم کاسته شده است و با تجمع مقدار زیاد این فلز در ریشه تا حدی از ورود مقادیر بالای فلز در اندام‌های هوایی جلوگیری شده است اما مقادیر وارد شده به بخش هوایی به‌میزان ۱۳۰ (mg/kg DW) نیز قابل توجه بوده و از نظر محیط زیستی خطرناک محسوب می‌شود. همچنین کاهش میزان پروتئین کل به‌همراه افزایش میزان قندهای محلول و پرولین بیانگر افت ارزش تغذیه‌ای در گیاهان آلوده به کادمیوم می‌باشد. بنابراین مصرف گیاهان یونجه کاشته شده در منطقه‌های آلوده به فلز سنگین کادمیوم توسط دام‌ها توصیه نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: علوفه، فلزهای سنگین، کادمیوم نیترات، گیاه پالایی، یونجه (*Medicago sativa*).

مقدمه

یونجه با نام علمی *Medicago sativa* L. مهمترین گیاه علوفه‌ای ایران و جهان و نخستین گیاه علوفه‌ای اهلی شده توسط انسان است. موطن اصلی یونجه، ایران و جنوب غربی آسیا است که ۴۷۰ سال پیش از میلاد مسیح از ایران به یونان برده شده و از آن‌جا در تمام دنیا گسترش یافته است. یونجه به‌دلیل غنی بودن از پروتئین، کلسیم، پتاسیم، آهن و روی و نیز به‌دلیل خوش خوراک بودن و درصد کم سلولز در ردیف مهمترین گیاهان علوفه‌ای قرار گرفته است. سطح زیر کشت یونجه در جهان حدود ۳۵ میلیون هکتار است که کشور ایالات متحده با حدود یک سوم سطح زیر کشت دنیا بزرگترین تولید کننده یونجه در جهان است (Mirfakhraei and Beygzali, 2015). سطح زیر کشت یونجه در سال ۹۴ در کشور حدود ۶۰۰ هزار هکتار گزارش شده است (Khaksar, 2015). در استان زنجان نیز از ۵۱۶۸۱ هکتار زمین‌هایی که زیر کشت علوفه قرار دارند یونجه با سطح زیر کشت ۴۸ هزار هکتار بیشترین سهم را به‌خود اختصاص داده است که بخش زیادی از آن به دیگر استان‌ها صادر می‌شود (Mehr Press, 2016).

بررسی آماری بالا نشان دهنده اهمیت استراتژیک گیاه یونجه در ایران و جهان است بنابراین ورود هرگونه آلودگی به این گیاه بی‌درنگ به دام منتقل شده و از طریق زنجیره غذایی سلامتی انسان‌ها را به مخاطره می‌اندازد.

یکی از این آلاینده‌ها فلزهای سنگین هستند که در استان زنجان به‌دلیل وجود معدن‌های فلزهای سنگین سطح این آلایندگی به مراتب بالاتر است. Safari *et al.* (2016) با بررسی وضعیت پراکندگی فلزهای سنگین در منطقه‌های مختلف زنجان نشان دادند که خاک‌های منطقه‌های نزدیک شهرک‌های صنعتی، درصد بالایی از آلودگی به سه عنصر سرب، روی و کادمیوم را نشان می‌دهند. Afshari and Khademi (2017) نیز با بررسی الگوی پراکنش مکانی برخی فلزهای سنگین در زمین‌های مرکزی استان زنجان نشان دادند که غلظت‌های بالایی از عناصر سرب، روی، کادمیوم و مس در مناطق شهری، صنعتی و کشاورزی وجود دارد.

فلزهای سنگین ازجمله مهمترین و شناخته شده‌ترین آلاینده‌های محیط زیستی از جهت ماندگاری بالا، عدم تجزیه‌پذیری توسط میکروارگانیسم‌های خاک و دارای پتانسیل بالای جذب توسط گیاهان و ورود به زنجیره غذایی هستند (Kabata and Mukherjee, 2007). کادمیوم با جرم اتمی ۱۱۲/۴۱۱ هم گروه با جیوه و روی بوده و یکی از انواع بسیار سمی فلزهای سنگین است که در بیشتر گزارش‌ها، بررسی فلزهای سنگین در منطقه‌های مختلف زنجان جزء سه یا چهار عنصر اول با غلظت آلایندگی بالا اعلام شده است. بهره‌برداری از معادن فلزهای سنگین، استفاده از فاضلاب‌های صنعتی و شهری،

مصرف بی‌رویه حشره کش‌ها و استفاده زیاد از کودهای شیمیایی و بویژه کودهای فسفاته از عامل‌های آلودگی خاک به کادمیوم است. کادمیوم جزء عناصر ضروری برای گیاهان محسوب نمی‌شود و وجود هر مقدار از آن برای گیاه مضر است. این عنصر در خاک از تحرک بالایی برخوردار بوده و به‌راحتی از راه ریشه جذب می‌شود. در اثر واکنش با گروه سولفیدریل اسیدهای آمینه گوگرددار در پروتئین‌های گیاهی و آنزیم‌ها سبب ایجاد اختلال در عملکرد آنزیم‌ها شده و ایجاد مسمومیت می‌کند (Saremi rad *et al*., 2014). پیچش برگ‌ها به‌همراه کلروزه شدن و نکروزه شدن آن‌ها، قرمز و قهوه‌ای شدن حاشیه برگ‌ها، کاهش سطح برگ‌ها و به‌طور کلی کاهش رشد گیاه از جمله آثار تجمع کادمیوم در گیاهان است (Sanita di toppi and Gabbrielli, 1999). کادمیوم نیمه عمر بالایی در بدن انسان دارد (۱۰ تا ۳۰ سال) و به‌همین خاطر به‌عنوان مستعدترین فلز سنگین برای تجمع در بدن انسان معرفی شده است (Saremi rad *et al*., 2014). اگرچه بررسی تجمع کادمیوم در گیاه یونجه با هدف‌های مختلف توسط محققان دیگر نیز انجام شده است اما تا کنون تحقیق جامعی در این زمینه صورت نگرفته است. Haghi *et al*. (2011) تنها میزان جذب فلز کادمیوم توسط گیاه یونجه به‌منظور پالایش آب‌های آلوده را مورد مطالعه قرار داده‌اند. Ghobakhloo *et al*. (2018) تعیین پتانسیل حذف کادمیوم توسط گیاهان یونجه را در محیط کشت کمپوست مورد مطالعه قرار داده‌اند و Amini and Amirjani (2011) هم اثر تجمع سرب و نیکل را بر میزان کلروفیل در گیاهان یونجه مورد بررسی قرار داده‌اند. تحقیق‌های دیگری نیز به‌صورت محدود انجام شده است که بیشتر آن‌ها در همایش‌های داخلی ارائه شده‌اند. بنابراین با توجه به سطح وسیع کشت یونجه در استان زنجان و گسترش آلاینده‌های فلزهای سنگین در این استان لازم است میزان جذب عناصر فلزی سنگین در گیاهان علوفه‌ای و اثرهای فیزیولوژیکی آن در این گیاهان مورد بررسی دقیق قرار گیرد تا ابتدا میزان و حد تجمع این فلزها در اندام‌های مختلف گیاه در شرایط رشد در غلظت‌های مختلف فلز سنگین مشخص شود و سپس آثار جذب مقادیر مختلف فلز سنگین بر رشد و فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان تحت تنش مورد بررسی قرار گیرد. بررسی تجمع مهمترین عنصرهای فلزی سنگین موجود در زمین‌های کشاورزی زنجان در گیاهان علوفه‌ای مهم در یک برنامه جامع در حال انجام است و با توجه به اهمیت بسیار کادمیوم و ماندگاری زیاد آن در بافت دام‌ها و انسان در این تحقیق میزان تجمع کادمیوم در اندام‌های مختلف یونجه و اثرهای آن بر ویژگی‌هایی مانند میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول و پروتئین‌های محلول به‌عنوان سنجه‌های کیفی و تغذیه‌ای گیاه یونجه و نیز فاکتورهای فیزیولوژیکی رشد آن مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. همچنین به‌منظور کنترل دقیق شرایط آزمایش و بررسی دقیق اثر کادمیوم بر ویژگی‌های بیان شده آزمایش در شرایط گلخانه‌ای و با استفاده از محیط کشت هیدروپونیک انجام شد چون در شرایط طبیعی امکان حذف اثرهای دیگر عامل‌ها وجود ندارد.

مواد و روش‌ها

بذر یونجه رقم همدانی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد و سپس با سدیم هیپوکلریت ۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی گردید. در هر گلدان پلاستیکی (ارتفاع ۱۳/۵ وقطر ۱۶ سانتی متر) از پرلیت‌های اتوکلاو شده به ارتفاع ۱۲ سانتی متر ریخته شد و ۲۰ عدد بذر با فاصله‌های یک سانتی‌متری قرار داده شد و روی بذرها نیم سانتی‌متر پرلیت ریخته شد و گلدان‌های شفاف حاوی گیاه درون گلدان‌های غیر شفاف یکبار مصرف به‌عنوان زیر گلدانی قرار داده شدند. زیر گلدانی‌ها با ۴۰۰ میلی لیتر محیط هوگلند با نصف غلظت آبیاری شدند و به اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه منتقل

گردیدند. دما در دوره‌های نور و تاریکی به‌ترتیب ۲۵ و۲۲ سانتی‌گراد بود. گلدان‌ها در این شرایط به مدت حدود سه هفته تارسیدن به مرحله‌ی ۴ تا ۵ برگی که برای شروع تیمار دهی مناسب می‌باشد نگهداری شدند.

تیمار فلز سنگین کادمیوم

گیاهان جهت اعمال تیمار در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و۱۰۰ میکرومولار از فلز کادمیوم به‌صورت $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ در محلول هوگلند با یک دوم غلظت با pH ۶/۵ با همان شرایط نوری و دمایی رشد اولیه در اتاق رشد کشت شدند. برای جلوگیری از افزایش غلظت نیترات در محیط کشت، در هنگام تهیه محیط کشت هوگلند به جای استفاده از KNO_3 از KCl و به جای استفاده از $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ از $CaCl_2$ در محلول هوگلند با غلظت مولار مساوی استفاده گردید. برای جلوگیری از تجمع کادمیوم در سطح پرلیت به‌دلیل تبخیر سطحی محیط کشت مایع، محیط کشت حاوی کادمیوم به‌میزان ۴۰۰ میلی لیتر برای هر گلدان به درون زیر گلدانی‌ها ریخته شد. هر روز محلول‌ها بررسی و کمبود محلول‌های تیمار زیر گلدانی‌ها با آب مقطر جایگزین می‌گردید. تیماردهی دو هفته به‌طول انجامید. هر تیمار دارای چهارتکرار بود و هر گلدان در نهایت دارای ۱۲ بوته گیاه یونجه بود.

اندازه‌گیری میزان تجمع کادمیوم

به نمونه‌های خشک پودر شده، اسید نیتریک غلیظ اضافه شد و به مدت ۱۲ ساعت محلول استراحت داده شد و درمرحله‌ی بعد ۳-۴ ساعت در بن ماری در دمای ۹۰ سانتی‌گراد حرارت داده شد، سپس به عصاره‌ها H_2O_2 اضافه شد تا محلول شفافی به‌دست آید و پس از آن عصاره با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف گردید. در نهایت محلول‌ها را با استفاده از آب مقطر به حجم مورد نظر رسیدند. اندازه‌گیری غلظت عناصر در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله (Varian 240) انجام گرفت (Javis *et al*., 1996).

اندازه‌گیری فاکتورهای رشد

وزن خشک ریشه و اندام هوایی

وزن خشک ریشه و اندام هوایی کل گیاهان با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، پس از جداسازی ریشه و اندام هوایی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ سانتی‌گراد خشک شدند.

طول ریشه و ساقه

برای اندازه‌گیری طول ساقه، سه بوته از گلدان خارج شد و ابتدا ریشه و ساقه از هم جدا شدند سپس به‌وسیله خط کش طول آن‌ها اندازه‌گیری و برحسب سانتی‌متر گزارش شد و متوسط طول ریشه و ساقه برای هر گیاه محاسبه شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای کیفی تغذیه‌ای

مقدار پروتئین‌های محلول

اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های محلول به روش Bradford (1976) انجام شد. به ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ی پروتئینی ۲/۵ میلی لیتر معرف برادفورد اضافه گردید و پس از مخلوط شدن، جذب محلول در دستگاه اسپکتروفتومتر (Fullerton, CA Beckman,) در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

مقدار پرولین

مقدار پرولین با استفاده از معرف نین هیدرین و براساس روش Bates *et al*. (1973) مورد اندازه گیری قرار گرفت. در این روش از معرف نین هیدرین و اسید استیک گلاسیال برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید.

مقدار قندهای محلول

محتوای قند محلول نمونه‌ها با استفاده ازمعرف آنترون و براساس روش Roe (1955) تعیین گردید. ۰/۱ گرم بافت تر برگ و ریشه در ۲/۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد سائیده و در دمای ۹۵ سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ دقیقه قرارگرفت تا کربوهیدارت‌ها استخراج شوند. عصاره حاصل

صاف شد و سسپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل شده در ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. ۲۰۰ میکرولیتر از هرنمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد و ۵ میلی لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به‌مدت ۱۷ دقیقه در بن ماری ۹۰ سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ۶۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه قند از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد و نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر ارائه گردید.

مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی

اندازه‌گیری کلروفیل‌های *a*، *b* و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Arnon (1967) انجام شد. ۰/۱ گرم بافت تازه در ۸ میلی لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد. جذب محلول حاصل به‌طور جداگانه در اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها خوانده شد. غلظت رنگیزه‌ها (mg/g. FW) براساس روابط زیر محاسبه شد.

$$\text{Chlorophyll a: } (19.3A_{663}\text{-}0.86A_{645})V/1000W$$

$$\text{Chlorophyll b: } (19.3A_{645}\text{-}3.6A_{663})V/1000W$$

$$\text{Carotenoids} = 100(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/227$$

A: جذب در طول موج بیان شده در اسپکتروفتومتر، V: حجم عصاره استخراج شده، W: وزن تر بافت مورد استفاده برای استخراج عصاره

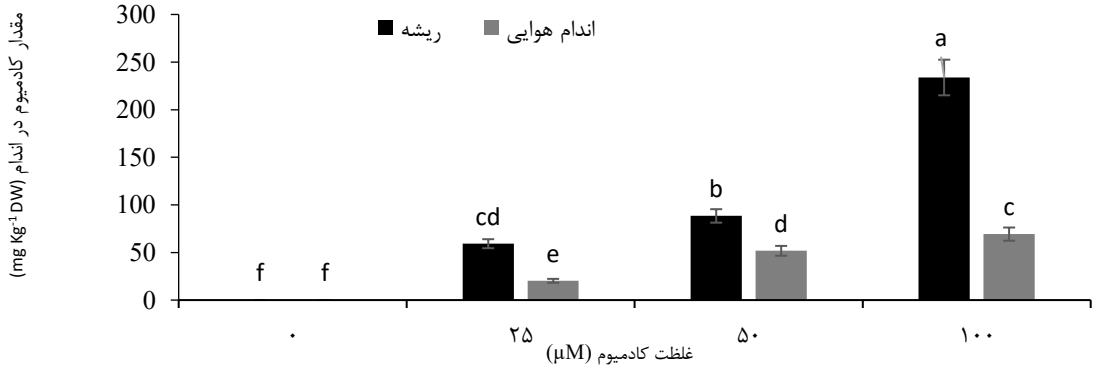
تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی، با ۴ تکرار اجرا گردید، تیمارها شامل تنش کادمیوم در ۴ سطح بودند. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مرحله‌های مختلف این تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و تجزیه واریانس یک طرفه آنوا در سطح پنج درصد بررسی شد. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون دانکن استفاده شد و نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

بررسی میزان تجمع کادمیوم در اندام هوایی و ریشه

با افزایش غلظت کادمیوم میزان تجمع این فلز در اندام هوایی و بویژه در ریشه گیاهان یونجه تیمار شده به‌میزان چشم‌گیری افزایش یافت (شکل۱). غلظت کادمیوم در ریشه افزایش بسیار زیادی داشته است به گونه‌ای که در تیمار ۱۰۰ میکرومولار میزان آن به ۲۳۳ (mg/kg DW) رسیده است. بیشترین میزان تجمع کادمیوم در اندام هوایی به میزان ۱۳۰ (mg/kg DW) مربوط به تیمار۱۰۰ میکرومولار کادمیوم بود.



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان تجمع این فلز در ریشه و اندام هوایی گیاه یونجه. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین ها براساس آزمون دانکن است

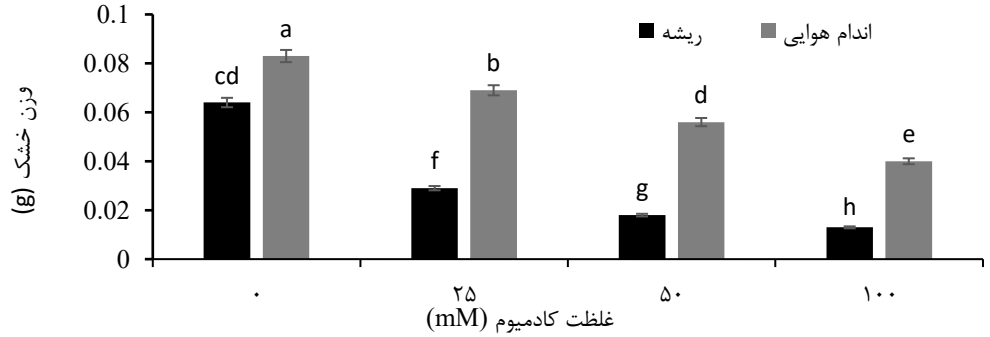
Fig. 1- Effect of different concentrations of cadmium on its accumulation in root and shoot of alfalfa. Different letters indicate significant differences among means based on the Duncan test

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کادمیوم در ریشه و اندام‌های هوایی انباشته می‌شود و بخش زیادی از این عنصر در ریشه‌ها تجمع می‌یابند. گزارش شده است که محل اولیه تجمع کادمیوم ریشه بوده و مقداری از آن به برگ‌ها منتقل می‌شود (Salt *et al.*,1995). انباشتگی کادمیوم در ریشه یکی از ساز و کارهای تحمل برخی گونه‌ها محسوب می‌شود. در این گیاهان بخش زیادی از کادمیوم جذب شده متصل به دیواره باقی می‌ماند و یا در واکوئل‌های ریشه ذخیره می شود (Marschner, 1995). Qin *et al.* (2009) مشاهده کردند که در غلظت‌های بین ۰/۱ تا ۵ میکرومولار کادمیوم در محلول غذایی (کشت هیدروپونیک) ، افزایش غلظت کادمیوم در اندام هوایی و ریشه دو رقم برنج مشاهده شد. همچنین افزایش غلظت کادمیوم در اندام هوایی ذرت (Taji and Golchin, 2011 ;Perriguey *et al.*, 2008) و ریشه و اندام هوایی دو رقم جو (Tiryakioglu *et al.*, 2006)، در اثر کاربرد سطوح مختلف کادمیوم گزارش شده است. نتایج این پژوهش نشان دهنده تجمع بیشتر کادمیوم در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی است. بسیاری از فلزهای سنگین پس از ورود به گیاه در سلول‌های ریشه نگه داشته می‌شوند. این فلزها در سلول‌های ریشه با تشکیل کمپلکس با آمینو اسیدها، اسیدهای آلی یا پپتیدهای متصل شونده به فلز ویا کده بندی در واکوئل سم‌زدایی می‌شوند. این راهکارها انتقال فلز به اندام هوایی را به‌میزان زیادی مهار می‌کند. بنابراین بافت‌های برگ و به‌ویژه عملکرد متابولیکی فتوسنتز از آسیب فلز سنگین محافظت می‌شود (Salt *et al.*, 1995).

تجمع کادمیوم به‌میزان زیاد در ریشه‌ها می‌تواند یک نکته مثبت تلقی شود چون این امر، چه‌بسا مانعی برای انتقال بیشتر آن‌ها به اندام‌های هوایی و بخش‌هایی از گیاه باشد که استفاده غذایی و علوفه‌ای دارد اما همچنانکه در نتایج این تحقیق مشاهده شد میزان ورود کادمیوم به بخش‌های هوایی نیز زیاد و قابل توجه می‌باشد به‌طوریکه مصرف بخش‌های هوایی گیاهان روئیده در منطقه‌های آلوده به کادمیوم توسط دام‌ها توصیه نمی‌شود.

اثر کادمیوم بر وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی

داده‌های حاصل از تاثیر فلز سنگین کادمیوم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاه مورد آزمایش، نشان داد که تنش سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک نسبت به گیاه شاهد شد. مطابق شکل ۲ وزن خشک ریشه به میزان قابل توجهی با افزایش تنش کاهش یافته است، به گونه‌ای که کمترین میانگین وزن خشک ریشه به‌میزان ۰/۰۱۲ گرم مربوط به تیمار۱۰۰ میلی مولار کادمیوم بود. وزن خشک ریشه در تیمار ۱۰۰ میکرو مولار ۵/۶۶ برابر نسبت به شاهد، کاهش داشته است. وزن خشک اندام هوایی نیز به‌میزان قابل توجهی با افزایش غلظت کادمیوم، کاهش یافته است. کمترین میانگین وزن خشک اندام هوایی به‌میزان ۰/۰۴۱ گرم مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم است. وزن خشک اندام هوایی در تیمار ۱۰۰ میکرومولار ۴۹/۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته است.

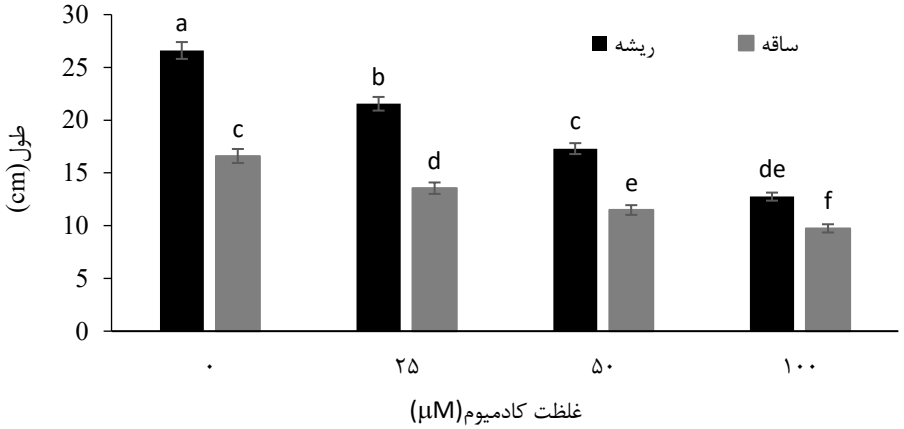


شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه یونجه. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها براساس آزمون دانکن است

Fig. 2- Effect of different concentrations of cadmium on root and shoot's dry weight of alfalfa. Different letters indicate significant differences among means based on the Duncan test

بررسی طول ریشه و ساقه

با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت، طول ریشه و ساقه کاهش یافتند. کمترین میانگین طول ساقه به‌میزان ۹/۷ سانتی‌متر مربوط به تیمار۱۰۰ میکرومولار کادمیوم اندازه‌گیری شد. گیاه در تیمار ۱۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد ۱/۷۱ برابر در طول ساقه‌اش کاهش داشته است. کمترین میانگین طول ریشه نیز به‌میزان ۱۲/۷۵ سانتی‌متر مربوط به تیمار۱۰۰ میکرومولار کادمیوم بوده که نسبت به شاهد ۲/۰۴ برابر کاهش داشته است (شکل۳).



شکل۳- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر طول ریشه و ساقه گیاه یونجه. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها براساس آزمون دانکن است

Fig. 3- Effect of different concentrations of cadmium on root and shoot length of alfalfa. Different letters indicate significant differences among means based on the Duncan test

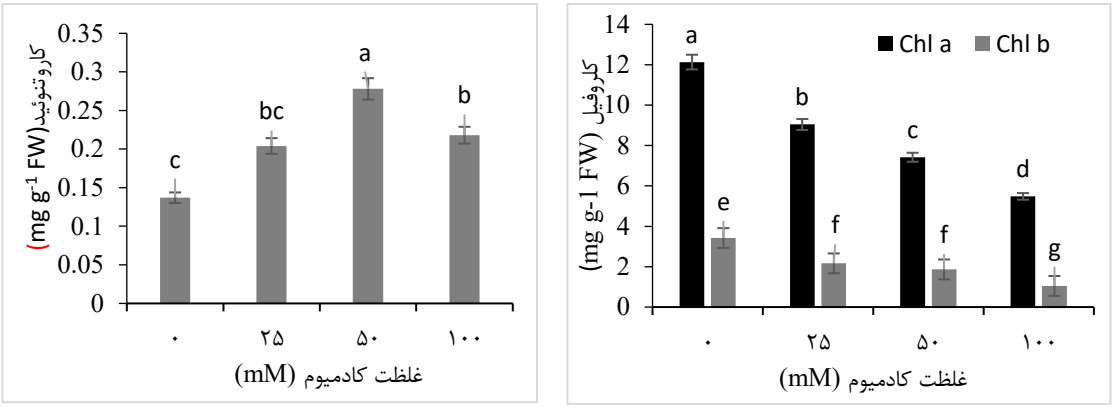
کادمیوم با اختلال در فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن در گیاهان منجر به کاهش رشد می‌شود که به‌دنبال آن توده‌ی زنده نیز کاهش می‌یابد. مطابق نتایج این تحقیق تجمع کادمیوم سبب کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی و نیز طول این اندام‌ها در گیاه یونجه گردیده است. در تحقیقی که روی گیاهان لوبیا انجام شد دلیل کاهش وزن ریشه و اندام هوایی تحت تنش کادمیوم به ایجاد اختلال در جذب عناصر غذایی و آب توسط کادمیوم نسبت داده شد (Gouia *et al.*, 2001). Wu *et al.* (2007) نیز با مطالعه روی گیاه جو مشاهده کردند که افزایش سطح کادمیوم سبب کاهش معنی‌داری در ارتفاع و وزن تر گیاه شد. در تحقیق دیگری نیز که روی گیاه جو انجام شده است، مشخص شد که افزایش سطح کادمیوم از صفر تا ۱۲۰ میکرومولار در محلول غذایی سبب کاهش وزن ریشه و اندام هوایی دو رقم جو شد (Tiryakioglu *et al.*, 2006). همچنین در تحقیق دیگری مشخص شده است که با افزایش سطح کادمیوم از صفر تا ۲۵۰ میکرومولار، وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه ذرت کاهش می‌یابد (Taji and Golchin, 2011).

در بین فلزهای سنگین، کادمیوم یکی از سمی‌ترین عناصر برای اندام‌های زنده است که نقش زیستی ندارد. کادمیوم یک عنصر غیرضروری بوده که دوام بیولوژیکی بالایی دارد و سبب کاهش رشد و لوله‌ای شدن برگ‌ها، کلروز و کاهش رشد ریشه و اندام هوایی می‌شود (Smeets *et al.*, 2005). به نظر می رسد افزایش پراکسید هیدروژن در گیاهان تحت تنش فلزهای سنگین، با تحریک واکنش Haber-Weiss و تولید OH^-، سبب پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب‌های غشایی می‌شوند که در نهایت منجر به کاهش رشد گیاه نیز می‌گردد (Mittler, 2002). کاهش فاکتورهای رشدی در گیاهان تحت تنش کادمیوم را می‌توان به بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش فعالیت برخی آنزیم‌ها و در نتیجه کاهش فتوسنتز و و مهار جذب مواد مغذی در گیاهان تحت تنش نسبت داد (Wahid *et al.*, 2008). افزون بر این مشخص شده است که کادمیوم سبب

کاهش رشد ریشه شده (Chen *et al*., 2003) که در نتیجه میزان جذب آب و مواد معدنی کاهش می‌یابد و در نتیجه به‌دلیل کاهش فرآیندهای رشدی و بیوسنتزی، رشد گیاه کاهش می‌یابد.

بررسی میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی

میزان کلروفیل*a* با افزایش غلظت کادمیوم، کاهش یافته است، به گونه‌ای که کمترین میانگین کلروفیل*a* به میزان ۵/۴ (mg/g F.W) مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرو مولار است که نسبت به شاهد ۲/۲۴ برابر کاهش داشته است. میزان کلروفیل*b* در بالاترین غلظت کادمیوم نسبت به شاهد ۳/۲۷ برابر کاهش داشته است. اما میزان رنگیزه‌های کاروتنوئیدی با افزایش غلظت کادمیوم، افزایش نشان داده است. بیشترین میزان کاروتنوئیدها (۰/۲۷۸ mg/g F.W) مربوط به تیمار ۵۰ میکرومولار بوده که این مقدار اگرچه در تیمار ۱۰۰ میکرومولار اندکی کاهش نشان می‌دهد اما هم‌چنان نسبت به تیمار شاهد افزایش را نشان می‌دهد (شکل ۴).



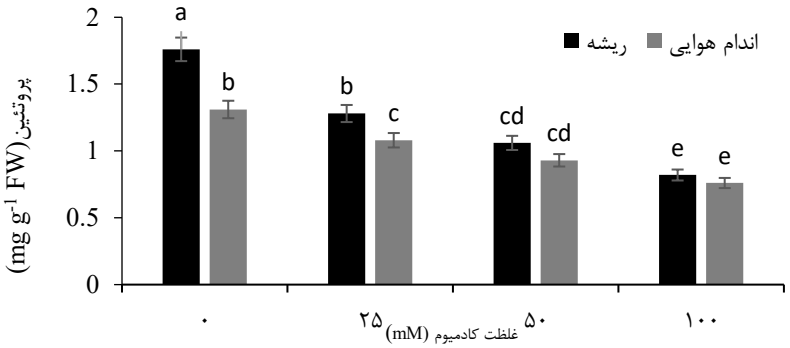
شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان کلروفیل *a* و *b* (A) و کاروتنوئیدها (B) در گیاه یونجه. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها براساس آزمون دانکن است

Fig. 4- Effect of different concentrations of cadmium on chlorophyll *a* and *b* (A) and carotenoids (B) in alfalfa. Different letters indicate significant differences among means based on the Duncan test

کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی موجب کاهش میزان فتوسنتز و در نتیجه کاهش تولید قندها و به تبع آن میزان پروتئین‌ها و دیگر ترکیب‌های مفید گیاهی و به‌طور کلی موجب کاهش کیفیت تغذیه‌ای گیاهان خواهد شد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر فلزهای سنگین از جمله کادمیوم می‌تواند به‌دلیل آسیب‌های اکسیداتیو باشد. همچنین این کاهش را می‌توان به بازدارندگی مرحله‌های مختلف سنتز کلروفیل و یا فعال شدن آنزیم کلروفیلاز نیز مربوط دانست (Hegedus *et al*., 2001). فلزهای سنگین با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین‌های کمپلکس LHCII در سطح رونویسی تشکیل این کمپلکس را مختل می‌نمایند (Tziveleka *et al*., 1999). کاروتنوئیدها به‌عنوان یکی از مولکول‌های دخیل در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی نقش حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو دارند به‌همین دلیل در جریان مواجهه با تنش فلزهای سنگین افزایش می‌یابند. این رنگیزه‌ها در سمیت زدایی کلروفیل نقش دارند و سبب کاهش اثرهای سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Sanitata di toppi and Gabbriella, 1999). در این پژوهش، کاهش کلروفیل‌ها سبب کاهش فتوسنتز و رشد شده و علایم کمبود به‌صورت کلروز برگ‌ها به‌روشنی قابل مشاهده بود. به‌نظر می‌رسد سمیت ناشی از کادمیوم و تولید انواع مختلف اکسیژن واکنش‌گر (ROS)[1] سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی شده است. همچنین ممکن است افزایش مقدار کادمیوم در محیط رشد جذب عناصر غذایی لازم برای ساخته شدن و تولید کلروفیل را محدود کرده باشند و درنتیجه زرد شدن برگ‌ها با افزایش میزان فلز مشاهده شده است (Dubey, 1997).

بررسی میزان پروتئین‌های محلول

میزان پروتئین یونجه یکی ازسنجه‌های مهم کیفیت غذایی آن محسوب می‌شود. همان‌طور که در شکل۵ نشان داده شده است تنش ناشی از تجمع کادمیوم سبب کاهش میزان پروتئین‌های محلول در ریشه و اندام هوایی شده است. کمترین میانگین پروتئین اندام هوایی به‌میزان ۰/۷ (mg/g F.W) مربوط به تیمار۱۰۰ میکرومولار کادمیوم است که نسبت به شاهد ۱/۸۴ برابر کاهش داشته است. محتوای پروتئین‌های محلول ریشه نیز به‌تدریج با افزایش غلظت کامیوم کاهش یافته است که کمترین میزان آن در تیمار ۱۰۰ میکرومولار مشاهده می‌شود.



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان پروتئین‌های محلول ریشه و اندام هوایی گیاه یونجه. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها براساس آزمون دانکن است

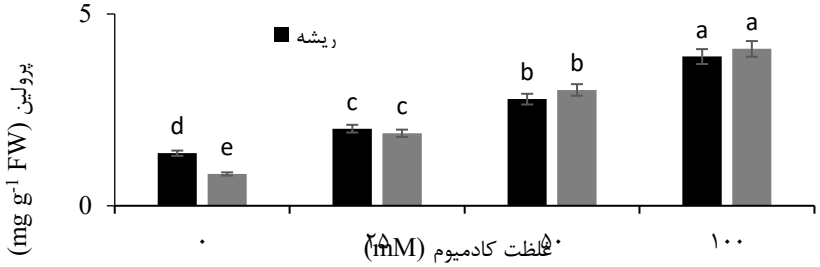
Fig. 5- Effect of different concentrations of cadmium on soluble proteins of root and shoot in alfalfa. Different letters indicate significant differences among means based on the Duncan test

گزارش شده است که فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن در طول تنش فلزهای سنگین سبب آسیب‌های اکسیداتیو در مولکول‌های زیستی از جمله پروتئین‌ها و لیپیدها می‌شود (Molassiotis *et al.*, 2005). فلزهای سنگین از جمله کادمیوم در برخی از گونه‌های گیاهی سبب فعال‌تر شدن آنزیم پروتئاز و افزایش تجزیه پروتئین‌ها می‌شوند (Kabir *et al.*, 2008). در مطالعه روی گیاه *Brassicea jounica* مشخص شد که میزان پروتئین‌های محلول با افزایش غلظت کادمیوم کاهش می‌یابد (John *et al.*, 2009).

چنین کاهشی در میزان پروتئین‌های محلول تحت تنش فلز سنگین کادمیوم در گیاه شبدر نیز گزارش شده است. براساس تحلیل بیان شده در این تحقیق، فلزهای سنگین از جمله کادمیوم، سرب و نیکل براحتی توسط گیاهان جذب می‌شوند و به‌وسیله کاهش فعالیت آنزیمی، سطح پروتئین و تخریب مواد مغذی به گیاه آسیب می‌رسانند (Benavides *et al* ., 2005).

بررسی میزان پرولین

میزان پرولین اندام هوایی و ریشه با افزایش غلظت کادمیوم، افزایش یافت، به گونه‌ای که بیشترین میانگین در بخش هوایی به‌میزان ۴/۰۹ (mg/g F.W) و در ریشه به‌میزان ۳/۸۹ (mg/g F.W) مربوط به تیمار۱۰۰ میکرو مولار کادمیوم بود که نسبت به شاهد در ساقه ۴/۹۸ برابر و در ریشه ۲/۸۶ افزایش داشته است (شکل ۶).



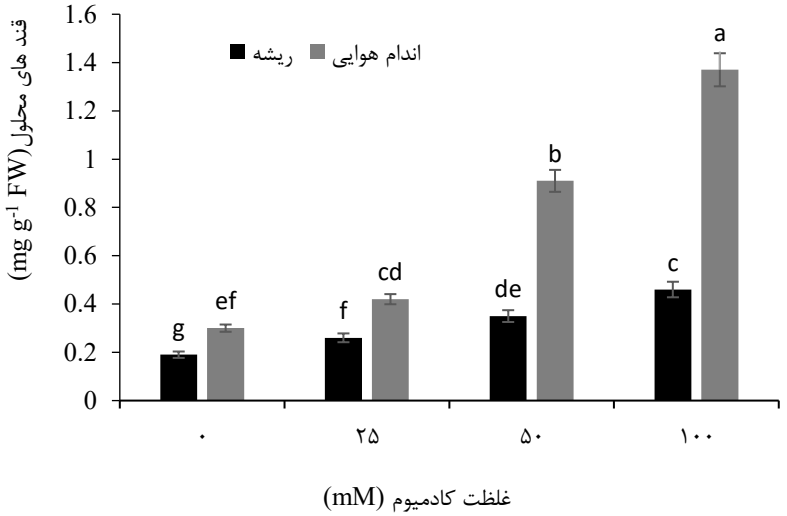
شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان پرولین ریشه و اندام هوایی گیاه یونجه. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها براساس آزمون دانکن است

Fig. 6- Effect of different concentrations of cadmium on proline content of root and shoot in alfalfa. Different letters indicate significant differences among mea

زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های غیرزیستی قرار می‌گیرند، میزان پرولین آن‌ها افزایش می‌یابد تا ساختارهای سلولی و آنزیمی را در برابر فاکتورهای تنش‌زا حفاظت نماید. گزارش شده است که پرولین در غلظت‌های زیاد در بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های غیرزنده همانند فلزهای سنگین، شوری، خشکی، سرما، کمبود مواد غذایی، عفونت‌های عامل بیماری و اسیدتیه بالا تجمع می‌یابد (Yadav, 2010). پرولین ضمن آن‌که به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان تحت تنش نقش ایفا می‌کند می‌تواند به-عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی عمل کرده و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها خطر رادیکال‌های آزاد را کاهش داده و سبب حفظ تمامیت غشاها گردد (Alia *et al*., 2001). برخی از محققان تشکیل کمپلکس غیر سمی پرولین - کادمیوم در جهت سمیت-زدایی از تجمع کادمیوم را دلیلی بر تجمع پرولین در تنش ناشی از کادمیوم می‌دانند (Sharma *et al*., 1998). تنش فلزهای سنگین از جمله کادمیوم منجر به کاهش فعالیت سیستم انتقال الکترون و در نتیجه انباشته شدن NADH می‌گردد. بنابراین به‌نظر می‌رسد که سنتز پرولین از مسیر گلوتامیک اسید که سبب کاهش تجمع NADH در شرایط تنشی می‌شود در ایجاد سازش گیاهان تحت تنش کادمیوم نقش داشته باشد (Mattioli *et al*., 2009). البته با توجه به کاهش میزان پروتئین‌های محلول در گیاهان مورد مطالعه احتمالا یکی از منابع افزایش میزان پرولین به‌عنوان یکی از انواع اسیدهای آمینه، تجزیه پروتئین‌های محلول گیاهان یونجه در شرایط تنش است که موجب کاهش کیفیت تغذیه‌ای آن می‌شود.

بررسی میزان قندهای محلول

مطابق شکل ۷، افزایش غلظت کادمیوم سبب افزایش قابل توجه در میزان قندهای محلول ریشه و اندام هوایی در گیاه یونجه شده است. بیشترین افزایش قندهای محلول در ریشه مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرو مولار کادمیوم و کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد است. میزان افزایش قندهای محلول در تیمار ۱۰۰ میکرو مولار ۲/۵۵ برابر نسبت به میزان آن در تیمار شاهد است. میزان قندهای محلول در اندام هوایی نیز با افزایش غلظت کادمیوم، افزایش یافته است، به گونه‌ای که بیشترین میانگین به‌میزان ۱/۳۷ (mg/g F.W) مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار بوده است که نسبت به شاهد ۴/۵۶ برابر افزایش داشته است.



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان قندهای محلول ریشه و اندام هوایی گیاه یونجه. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها براساس آزمون دانکن است

Fig. 7- Effect of different concentrations of cadmium on soluble sugar content in root and shoot of alfalfa. Different letters indicate significant differences among means based on the Duncan test

در نگاه اول شاید به‌نظر برسد که چون تحت تیمار فلز سنگین کادمیوم میزان قندهای محلول افزایش یافته پس کیفیت غذایی یونجه نیز افزایش یافته است. اما واقعیت آن است که تحت چنین شرایطی و با توجه به کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی میزان فتوسنتز کاهش یافته و در نتیجه میزان قند تولید شده در گیاه نیز کاهش خواهد یافت. بنابراین منشأ افزایش قندهای محلول در این شرایط تجزیه ذخیره‌های هیدروکربنی نامحلول مانند نشاسته و سلولز است که این کار در جهت مقابله با تنش اسمزی ایجاد شده در این شرایط تنشی می‌باشد و بنابراین با کاهش میزان نشاسته، سلولز و الیاف گیاه، کیفیت غذایی آن چه از نظر ذخیره‌های قندی و چه از نظر الیاف به‌شدت افت می‌کند. افزایش قندهای محلول در ریشه و اندام هوایی گیاهان در شرایط تنش‌زای مختلف دیگر از جمله شوری، خشکی و سرما نیز گزارش شده است (Dubey, 1997). بسیاری از فلزهای سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب را در گیاه دستخوش تغییرات اساسی می‌کنند. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها به‌دنبال تجمع کادمیوم در سلول‌ها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است (Zhang and Tyerman, 1999). افزون براین افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (Verma and Dubey, 2001).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی گیاهان یونجه مورد مطالعه در شرایط تنش ناشی از فلز سنگین کادمیوم کاهش رشد شدیدی را نشان دادند که با کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی و نیز طول آن‌ها و نیز کاهش رنگیزه‌های کلروفیلی و میزان پروتئین‌های محلول همراه بود. کاهش سنجه‌هایی مانند میزان پروتئین‌های محلول و نیز میزان کلروفیل‌ها به‌همراه افزایش قندهای محلول و پرولین در کنار تجمع زیاد فلز سمی کادمیوم در اندام‌های هوایی مورد استفاده دام‌ها نشان دهنده کاهش شدید ارزش تغذیه‌ای در گیاهان آلوده به کادمیوم است. هرچند که این گیاهان در جهت مقابله با این تنش مجبور به افزایش میزان رنگیزه‌های کاروتنوئیدی و پرولین به‌عنوان آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی و نیز افزایش قندهای محلول به‌عنوان سازگار دهنده اسمزی شدند. میزان تجمع کادمیوم اگرچه در ریشه بسیار بیشتر از اندام هوایی بود اما با توجه به انتقال مقدار قابل توجهی از کادمیوم به بخش هوایی می‌توان نتیجه گرفت که گیاهان یونجه مورد مطالعه نتوانسته‌اند از ورود مقادیر بالای این عنصر فلزی سمی به برگ‌ها و ساقه‌های خود جلوگیری کرده و بنابراین درصد بالایی از آلودگی به فلز را نشان دادند که در نتیجه در صورت مصرف این گیاهان توسط دام‌ها فلزهای سمی وارد بدن آن‌ها و در نتیجه انسان خواهد شد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از حوزه معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه زنجان که حمایت مالی و اجرایی این پژوهش را برعهده داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند. هم‌چنین از سرکار خانم مهندس لیلا مغانلو به جهت کمک در اندازه گیری برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی قدردانی می‌شود.

پی‌نوشت

[1] ROS: Reactive oxygen species

منابع

Al-Hassabi, M., 2011. The role of NGOs and local leaders in rural development (case study: Laft port). Rural Housing and Environment Quarterly. 134(1), 115-89. (In Persian with English abstract).

Azadnia, M., Zahedi, S., Majedin, A. and Pourabedi, M., 2017. The model of search engine project impacts on sustainable development. Roshd-e-Fanavari. 13(52), 15-23. (In Persian with English abstract).

Baghmalek News Station, 2016. Baghmalek tourism landscapes. Available online at: http://orbeh-news.ir/?p=7767.

Caruana, R., Glozer, S., Crane, A. and McCabe, S., 2014. Tourists' accounts of responsible tourism. Annals of Tourism Research. 46, 115-129.

Coelho, H.M.G., Lange, L.C. and Coelho, L.M.G., 2012. Proposal of an environmental performance index to assess solid waste treatment technologies. Waste management. 32(7), 1473-1481.

Cook, D., Saviolidis, N.M., Davíðsdóttir, B., Jóhannsdóttir, L. and Ólafsson, S., 2017. Measuring countries environmental sustainability performance. The development of a nation-specific indicator set. Ecological Indicators. 74, 463-478.

Faghfour Maghrebi, H., 2009. Environment ethics principles from Islam's viewpoint. Medical Ethics Quarterly. 3(8), 11-44. (In Persian with English abstract).

Fatehnia, A., 2011. Investigation separation of origin situation of urban solid waste and solutions for increasing public participation in Tehran municipality. M.Sc. thesis. University of Tehran, Iran. (In Persian with English abstract).

George, D. and Mallery, P., 2003. SPSS for Windows Step by Step*:* A Simple Guide and Reference 11.0 Update, Fourth ed. Allyn & Bacon, Boston, Massachusetts.

Ghaderi, N., Choopani, S., Salehi, S. and Khoshfar, G., 2015. Investigating social factors influencing environmental behavior in Marivan township in 2013. Zankoo Medical Science Journal. 16(48), 10-18. (In Persian with English abstract).

Gölgeci, I., Gligor, D.M., Tatoglu, E. and Arda, O.A., 2019. A relational view of environmental performance: What role do environmental collaboration and cross-functional alignment play? Journal of Business Research. 96, 35-46.

Haghparast, F. and Dashtgerd, S., 2016. Conservation of environment and recycle management of construction waste. In Proceedings First International Conference of Iranian Natural Hazards and Environmental Crises, Strategies and Challenges, 23rd September, Ardabil, Iran. p.508. (In Persian with English abstract).

Jafari Samimi, A. and Ahmadpour, M., 2011. The Relationship between Environmental Performance Index (EPI) and economic growth in developed countries. Journal of Iranian Energy Economic. 1(1), 55-72. (In Persian with English abstract).

Jamini, D., Arianpour, A., Jamshidi, A., Hoseini, A. and Alizadeh, J., 2012. Evaluation and measurement of environmental sustainability of tourism development in rural areas (case study: villages of Shaho region in Ravansar town). In Proceedings First National Conference of Conservation and Planning of Environment, 3rd March, Hamedan, Iran. p.98. (In Persian with English abstract).

Jekria, N. and Daud, S., 2016. Environmental concern and recycling behavior. Procedia Economics and Finance. 35, 667-673.

Karimi, F. and Ahmadvand, M., 2014. Status assessment and prioritization of indicators for sustainable development in rural areas (The case of central district of Boyer-Ahmad County). Rural Research Quarterly. 5(3), 663-690. (In Persian with English abstract).

Karimpour, M. and Madhoushi, M., 2012. Use of agricultural waste in wood composites, suitable solutions for natural resources conservation and decreasing environmental pollutions. In Proceedings 6th National and First International Conference on Waste Management, Organization of Municipalities and County Councils, 21st March, Mashhad. p. 157. (In Persian with English abstract).

Khosrobeigi, R., Shayan, H., Qeidari, S. and Sadeghlu, T., 2011. Assessment and evaluation of sustainability in rural areas: using TOPSIS- FUZZY multi-criteria decision-making technique. Journal of Rural Research. 2(5), 151-185. (In Persian with English abstract).

Kiani, A., 2012. The necessity of forming agricultural waste management industries in the villages to promote economic growth in rural areas. In Proceedings 6th National and First International Conference on Waste Management, Organization of Municipalities and County Councils, 21st March, Mashhad, Iran. p. 124. (In Persian with English abstract).

Lachiani, D., Yazdani, A., Gugunani, E. and Javadi, M., 2009. A new experience in rural waste management (case study of 72 villages of Fereidounshahr, Isfahan). In Proceedings 12th National Conference on Environmental Health, 3rd-5th November, Tehran, Iran. p. 57 (In Persian with English abstract).

Maleki, S. and Saeidi, J., 2016. Investigating environment dimensions and situation of urban environment in Iran development programs. Quarterly of Urban Management Studies. 8(28), 69-89. (In Persian with English abstract).

Mashhadi, A., 2016. Government and environment: from non-government approaches to participatory approaches. Government Research Quarterly. 2(8), 59-80. (In Persian with English abstract).

Mohammadi Rouzbehani, M., Hajinajaf, A. and Daghagheleh, A., 2012. Investigating environmental sustainability index and environment performance index and comparative stud of Iran ranking index using numerical taxonomy. In Proceedings First National Conference of Geography, Environment Hazards and Sustainable Development, 21th March, Ahvaz, Iran. p. 433. (In Persian with English abstract).

Mohammadian, M. and Khataei, A., 2011. Relationship between psychological, social factors and consumer green behavior (environment friendly). Business Management. 3(7), 143-160. (In Persian with English abstract).

Mohammadlou, M., 2013. The role of nongovernmental organizations (NGOs) in protecting the environment and natural resources. In Proceedings First National Tourism Conference on Agriculture and Sustainable Natural Resources, 10th January, Tehran, Iran. p. 94. (In Persian with English abstract).

Morshedi, L. and Farajolah Hoseini, J., 2010. Role of agricultural extension and education in agricultural water management. In Proceeding of First National Conference on Agricultural Waste and Sewage Management, 7th December, Tehran, Iran. (In Persian with English abstract).

Motiei langroudi, H. and Azmi, A., 2011. Review on environment problems in Iranian villages and solutions for solving these problems. Journal of Housing and Rural Environment. 30(133), 101-115. (In Persian with English abstract).

Motiei langroudi, H., Rezvani, M., Faraji Sabokbar, H. and Khajeh Shokuhi, A., 2010. Analysis of sustainability of family and rural production cooperative farming systems (case Study: Agh-Ghala Township: Golestan Province). Iranian Agricultural Economic and Development Journal. 2-41(3), 323-333. (In Persian with English abstract).

Nabavimehr, H., Ghasemian, A., Saraeian, A.R. and Aryaee Monfared, M.H., 2016. The environmental importance of paper recycling. In proceedings of First National Conference on Wood and Lignocellulosic Products, 7th March, Gorgan, Iran. p. 124. (In Persian with English abstract).

Naeimi, A. Rezaei, R. and Moosapour, S.K., 2018. Analysis of environmental constructs influencing enviornment concervation behavior of villagers in Baghmalek township of Khuzestan province. Iranian Agricultural Extension and Education Journal. 14(1), 1-22. (In Persian with English abstract).

Nagendran, R., 2011. Agricultural waste and pollution. In: Letcher, T.M. and Vallero, D.A. (Eds.), Waste: A handbook for management. Academic Press, India, pp. 341-355.

Namdar, R., Pezeshki Rad, G. and Sadighi, H., 2017. Use grounded theory in study of farmers' environmental behavior: an explanatory analysis. Journal of Iranian Agricultural Economic and Development. 48-2(4), 597-609. (In Persian with English abstract).

Nourpour, A., Afrasiabi, H. and Davoudi, M., 2013. Investigation of waste process in world and Iran. Report No. 207. Center of Studies and Planning of Tehran City, IT Management and Attribute Center Press. Tehran, Iran. (In Persian with English abstract).

Roknedin Eftekhari, G. and Aghayari Hir, M., 2005. Leveling of rural development sustainability case study of Hir region. Geoghraphical Research. 61, 31-44. (In Persian with English abstract).

Sajjadi, J., Afrasiabi, M.S., Tavakolinia, J. and Yousefi, H., 2018. Analysis of global environmental indices by urban sustainable development approach. Human Geography Research Quarterly. 50(4), 907-927. (In Persian with English abstract).

Sharafi, L. and Alibeigi, A., 2015. Assessment pattern of rural environmental sustainability case: Shervineh village in Javanroud county. Quarterly of Space Economic and Rural Development. 2(12), 115-132. (In Persian with English abstract).

Salehi Omran, A. and Aghamohammadi, A., 2008. Investigation environmental knowledge, attitude and skills of elementary education teachers in Mazandaran province. Quarterly Journal of Education. 24(3), 91-117. (In Persian with English abstract).

Salehi, S. and Pazouki nejad, Z., 2014. Analyzing social factors influencing environmental attitude and performance of students. Applied Sociology Journal. 24(3), 71-88. (In Persian with English abstract).

Shabanzadeh, E. and Moradi, D., 2014. Dividing wet and dry waste and compacting waste at source. In Proceedings First Electronic Conference of Modern Findings in Environment and Agricultural Ecosystem, 22nd November, Tehran, Iran. p. 456. (In Persian with English abstract).

Seydaei, A., Hoseini, S. and Yazdanbakhsh, B., 2018. Assessment of environmental sustainability of Esfahan city emphasizing on air pollution. Geography and Environmental Planning. 29(1), 113-126. (In Persian with English abstract).

Environmental Sciences Vol.18 / No.4 / Winter 2021

109-124

Study of cadmium contamination and its effects on some physiological and nutritional characteristics of alfalfa plants

Keyvan Aghaei[1*], Mona Bouriayi[1] and Abbasali Zamani[2]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Zanjan, Zanjan, Iran

[2] Department of Ecological Sciences, Faculty of Sciences, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Accepted: 2020.03.10

Aghaei, K., Bouriayi, M. and Zamani, A., 2021. Study of cadmium contamination and its effects on some physiological and nutritional characteristics of alfalfa plants. Environmental Sciences. 18(4): 109-124.

Introduction: Alfalfa is the most important forage plant in Iran including Zanjan Province, in which it is cultivated in soils contaminated by heavy metals like cadmium (Cd). Infected leaves of these plants can threaten the health of animals and ultimately humans. Heavy metals are among the most important and dangerous ecological contaminants because of their long maintenance and their resistance against decomposition by microorganisms and a high potential for being assimilated by plants then entering in the human food chain. Cadmium is one of the most poisonous heavy metals for plants. Therefore, in order to analysis the contamination potential of alfalfa plants, which are planted in heavy metals contaminated fields in Zanjan Province, a research project was performed to evaluate the rate of accumulation of Cd in alfalfa plants and its effects on some growth, nutritional biochemical, and physiological traits.

Material and methods: Seeds of alfalfa (*Medicago sativa* L.) Hamedani cultivar, were cultured in pots containing perlite and half concentrations of Hoagland's medium in a hydroponic condition. After three weeks, plantlets with enough growth were subjected to 0 (control), 25, 50, and 100 μM concentrations of cadmium nitrate treatments. Then, the growth indices such as root and shoot length, root and shoot dry weight, and nutritional traits like Cd concentration, soluble proteins and sugars, and chlorophylls contents at different parts of plants and proline and carotenoid contents as biochemical factors were measured. This experiment was carried out based on randomized complete block design with four replications in a greenhouse condition.

Results and discussion: Results showed that shoot and root length and dry weight, the contents of chlorophylls *a* and *b*, and soluble proteins in treated plants were decreased at all Cd treatments. This decrease had an upward

[*] Corresponding Author: *Email* Address. keyvanaghaei@znu.ac.ir
http://doi.org.10.52547/envs.18.4.109

trend from 25 to 100 µM Cd treatment for most of the measured traits. The maximum decrease for all measured traits was observed at 100 µM Cd treatment. However, the contents of carotenoids, proline, and soluble sugars were increased in Cd treated plants. The accumulated amount of Cd in roots of treated plants was much higher than that of shoots.

Conclusion: Generally, it can be concluded that contamination of alfalfa plants by Cd may lead to severe decrease of its growth and nutritional indices, especially its protein and chlorophyll contents. Although the negative effects of Cd have been relatively moderated in treated plants by increasing of proline and carotenoids contents, the considerable amounts of Cd have been penetrated from root to shoot, which is ecologically very harmful. Also, a decrease in total soluble proteins along with an increase in soluble sugars and proline content showed a considerable decrease in nutritional indices of Cd contaminated alfalfa plants. Therefore, consuming alfalfa plants cultivated in Cd contaminated fields by livestock animals is not advised.

Keywords: Alfalfa (*Medicago sativa*), Cadmium nitrate, Forage plants, Heavy metals, Phytoremediation.