مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات مرتع و بیابان ایران
جلد ۲۹ شماره ۱، صفحه ۲۳-۱۱، (۱۴۰۱)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrdr.2022.125999
شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350875.1401.29.1.2.3

بررسی اثر فلز سنگین کادمیوم بر خصوصیات فیتوشیمیایی گونه مرتعی شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

فیروزه مقیمی‌نژاد[۱]، علی طویلی[۲*]، محمد جعفری[۳]، انوشیروان شیروانی[۴] محمد علی زارع چاهوکی [۵] و یاسر قاسمی آریان[۶]

۱- دانش‌آموخته دکترای مرتع‌داری، گروه احیاء مناطق خشک و کوهستانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه احیاء مناطق خشک و کوهستانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، پست الکترونیک:atavili@ut.ac.ir

۳- استاد، گروه احیاء مناطق خشک و کوهستانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴- دانشیار، گروه جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۵- استاد، گروه احیاء مناطق خشک و کوهستانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۶-استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات بیابان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۱۶

چکیده

اگرچه در مورد اثر آلودگی بر خصوصیات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی که به‌صورت زراعی کاشته می‌شوند مطالعات متعددی انجام شده اما این مهم در ارتباط با گونه‌های مرتعی، باوجود اهمیت آنها در زمینه ایجاد تنوع معیشتی برای بهره‌بردران مرتعی، بسیار محدود بوده است. در همین راستا، این تحقیق با هدف بررسی اثر فلز سنگین کادمیوم بر خصوصیات فیتوشیمیایی شیرین‌بیان، در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمار کادمیوم در ۶ غلظت (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ (ppm)) و ۴ تکرار به صورت کشت گلدانی (در مجموع ۲۴ گلدان) اجرا شد. پس از تهیه بستر کاشت و اسپری کردن محلول نمک نیترات کادمیوم با غلظت‌های ذکرشده به خاک، ریزوم‌های شیرین‌بیان داخل گلدان‌ها کشت و به‌مدت ۷ ماه در گلخانه تحت مراقبت و آبیاری قرار گرفتند. در نهایت نمونه‌های گیاهی (در دو بخش اندام‌های هوایی و زیرزمینی) تهیه‌شده برای اندازه‌گیری خصوصیات فیتوشیمیایی به آزمایشگاه منتقل شدند. متغیرهای اندازه‌گیری در اندام زیرزمینی شامل میزان گلیسیریزیک اسید، گلابریدین، لیکوریتجنین و در اندام هوایی فلاونوئیدهای روتین و کتچین بود. عصاره‌گیری با روش اولتراسونیک و اندازه‌گیری با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) انجام شد. نتایج مقایسه میانگین کادمیوم در غلظت‌های تحت بررسی نشان داد که افزایش غلظت این عنصر در خاک اثر معنی‌داری بر میزان گلیسریزیک اسید، گلابریدین و لیکوریتجنین در اندام زیرزمینی و فلاونوئیدهای روتین و کتچین در اندام هوایی گیاه شیرین‌بیان داشته است. در همین راستا، بیشترین تأثیر افزایشی را گلیسریزیک اسید و لیکوریتجنین در غلظت ۱۰ (ppm) به‌ترتیب با ۷۰/۱۲ و ۵۶/۴۴ درصد و گلابریدین در غلظت ۲۰ (ppm) با ۵۱/۷۰ درصد نسبت به شاهد نشان داده است. نتایج همچنین نشان داد که میزان مواد مؤثره در اندام زیرزمینی گیاه شیرین‌بیان تحت تیمار کادمیوم در ابتدا افزایش یافته و در ادامه با بالا رفتن غلظت کادمیوم کاهش داشته‌است.

واژه‌های کلیدی: فلز سنگین، کادمیوم، عناصر غذایی پرمصرف، شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.).

مقدمه

آلودگی خاک به فلزات سنگین یکی از مشکلات مهم محیط‌زیست محسوب می‌شود. زیرا تجمع این فلزات در زنجیره غذایی، خطرات بسیار زیادی برای جانداران بوجود می‌آورد (Alloway, 1990). این در حالی است که در سال های اخیر استفاده از داروهای گیاهی به‌طور چشمگیری در سراسر جهان افزایش یافته‌است. در همین راستا، سلامت، امنیت و کیفیت مواد خام گیاهان دارویی و محصولات فراوری‌شده آنها به یک نگرانی عمده سازمان‌های جهانی تبدیل شده‌است. غلظت فلزات سنگین در گیاهان دارویی به محیط رشد آنها، نوع گونه گیاهی، شرایط خشک کردن، ذخیره‌سازی، حمل و نقل و فراوری آنها بستگی دارد. مفهوم تنش فلزات سنگین را، حساسیت به غلظت‌های بالای فلزات که سبب صدمه به گیاه یا مرگ آن می‌شود، تعریف می‌کنند (Kafi *et al* ., 2006; Aebi, 1984). فلزات سنگین گروهی از عناصر هستند که جرم حجمی بالاتر از $6 gcm^{-3}$ دارند. برخی از این فلزات ریزمغذی‌های ضروری برای رشد گیاه هستند که در واکنش‌های اکسایش-کاهش، انتقال الکترون و سایر فرایندهای متابولیک مهم گیاه نقش دارند. این فلزات در غلظت بالا برای گیاه سمیت ایجاد می‌کنند (Michalak, 2006). ورود این آلاینده‌ها به محیط از طریق فعالیت‌های شهری، عملیات کشاورزی و صنعتی است (Clemens, 2001). فلزات سنگین فرایندهای فیزیولوژیک مانند تنفس، فتوسنتز، طویل شدن سلول، روابط آبی گیاه، متابولیسم نیتروژن و تغذیه معدنی گیاه را مهار می کنند (Zornoza *et al*., 2002). همچنین آلودگی عناصر سنگین ممکن است ترکیبات شیمیایی گیاهان را تغییر دهد، بنابراین این عناصر کیفیت و اثر فراورده‌های طبیعی گیاه را که توسط گیاهان دارویی تولید می‌شوند، به‌طور جدی تحت تاثیر قرار می‌دهند. گیاهان تحت تیمار عناصر سنگین پاسخ‌های متفاوتی در سنتز و تجمع مولکول‌های فعال دارویی نشان می‌دهند (Tabrizi & kochaki, 2014). در بین فلزات سنگین، کادمیوم از مهمترین آلاینده‌هایی است که با ورود به زنجیره‌غذایی و تجمع در بدن انسان باعث بروز مشکلات زیادی می‌شود. زیرا طبق مطالعات Norani Azad و Kafilzade (۲۰۱۱) این فلز به راحتی به وسیله ریشه گیاه جذب می‌شود و سمیت آن تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است. ازجمله شواهد بدست آمده ناشی از اثرهای کادمیوم که می‌توان به آن اشاره کرد، بیماری ایتای ایتای در ژاپن است (Sato *et al*., 2010). بروز سردرد، تهوع، برونشیت، نفریت (Pais & Jones, 1997)، مشکلات کلیوی، عصبی و سرطان (Alloway, 1990) از دیگر عوارضی است که در اثر سمیت کادمیوم بوجود می‌آید. از تغییرات حاصل از یون کادمیوم جذب شده توسط گیاه می‌توان به کلروز، نکروزه شدن برگ‌ها، کاهش بیومس ریشه و ساقه و همچنین کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی اشاره کرد (Dinaker *et al*., 2008). نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که تأثیر فلزات سنگین بر گیاهان، به نوع و غلظت این فلزات، گونه گیاهی و شرایط محیط رشد گیاه بستگی دارد (Zheljazkov *et al*., 2008). البته، موارد گوناگونی از آلودگی به فلزات سنگین در گیاهان دارویی و قابلیت بالای این گیاهان در جذب و انتقال فلزات سنگین به بخش‌های قابل استفاده به وسیله محققان مختلف گزارش شده است (Zheljazkov *et al*., 2006; Zheljazkov *et al*., 2008; Baye & Hymete, 2010; Gjorgieva *et al*., 2010; Chaiyarat *et al*., 2010; Prasad *et al*., 2011; Ebrahim *et al*., 2012; 2011). Palizban و همکاران (۲۰۱۶)، با بررسی میزان آلودگی سرب و کادمیوم در گیاهان کلزا و گلرنگ در مزارع اطراف کارخانه ذوب آهن اصفهان و مقایسه این آلودگی با روغن استخراج شده از آنها نشان دادند که بیشترین مقدار سرب در روغن گلرنگ تهیه شده با روش سنتی به مقدار ۲۴/۷۴ میکروگرم برگرم به‌دست آمد. Prasad و همکاران (۲۰۱۰) اثر سطوح مختلف فلزات سنگین کروم و سرب (صفر، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) را بر تجمع این فلزات و اسانس بدست آمده در سه گونه نعناع *Mentha Piperita* ، *Mentha arvensis* و *Mentha Citrata* بررسی کردند. عملکرد اسانس *Mentha arvensis* تحت تأثیر سطوح

کروم و سرب کاهش معنی‌داری داشت. Murch و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی تأثیر آلودگی نیکل بر میزان رشد و ترکیب متابولیت ثانویه گیاه دارویی *Hypericum perforatum* L نشان دادند در حضور نیکل توانایی تولید و تجمع هایپر فورین به‌طور کامل از دست رفته و تا ۱۵–۲۰ برابر از غلظت هایپرسین و پسودوهایپرسین کاسته می شود. Siddiqui و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیقی دیگر، تجمع آرسنیک را در سه گونه *Ocimum* (*O. basilicum* ، *O. tenuiflorum* و *O. gratissimum*) بررسی کردند. درصد اسانس و درصد ترکیبات غالب اسانس در سطوح پایین به‌ویژه در سطح ۲۵ میکرومولار افزایش بارزی داشت. Okem و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی آلودگی فلزات سنگین در ۱۱ گونه از گیاه دارویی آفریقای جنوبی، نشان دادند که تغییرات در مقدار فنول‌ها و فلاونوئیدها در نمونه‌های ارزیابی شده در برخی از نمونه‌های گیاهی احتمالا ممکن است به دلیل برداشت از مکان‌های مختلف یا در زمان‌های مختلف سال باشد. Hosseinpour و Afshari (۲۰۱۵) در بررسی سطوح مختلف کادمیوم بر برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه *Ocimum basilicum* L. در شرایط شوری نشان دادند که عملکرد اسانس، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در شرایط کاربرد کادمیوم کاهش می‌یابد. بررسی تأثیر فلزات سنگین بر گیاهان مرتعی، مانند گونه گیاهی شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) که با توجه به ارزش دارویی و علوفه‌ای و پراکنش وسیع آن، از طریق تغذیه انسان و دام وارد زنجیره غذایی می‌شود و از اهمیت خاصی برخوردار است. شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)، گیاهی چند ساله از خانواده بقولات، بومی ایران (Toghi, 2018; Malek Mohammadi & Maleki & Akhani, 2018 Mirzaavash, 2012;) و از مهمترین گیاهان دارویی و صنعتی است که مواد مؤثره آن به شکل‌های مختلفی مورد استفاده قرار گرفته است (Ahmadi Hosseini *et al.*, 2014) و به‌دلیل دارا بودن این مواد در ریشه و ریزوم آن در دنیا حائز اهمیت است، به‌طوری‌که مورد توجه صنایع دارویی، غذایی و حتی دخانیات قرار گرفته‌است (Irani *et al.*, 2010; Amani *et al.*, 2005). ریشه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) دارای ترکیبات متعددی مانند قندهای مختلف (تا ۱۸ درصد)، فلاوونوئیدها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها است. عمده‌ترین ساپونین آن اسید گلیسریزیک یا گلیسریزین است که به‌عنوان مهمترین ماده مؤثره ریشه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) حدود ۵۰ برابر از شکر شیرین‌تر است (Shibata, 2000; Hernandez *et al.*, 1997). مقدار این ماده در ریشه به نوع گیاه و شرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد. با توجه به اینکه شیرین‌بیان ایرانی از بیشترین مقدار اسید گلیسیریزیک برخوردار است (Roy *et al.*, 2004) برای تولید محصولی سالم و رقابت در بازار جهانی، بررسی تأثیر تنش‌های محیطی به‌ویژه افزایش غلظت فلزات سنگین بر خصوصیات فیتوشیمیایی این گیاه از اهمیت خاصی برخوردار است که این مهم معمولا در مورد گیاهان دارویی کمتر مورد توجه قرار می‌گیرد (Alhosseini *et al.*, 2018). در این راستا، هدف از این پژوهش بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در شرایط رویش این گیاه در خاک‌های حاوی فلز سنگین کادمیوم است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران از خرداد لغایت دی‌ماه سال ۱۳۹۶ در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمار کادمیوم در ۶ غلظت و در ۴ تکرار به صورت کشت گلدانی (در مجموع ۲۴ گلدان) اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ (ppm) کادمیوم در خاک بودند. غلظت‌های مورد استفاده براساس جدول‌های مربوط به استانداردهای میزان غلظت فلزات در خاک و محدودیت‌های ملی و سازمان جهانی بهداشت تعیین گردید (جدول ۱).

جدول ۱- محدوده بحرانی و نرمال غلظت فلزات سنگین در خاک

Table1. The critical and normal range of heavy metal concentrations in the soil

فلز Metal	حداکثر مقدار مجاز در خاک Maximum allowable amount in the soil *(mg/kg)	حداکثر مقدار نرمال فلزات در خاک Maximum normal amount of metals in the soil **(mg/kg)	غلظت فلز در تولیدات گیاهان دارویی Concentration of metal in the production of medicinal plants (who) ***(mg/kg)
کادمیوم (Cd)	3	3-50	0.3

*: Kabata و Pendias (۲۰۱۱)، **:Kloke (۱۹۸۰) و ***: Asgari lajayer و همکاران (۲۰۱۵)

نمک مورد استفاده برای تهیه غلظت‌های تیمارها، نمک نیترات کادمیوم (مرک) بود. برای آماده سازی خاک گلدان‌ها (با ظرفیت 10 کیلوگرم)، نمونه‌های خاک در هوای آزاد خشک و با کمک چکش پلاستیکی کوبیده و از الک ۲ میلیمتری عبور داده شد (Diaconu *et al*, 2012). سپس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (طبق جدول شماره ۲) تعیین گردید.

جدول ۲- نتایج حاصل از تجزیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 2 - Results of analysis of physical and chemical properties of soil used in the experiment

ویژگی‌های شیمیایی Chemical characteristics		ویژگی‌های فیزیکی Chemical characteristics	
ماده آلی (درصد) – OM (٪)	0.3	ظرفیت زراعی (درصدوزنی) FC	23
فسفر (میلی گرم در لیتر) – P (ppm)	0.08	نقطه پژمردگی (درصدوزنی) PWP	10
پتاسیم (میلی گرم در لیتر) – K (ppm)	311.8	بافت خاک (درصد) (%) soil texture رس Clay	6.16
کلسیم (میلی گرم در لیتر) – Ca (ppm)	9040	ماسه Sand	75.56
منیزیم (میلی گرم در لیتر) – Mg (ppm)	1480	سیلت Silt	18.28
نیتروژن (درصد) – N (%)	0.03		
ظرفیت تبادل کاتیونی (میلی اکی‌والان بر ۱۰۰ گرم خاک) CEC (meq /100gr(soil)	2.56		
هدایت الکتریکی(میکرو موس بر سانتی متر) EC (µmhos/cm)	1174.25		
pH	8.5		
کادمیوم کل (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Total Cd (mg/kg)	5.61		

ماده آلی با استفاده از روش والکلی و بلک (Paivoke, 2002)، هدایت الکتریکی در گل اشباع، اسیدیته در عصاره اشباع، میزان فسفر به روش اولسن با دستگاه اسپکتوفتومتری، سدیم و پتاسیم به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم و قرائت با دستگاه فلم‌فتومتر (Rhizophoulou & Diamantoglon, 1991)، کلسیم و منیزیم به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم و تیتراسیون با عصاره Na –EDTA (Lone *et al*., 2008)، مقدار نیتروژن کل به روش کجدال (Amani *et al*, 2005) و غلظت کادمیوم به روش عصاره‌گیری با محلول ۰/۰۰۵ مولار DTPA، کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار و تری اتانول آمین ۰/۱ مولار DTPA با استفاده از دستگاه ICP-OES (مدل SPECTRO ACOS ساخت کشور آلمان) قرائت شدند. *: لومی شنی

برای آلوده کردن خاک گلدان‌ها، نمک نیترات کادمیوم (که مقدار آن، براساس جرم اتمی نمک تقسیم بر جرم اتمی فلز سنگین برای یک کیلوگرم خاک تعیین گردید) در آب مقطر حل و به‌صورت اسپری به خاک اضافه شد. برای رسیدن به شرایط طبیعی و اثربخشی فلزات سنگین در خاک، خاک‌های آلوده شده به مدت ۱۰۰ روز در شرایط رطوبتی بین اشباع و ظرفیت زراعی قرار داده شدند. در ادامه ریزوم‌های گیاه شیرین‌بیان که از منطقه کوزران واقع در استان کرمانشاه جمع‌آوری شده بود برای کشت در گلدان‌ها مورد استفاده قرار گرفت. بدین‌ترتیب تعداد دو ریزوم (یکسان و یکنواخت و متحدالشکل از نظر طول و تعداد جوانه) برای هر گلدان جهت کشت در نظر گرفته شد. آبیاری گیاهان به مدت ۷ ماه با آب مقطر انجام گردید (آبیاری به مقدار مشخص، متناسب با نوع گلدان و براساس ظرفیت زراعی و به‌گونه‌ای که هیچ محلولی از سوراخ انتهایی گلدان‌ها خارج نشود انجام شد). در نهایت، اندام‌های هوایی و زیرزمینی هر گلدان خارج و پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن آن توسط دستگاه آون، وزن تر و خشک به‌طور جداگانه اندازه‌گیری شد. یادآوری می‌شود که برای تعیین وزن خشک، طبق روش (Bonanno & Giudice, 2010)، نمونه‌ها به مدت متوسط ۶ روز در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفته، پس از آن آسیاب و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند.

– **عصاره‌گیری ماده مؤثره در گیاه:** عصاره‌گیری و استخراج گلیسیریزیک‌اسید (مهمترین ماده مؤثره شیرین‌بیان) با روش اولتراسونیک و استفاده از حلال انجام شد. ازاین‌رو، برای شناسایی بهترین حلال، نمونه‌های ۵۰۰ میلی‌گرم پودر اندام زیرزمینی و ۱۰۰ میلی‌گرم اندام‌هوایی تهیه و حلال‌های متانول، اتانول (هریک با درجه خلوص ۹۵ درصد)، مخلوط دی اکسیدکربن: متانول (۵۰:۵۰) و اتانول: آب (۳۰:۷۰ و ۵۰:۵۰) به آنها اضافه شدند. در نهایت پس از قرار گرفتن عصاره‌ها در حمام اولتراسونیک (مدل PARSONIC) به مدت نیم ساعت با توجه به نتایج HPLC برای هر یک از حلال‌های ذکرشده، مشخص شد که حلال اتانول: آب (۳۰:۷۰) بهترین محلول برای استخراج متابولیت‌های ثانویه است.

اندازه‌گیری مواد مؤثره با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC): برای تعیین مواد مؤثره در گیاه شیرین‌بیان با توجه به استاندارد ملی ایران و فارماکوپه (BP)، از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا استفاده شد (استاندارد ملی ایران و The British Pharmacopoeia, 2009). بدین‌ترتیب ۲۴ عصاره اندام هوایی و اندام زیرزمینی (۶ غلظت، ۱ نوع فلز، ۴ تکرار) شیرین‌بیان توسط حلال اتانول: آب (۳۰:۷۰) استخراج و به دستگاه HPLC تزریق شد. محلول‌های استاندارد گلیسیریزیک اسید، گلابریدین و لیکوریتجنین در نمونه‌های اندام زیرزمینی در محدوده غلظت‌های (۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰) پی‌پی‌ام و برای فلاونوئیدهای روتین و کتچین در نمونه‌های اندام هوایی در غلظت‌های (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) پی‌پی‌ام به دستگاه HPLC تزریق و سطح زیر پیک حاصل از کروماتوگرام یادداشت و مقدار مواد مؤثره از روی منحنی کالیبراسیون محاسبه شد. مقدار R2 هر استاندارد بالاتر از ۹۸۳۰/ در محدوده خطی بود. دستگاه کروماتوگرام مایع مدل Waters 2695 شامل یک ماژول جداسازی ساخت کشور آمریکا، یک اتوسمپلر مجهز به حلقه ۱۰۰ میکرولیتر و آشکارسازهای فتودیود (دتکتور) (PDA) با مشخصات ستون C_{18}، طول ستون ۲۵ سانتی‌متری و قطر ۴/۶ میلی‌متر بوده است. با فاز متحرک شامل آب حاوی H_3PO_4 (حلال A) و استونیتریل (حلال B) می‌باشد. جریان با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و با یک شیب حلال خطی A-B است که به‌شرح ذیل عمل می‌کند.

حلال A به میزان ۸۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه، سپس در دقیقه ۳۰ به میزان ۲۰ درصد کاهش می‌یابد و به‌مدت ۵ دقیقه در این مقدار باقی می‌ماند. طول موج آشکارساز برای نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری گلیسیریزیک اسید ۲۵۰ نانومتر، برای لیکوریتین و لیکوریتیجنین ۲۷۶ نانومتر و برای گلابریدین ۲۳۰ نانومتر بوده است. دمای انجام آزمایش ۲۵ درجه اتاق بوده‌است.

همچنین محتوای فلاونوئیدهای روتین و کتچین در اندام هوایی با استفاده از دستگاه با مشخصات ذکرشده با ابعاد

ستون C_{18}، طول ستون ۱۵ سانتی‌متری و قطر ۴/۶ میلی‌متر اندازه‌گیری شده‌است و فاز متحرک شامل مخلوط آب با ۰/۰۲ درصد (TFA) درصد (TFA) (حلال A) و مخلوط متانول با ۰/۰۲ درصد (TFA) (حلال B) می‌باشد. جریان با سرعت ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه و با یک شیب حلال خطی A-B است که به‌شرح ذیل عمل می‌کند.

حلال A به میزان ۸۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه، سپس در دقیقه ۴۰ به میزان ۲۰ درصد کاهش‌می‌یابد و به‌مدت ۵ دقیقه این مقدار باقی می‌ماند. طول موج آشکارساز برای نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری روتین ۲۵۷ نانومتر، برای کتچین ۲۸۰ نانومتر بوده است. حجم هر نمونه در آنالیز HPLC، ۲۰ میکرولیتر و از هر نمونه ۴ تکرار به دستگاه تزریق شد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

طرح آزمایشی استفاده شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار است. در نهایت برای تجزیه‌وتحلیل آماری اطلاعات اندازه‌گیری شده از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. داده‌های حاصل با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن آنالیز شدند. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excelانجام شد.

نتایج

نتایج نشان داد افزایش کادمیوم خاک اثر معنی‌داری بر مقدار این عنصر در اندام هوایی و زیرزمینی گیاه شیرین‌بیان داشته است. به‌طوری‌که در اندام هوایی، تیمارهای ۸۰ (ppm) و ۱۰ (ppm) به‌ترتیب بیشترین (۸۵ درصد) و کمترین تأثیر (۶/۷ درصد) را نسبت به شاهد داشته و در اندام زیرزمینی، تیمار ۱۶۰ (ppm) بیشترین افزایش معنی‌دار را به همراه داشته است (شکل‌های ۱ و ۲).

جدول ۳- نتایج تجزیه کوواریانس حاصل از تیمار کادمیوم خاک بر میزان جذب کادمیوم در اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه شیرین بیان

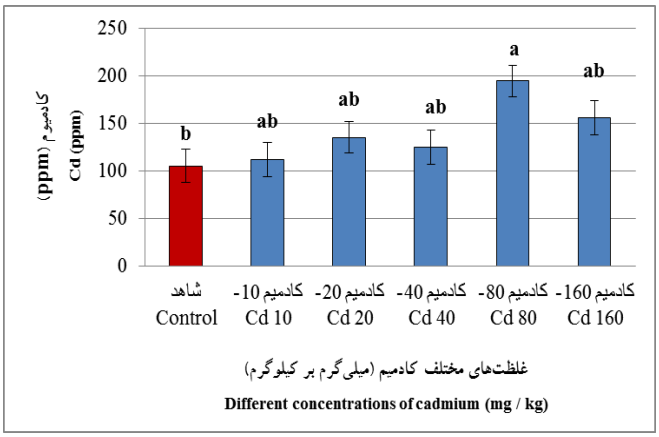
Table 3: Results of analysis of covariance from soil cadmium treatment on cadmium uptake in aerial and underground organs of *Glycyrrhiza glabra* L

صفات مورد بررسی Investigated traits	منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Average of squares	
			ریشه Root	اندام هوایی Aerial organs
کادمیوم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Cd (mg/kg)	تیمار کادمیوم Cadmium treatment	5	52909/15**	4294/5114**
	خطا Error	17	10588/49 ns	1103.307 ns

n.s: عدم وجود اختلاف معنی‌دار، *: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

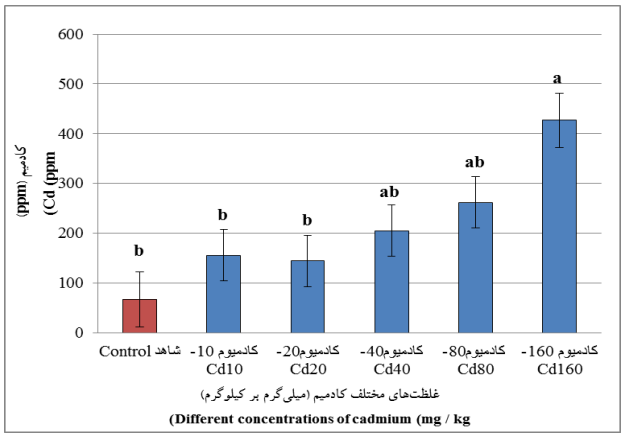
همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که افزایش کادمیوم خاک اثر معنی‌داری بر میزان گلیسریزیک‌اسید، گلابریدین و لیکوریتجنین در اندام زیرزمینی و فلاونوئیدهای روتین و کتچین در اندام‌های هوایی داشته است. در ارتباط با افزایش معنی‌داری کادمیوم در اندام زیرزمینی، چنین نتیجه‌گیری شد که غلظت ۱۰ (ppm) با ۷۰/۱۲ درصد نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را در افزایش میزان گلیسریزیک اسید داشته است، در حالی که کادمیوم با غلظت ۱۶۰ (ppm) با ۵۱/۱ درصد سبب کاهش معنی‌دار میزان گلیسریزیک اسید در اندام زیرزمینی گیاه نسبت به شاهد

شده است. به‌طورکلی با افزایش غلظت کادمیوم، میزان گلیسریزیک‌اسید در اندام زیرزمینی گیاه با کاهش همراه بوده است (شکل ۳).



شکل ۱- مقایسه میانگین میزان کادمیم اندام هوایی گیاه تحت تأثیر تیمارهای مختلف کادمیم در خاک

Figure 1- Comparison of the average amount of cadmium in plant shoots under the influence of different treatments of cadmium in soil



شکل ۲- مقایسه میانگین میزان کادمیم اندام زیرزمینی گیاه تحت تأثیر تیمارهای مختلف کادمیم درخاک

Figure 2 - Comparison of the average amount of cadmium in the underground organs of the plant under the influence of different treatments of cadmium in the soil

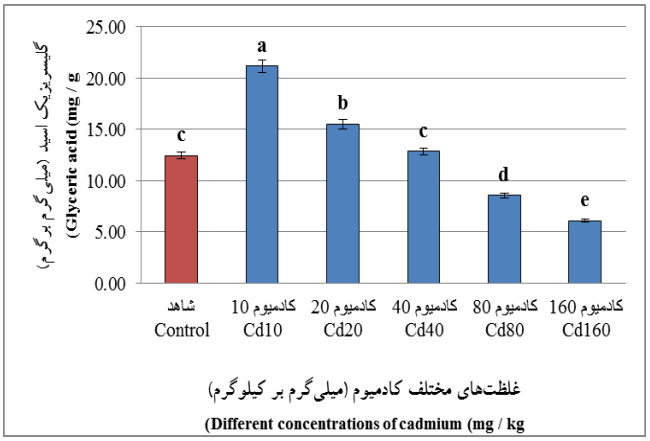
همچنین در ارتباط با اثر معنی‌دار افزایش غلظت کادمیوم بر میزان گلابریدین، باید گفت که غلظت ۲۰ (ppm) با ۵۱/۷۰ درصد نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را در افزایش میزان گلابریدین داشته‌است، درحالی‌که غلظت ۱۶۰ (ppm) با ۲۸ درصد سبب کاهش معنی‌دار میزان گلابریدین در اندام زیرزمینی گیاه شده است (شکل ۴). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد با افزایش غلظت کادمیوم خاک روند خاصی در تغییرات میزان لیکوریتیجنین مشاهده نشده‌است، به‌طوری‌که غلظت ۱۰ (ppm) کادمیوم خاک، با ۵۶/۴۴ درصد نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را در افزایش معنی‌دار میزان لیکوریتجنین داشته و غلظت ۸۰ (ppm) کادمیوم منجر به کاهش معنی‌دار میزان لیکوریتجنین در اندام زیرزمینی گیاه (۱۴/۶ درصد) شده‌است (شکل ۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اثر افزایش غلظت‌های هر تیمار کادمیوم بر میزان کتچین اندام هوایی گیاه معنی‌دار بوده‌است، به‌طوری‌که در غلظت ۴۰ (ppm) و ۸۰ (ppm) حالت حدوسط را در پاسخ داشته و غلظت‌های (ppm)۱۰ و ۱۶۰ (ppm) به میزان ۹/۴۸ درصد نسبت به شاهد بیشترین تأثیر معنی‌دار را در کاهش میزان کتچین داشته‌اند (شکل ۶). همچنین در ارتباط با کاهش معنی‌دار غلظت فلاونوئید روتین در اندام هوایی، تیمار ۸۰ (ppm) و ۱۶۰ (ppm) به‌ترتیب با ۲۱/۲۲ و ۱۳/۹۹ درصد نسبت به شاهد بیشترین و کمترین تأثیر را در کاهش معنی‌دار میزان روتین به همراه داشته‌است. البته، میزان روتین در غلظت ۱۰ (ppm) کادمیوم نسب به شاهد اختلاف معنی‌دار نداشته است (شکل ۷).

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس حاصل از تیمار کادمیوم بر برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه شیرین‌بیان

Table 4- Results of analysis of variance obtained from cadmium treatment on some phytochemical properties of *Glycyrrhiza glabra* L

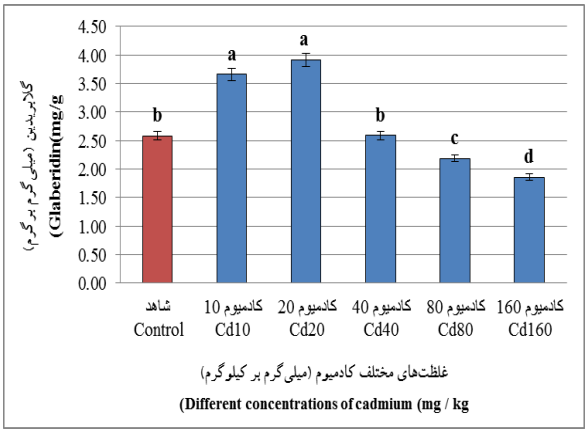
منابع تغییر Sources of changes	درجه‌آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات				
		گلیسیریزیک‌اسید Glycyrrhizic acid	گلابریدین Glaberidin	لیکوریتجنین Liquoritogenin	روتین Routine	کتچین Catechin
تیمارکادمیوم	5	84.590**	2.006**	0.257**	0.028**	0.002
خطا	12	0.466	0.021	0.005	0.002	0.001

n.s: عدم وجود اختلاف معنی‌دار، *: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد



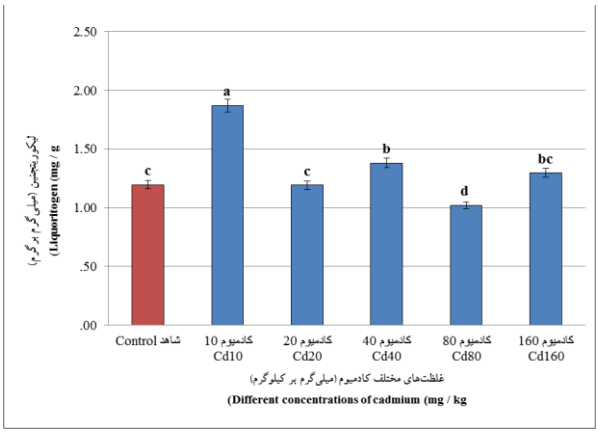
شکل ۳- مقایسه میانگین میزان گلیسریزیک اسید اندام زیرزمینی گیاه تحت تأثیر تیمارهای مختلف کادمیم در خاک

Figure 3 - Comparison of mean glycyrrhizic acid content of underground plants under the influence of different cadmium treatments in soil



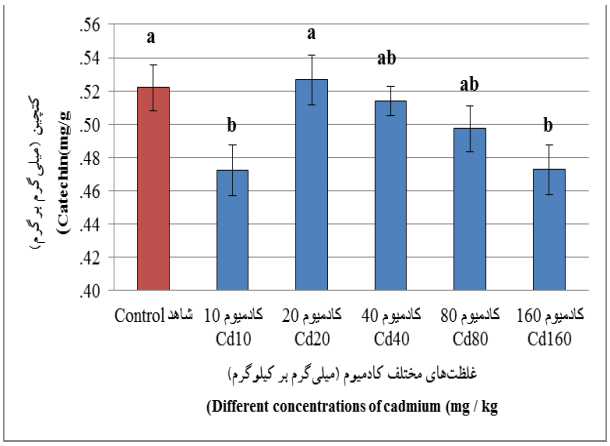
شکل ۴- مقایسه میانگین میزان گلابریدین اندام زیرزمینی گیاه تحت تأثیر تیمارهای مختلف کادمیم درخاک درخاک تحت تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار کادمیم

Figure 4 - Comparison of mean glabridin levels of underground plants under the influence of different treatments of cadmium in the soil in the soil under the influence of different concentrations of cadmium treatment



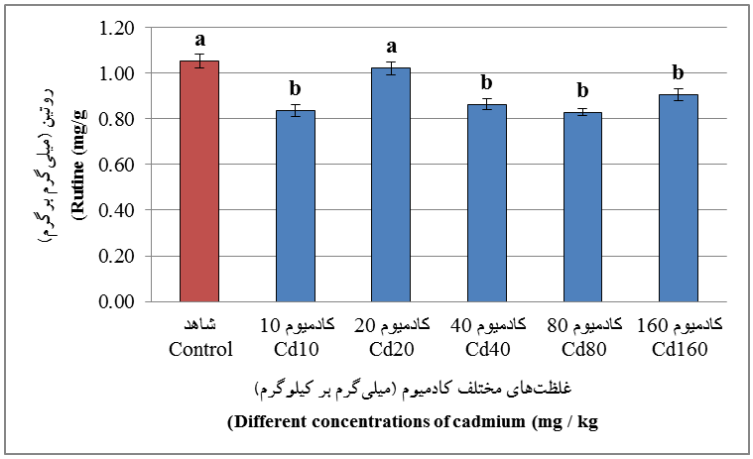
شکل ۵- مقایسه میانگین میزان لیکوریتجنین اندام زیرزمینی گیاه تحت تأثیر تیمارهای مختلف کادمیوم درخاک

Figure 5 - Comparison of the average amount of Liquoritogenin of plant underground organs under the influence of different treatments of cadmium in soil



شکل ۶- مقایسه میانگین میزان کتچین اندام هوایی گیاه تحت تأثیر تیمارهای مختلف کادمیوم در خاک

Figure 6- Comparison of the average amount of plant shoot catechins under the influence of different cadmium treatments in soil



شکل ۷- مقایسه میانگین میزان روتین اندام هوایی گیاه تحت تأثیر تیمارهای مختلف کادمیوم در خاک

Figure 7- Comparison of the average amount of plant shoot routine under the influence of different cadmium treatments in the soil

بحث

بر اساس نتایج تحقیق، افزایش غلظت فلز کادمیوم، اثر معنی‌داری بر مقدار این فلز در اندام‌های هوایی و زیرزمینی داشته است. در همین راستا، Qin و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعات خود گزارش کردند در غلظت‌های ۰ تا ۵ میکرومولار کادمیوم در محلول غذایی (کشت هیدروپونیک)، افزایش غلظت کادمیوم در شاخساره و ریشه دو رقم برنج (*Oryza sativa* L.) مشاهده شد. همچنین افزایش غلظت کادمیوم در شاخساره ذرت (*Zea mays* L.) (Pugh *et al*, 2002; Tiryakioglu *et al*, 2006) و ریشه و شاخساره دو رقم جو (*Hordeum vulgare* L.) (Wu *et al*., 2007) در اثر کاربرد سطوح مختلف کادمیوم گزارش شده است. تحقیقات نشان داده است که گیاهان فرایندهای متفاوتی ازجمله جلوگیری از تجمع عناصر در گیاه، سمیت‌زدایی عناصر سمی در سلول و مقاومت سوخت و سازی نسبت به عناصر سمی برای مقابله با سمیت کادمیم دارند (Cobbett, 2000;Dyani & Raeisi, 2006). Ernst و همکاران (۱۹۹۲) سازوکار تحمل به کادمیوم را در گیاهانی که دارای رشد مناسب بوده ولی مقدار تجمع کادمیم در آنها زیاد است به کمپلکس شدن کادمیم با اسیدهای آلی و ترکیبات غیرآلی و در نتیجه جلوگیری از ورود آن به قسمت‌های حساس سوخت‌وساز سلولی نسبت داده‌اند. Wu و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که برخی از ارقام جو (*Hordeum vulgare* L.) به سمیت کادمیم مقاوم بوده و با وجود غلظت زیاد کادمیم در شاخساره و ریشه آنها از رشد مناسبی برخوردار بودند.

در ارتباط با خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه شیرین‌بیان تحت تأثیر خاک آلوده به کادمیوم در غلظت‌های مختلف، نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت این عنصر در خاک اثر معنی‌داری بر میزان گلیسریزیک اسید، گلابریدین و لیکوریتجنین در اندام زیرزمینی و فلاونوئیدهای روتین و کتچین در اندام هوایی داشته است. با توجه به نتایج بدست آمده، میزان مواد مؤثره در اندام زیرزمینی گیاه شیرین‌بیان تحت تیمار کادمیوم در ابتدا افزایش یافته، اما در ادامه با بالا رفتن غلظت کادمیوم از میزان ماده مؤثره در گیاه کاسته شده است. در این زمینه، مطالعات kochaki وTabrizi (۲۰۱۴) نشان داد که این تغییرات واکنش‌های دفاعی گیاه هستند که در نتیجه تغییر در بیان ژن‌های کدشده برای سنتز آنزیم‌ها که بر بیوسنتز متابولیت ثانویه مؤثر هستند، استفاده می‌شوند. در همین زمینه، Siddiqui و همکاران (۲۰۱۳) نیز افزایش درصد ترکیبات غالب اسانس در سطوح پایین غلظت آرسنیک را در سه گونه جنس *Ocimum*به اثبات رساندند. نتایج این تحقیق با نتایج Murch و همکاران (۲۰۰۳) که تأثیر عناصر سنگین را بر روی رشد و ترکیب متابولیت‌های ثانویه در گل راعی

(*Hypericum perforatum*) مورد مطالعه قرار دادند مطابقت دارد، به‌طوری‌که نتایج آنان نشان داد تجمع متابولیت‌های ثانویه به دلیل حضور نیکل در محیط کشت به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند. در ارتباط با این تحقیق، تغییرات قابل توجهی در میزان فلاونوئیدهای اندام هوایی در غلظت‌های مختلف تیمار کادمیوم نسبت به شاهد مشاهده شد. به‌طوری که میزان فلاونوئیدهای گیاه مورد بررسی تحت افزایش غلظت این فلز در خاک با کاهش همراه بوده است. همچنین میزان روتین با افزایش غلظت کادمیوم نسبت به شاهد کاهش داشته که بیشترین کاهش در کمترین غلظت کادمیوم گزارش شده است. به‌طورکلی در گیاهان با توجه به ماهیت تنش وارده به آنها انواع مختلفی از فلاونوئیدها تولید می شود (Dixon & Paiva, 1995). نتایج تحقیقات Yousefi و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که عنصر مس برخلاف نقره در غلظت‌های اعمال شده در گیاهچه‌های زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) اثر منفی بر گیاه داشته که این تئوری با کاهش معنی‌دار محتوای پروتئین کل و عدم بیان ژن و همچنین فعالیت بالای سوپراکسید دیسموتاز(SOD: Superoxide Dismutase) به وضوح قابل مشاهده است. فلاونوئیدها موجب افزایش در پایداری دیواره سلولی و ایجاد مانع فیزیکی برای حفاظت سلول‌ها در مقابل عملکرد مضر عناصر سنگین می‌شوند (Diaz *et al*., 2001). فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها به‌طور عمده مربوط به خاصیت احیایی آنها است که اجازه می‌دهد به عنوان عوامل احیایی، دهنده هیدروژن، برطرف‌کننده‌های اکسیژن منفرد و همبندشوندگان با عناصر عمل کنند (Sakihama, 2002). گزارش‌های بسیار زیادی القاء انباشتگی ترکیبات فنلیکی و فعالیت پراکسیدازها را در گیاهان تیمار شده با غلظت بالای عناصر نشان (Jung *et al*., 2003; Senobari *et al*., 2014) می‌دهند که با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد. مطالعات فلاونوئیدهای برگ شش گونه لگوم آلوده به آلاینده‌های فلوئورایدی با استفاده از روش کروماتوگرافی نشان داده است که تغییر در تعداد، مقدار و نوع فلاونوئیدهای گیاهان آلوده نسبت به شاهد رخ داده و تغییر ترکیبات فلاونوئیدی می‌تواند در پاسخ به تنش آلودگی و نوعی سازش با شرایط نامساعد محیطی باشد (Noori *et al*., 2009). از مجموع نتایج چنین استنباط می‌شود که با توجه به کاهش فلاونوئیدها و اثر منفی فلز کادمیوم در گیاه شیرین‌بیان، به احتمال زیاد گیاه در غلظت‌های فراتر از غلظت‌های اعمال شده توانایی مقابله با تنش فلز کادمیوم را نداشته باشد. نتایج این تحقیق نشان داد، نیترات کادمیوم منجر به کاهش معنی‌دار مواد مؤثره شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در غلظت‌های مورد بررسی در اندام‌های زیرزمینی (گلیسریزیک اسید، گلابریدین و لیکورتجنین) و هوایی (فلاونوئیدهای روتین و کتچین) می‌شود. بااین‌حال، تجمع کادمیوم در اندام زیرزمینی شیرین‌بیان که به‌عنوان اندام هدف در مصارف دارویی و خوراکی مطرح است، توجه به ویژگی‌های خاک منطقه کاشت یا جمع‌آوری این گونه گیاهی را از نظر آلودگی به فلزات سنگین به‌ویژه کادمیوم، بیش از پیش آشکار می‌کند.

منابع مورد استفاده

– Aebi, H., 1984. Catalase in vitro.Methods Enzymol, 105: 121–126.
– Ahmadi Hosseini, M., Sori, M., Farhadi, N. and Omidbeigi, R., 2014. Investigation of Morphological Diversity and Extract of Root Dryness in Different Ecotypes (Glycyrrhiza glabra L.) in Five Provinces of the Country. Iranian Journal of Rangeland Science, 1:1-12.
– Alhosseini, Z., Jafarian, Z., Roshan, V. and Ranjbar. G.H., 2018. The Effect of water salinity on the quantity and quality of biochemical compounds of medicinal herbs (L officinallis Mellissa). Iranian Journal of Rangeland Science, 3:370-379.
– Alloway, B.J., 1990. Heavy metals in soils. Blackie and son, ltd. Glasgow and London. 339 pages.
– Amani, M., Sotudeh-Gharebagh, R., Mostaoufi, N. and Kashani, H., 2005. Optimal exteraction of glycyrrhetinic acid from licorice Root. Journal of Technology, 3 (4): 376 – 580 (In Persian).
– Asgari lajayer, H., Najafi, N. and Moghise, A., 2015. Effect of soil pollution on heavy metals on the production of medicinal plants. Jornal of Land Manegment, 2:111-122.
– Baye, H. and Hymete, A., 2010. Lead and cadmium accumulation in medicinal plants collected from

Industrial Hygiene and Toxicology, 61 (3): 297-303.
– Hernandez, L.E., Garate, A. and Carpena-Ruiz, R., 1997. Effects of cadmium on the uptake, distribution and assimilation of nitrate in *Pisum sativum*. Plant Soil, 189: 97-106.
– Hosseinpour, M. and Afshari, H., 2015. Evaluation of different levels of cadmium and lead on some phytochemical properties in salinity (Ocimum basilicum L.).IranianJournal of Eco – phytochemical Journal of Medicinal plants. 50-64.
– Jung, C.H., Maeder, V., Funk, F. and Frey, B., 2003. Release of phenols from Lupinus albus L. roots exposed to Cu and their possible role in Cu detoxification. Journal of Plant and Soil, 252: 301-316.
– Kabata, A. and Pendias, H., 2011. Trace Metals in Soils and Plants, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 2nd edition.
– Kafi, M., Iami, A.L., and Ahmadi, M., 2006.Salinity effect on germition propetie *Kochia scopari*. Asian Journal of Plant Sciences, 5: 71- 750.
– Kloke, A., 1980. Richtwerte 80. Orientierungsdaten für tolerierbare gesamtgehalte eniger elemente in Kulturboden, Milt. VDULUFA, 2:9-11.
– Lone, M.I., Li, H., Zhen. P.J. and Yang, X., 2008. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. Journal of Zhejiang University Science Bulletin, 9: 210-220.
– Malek Mohammadi, L. and Mirzavash Azar, S., 2012. Gathering, Identification, Medicinal Utilization and Domestication of Some Wild Edible Plants in Ghasemloo Valley, West Azerbaijan, Iran. Journal of Rangeland Science, 2: 521-534.
– Maleki, T. and Akhani, H., 2018. Ethnobotanical and ethnomedicinal studies in Baluchi tribes: A case study in Mt. Taftan, southeastern Iran. Journal of Ethnopharmacology, 217: 163-177.
– Michalak, A., 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Journal of Environment Study, 15 (4): 523- 530.
– Michalak, A., 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental 15: 523-530.
– Murch, S.J., Haq, K., Rupasinghe, H.Q. and Saxena, P.K., 2003. Nickel contamination affects growth and secondary metabolite composition of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). Environmental and Experimental Botany.49 (3): 251-257.
– Noori, M., Malayeri, B.E. and Jafari, M., 2009. Determination of fluoride its effects on flavonoids in some legumes. Toxicol. Journal of Environment. Chemichal, 91 (3): 409-418.
environmentally different sites. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 84(2): 197-201.
– Bonanno, G. and Giudice, R.L., 2010. Heavy metal bioaccumulation by the organs of *Phragmites australis* (common reed) and their potential use as contamination indicators. Journal of Ecological Indicators, 10: 639-645.
– Chaiyarat, R., Suebsima, R., Putwattana, N., Kruatrachue, M. and Pokethitiyook, P., 2011. Effects of soil amendments on growth and metal uptake by Ocimum gratissimum grown in Cd/Zn-contaminated soil. Water, Air, & Soil Pollution, 214(1-4): 383-392.
– Clemens, S., 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis.Journal of Planta, 212: 475-486.
– Cobbett, C.S., 2000. Phytochelation biosynthesis and function in heavy-metal detoxification: Current opinion. Journal of Plant Biology, 3: 211-216.
– Diaconu, D., Diaconu, R. and Navrotescu, T., 2012. Estimation of heavy metals in medicinal plants and their infusions. Analele Universitatii" Ovidius" Constanta-Seria Chimie, 23(1):115-120.
– Diaz, J., Bernal, A., Pomar, F. and Merino, F., 2001. Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (Capsicum annum L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. Plant Sci. 161:179.
– Dinakar, N., Nagajyothi, P.C., Udaykiran, Y. and Damodharam, T., 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings, Journal of Environment Science, 20: 199-206.
– Dixon, R.A. and Paiva, N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cel1. 7: 1085–1097.
– Dyani, L. and Raeisi, F., 2006. Activity of phosphatase and urease enzymes in a soil contaminated with cadmium. Proceedings of Soil, Environment and Sustainable Development Conference, 113-114.
– Ebrahim, A.M., Eltayeb, M.H., Khalid, H, Mohamed, H., Abdalla, W., Grill, P. and Michalke, B., 2012. Study on selected trace elements and heavy metals in some popular medicinal plants from Sudan. Journal of Natural Medicines, 66 (4): 671-679.
– Ernst, W.H.O., Verkleij, J.A.C. and Schat, H., 1992. Metal tolerance in plants. Acta Botanica Neerlandica Journal, 41: 229-248.
– Gjorgieva, D., Kadifkova-Panovska, T., Bačeva, K. and Stafilov, T., 2010. Content of toxic and essential metals in medicinal herbs growing in pollutedand unpolluted areas of Macedonia. Archives of

peroxidation induces by phenolics in cinjunction with aluminium ions. Journal of Biologia Plantarum, 45: 249- 254.
– Sato, A., Takeda, H., Oyanagi, W., Nishihara, E. and Murakami, M., 2010. Reduction of cadmium uptake in spinach (spinasiaoleracea L) by soil amendment with animal waste compost. Journal of Hazardous Materials, 173: 705-709.
– Senobari, Z., Jafari, N. and Ebrahimzadeh, M.A., 2014. Effect of nickel and pH on antioxidant activity, and total phenolic and flavonoid contents of Cladophora glomerata. Iranian Journal of Environmental Science and Technology, 16(2):129-138.
– Shibata, S., 2000. A drug over the millennia and pharmacognosy: chemistry pharmacology of licorice. Pharmaceutical Society of Japan, 120: 849-862.
– Siddiqui, F., Krishna, S. K., Tandon, P. and Srivastava, S., 2013. Arsenic accumulation in Ocimum spp. and its effect on growth and oil constituents. Acta Physiologiae Plantarum, 35(4), 1071-1079.
– Tabrizi, L. and Kochaki, A.R., 2014. Ecological Medicinal Plants, Sustainable Production and Operation. Tehran University press, 442p.
– The British Pharmacopoeia. Vol. 2. London: British Pharmacopoeial Commission; 2009, pp: 1 - 3.
– Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S. and Cakmak, I., 2006. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 20: 181-189.
– Yousefi, K., Riahi-Madvar, A. and Baghizadeh, A., 2015. Investigation of the effects of Ag and Cu elicitros on flovone synthase Igene expression and some biochemical paremeters on *Cuminum cyminum* L. endemc to Iran. Iranian of Journal of Biology: 210-223.
– Zheljazkov, V.D., Craker, L.E. and Xing, B., 2006. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. Journal of Environmental and Experimental Botany, 58 (1): 9-16.
– Zheljazkov, V.D., Jelizkov, E.A., Kovachev, N. and Dzhurmanski, A., 2008. Metal uptake bymedicinal plant species grown in soils contaminated by a smelter. Journal of Environmental and Experimental Botany, 64(3):207-216.
– Zornoza, P.V., Estebane, F., Pascual, R. and Carpena, R., 2002. Cadmium-stress in nodulated white lupin: strategies to avoid toxicity. Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 40: 1003-1009.
– Okem, A., Southway, C., Stirk, W.A., Street R.A., Finnie, J.F. and Van Staden, J., 2014. Heavy metal contamination in South African medicinal plants: A cause for concern. South African Journal of Botany, (93): 125-130.
– Pais, I. and Jones, J.B., 1997. The handbook of trace elements. St. Lucie press. Boca Raton, Florida. 223 pages.
– Paivoke, A.E.A., 2002. Soil lead alters phytase activity and mineral nutrient balance of *Pisum sativum*. Environmental and Experimental Botany, 48: 61–73.
– Palizban, A.A., Asghari, G.H., Badiee, A., Mardani Nafchi, H. and Kazemi, A.R., 2016. Determination of contamination of Lead and Cadmium in Canola and safflower in around of Isfahan Still Company (ESCO) and Compare this pollution with oil extracted from them. Iranian Journal of Shahrekord University of Medical Sciences, 18(5): 94-102.
– Prasad, A., Kumar, S., Khaliq, A. and Pandey, A., 2011. Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Biology and Fertility of Soils, 47 (8): 853- 861.
– Prasad, A., Singh, A. K., Chand, S., Chanotiya, C. and Patra, D., 2010. Effect of chromium and lead on yield, chemical composition of essential oil and accumulation of heavy metals of mint species. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 41(18): 2170-2186.
– Pugh, R.E., Dick, D.G. and Fredeen, A.L., 2002. Heavy metal (Pb, Zn, Cd, Fe and Cu) contents of plant foliage near the Anvil Range lead/zinc mine, Faro. Journal of Yukon Territory Ecotoxicol, 55: 273–279.
– Qin, D., Chen, M.X., Zhou, R., Chao, Z.Y., Zhu, Z.W., Shao, G.S.H. and Wang, G.M., 2009. Cd toxicity and accumulation in rice plants vary with soil nitrogen status and their genotypic difference can be partly attributed to nitrogen uptake capacity. Journal of Rice Science, 16: 283-291.
– Rhizophoulou, S. and Diamantoglon, S., 1991. Water stress induced diurnal variatiobin in leaf water relation stomatal conductance, soluble, sugar, lipids and essential oil content of Origanum majoranol. Journal of Horticultural Sciences, 66: 119 – 25.
– Roy, S., Bhattacharyya P.and Gosh, A.K., 2004. Influence of toxic metals on activity of acid and alkaline phosphate enzymes in metal contaminated landfill soils. Australian Journal of Soil Research, 42: 339-344.
– Sakihama, Y. and Yamasaki, H., 2002. Lipid

Effects of cadmium on phytochemical properties of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.)

F. Moghiminejad[1], A. Tavili[2*], M. Jafari[3], A. Shirvani [4], M.A. Zare Chahuki [5]and Y. Ghasemi Aryan[6]

1-Ph.D. Graduated Student of Range Management, Department of Reclamation of Arid and Mountainous Regions, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2*- Corresponding author, Associate Professor, Department of Reclamation of Arid and Mountainous Regions, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Email:
3-Professor, Department of Reclamation of Arid and Mountainous Regions, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
4-Associate Professor, Department of Jungle, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
5- Professor, Department of Reclamation of Arid and Mountainous Regions, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
6-Assistant Professor, Desert Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: 08/31/2019 Accepted: 04/04/2020

Abstract

The present study aimed to investigate the effect of cadmium on the phytochemical properties of licorice in a completely randomized design with cadmium treatment in six concentrations (0, 10, 20, 40, 80, and 160 (ppm)) and four replications in pot culture (24 pots in total). After preparing the planting bed and spraying cadmium nitrate with the above-mentioned concentrations, licorice rhizomes were cultured in pots and kept in a greenhouse for seven months. Finally, plant samples (in aerial and underground parts) were transferred to the laboratory to measure the phytochemical properties. Variables in the underground part included the amount of glycyrrhizic acid, glabridin, and liquoritin, and in the aerial part, routine flavonoids and catechin. Extraction was performed by ultrasonic method and measurement was performed using high-performance liquid chromatography (HPLC). The results of comparing the mean of cadmium in the studied concentrations showed that increasing the concentration of this element in the soil had a significant effect on the amount of glycyrrhizinic acid, glabridin, and liquoritin in the underground part and routine flavonoids and catechins in the aerial part of the licorice. The results also showed that the amount of active ingredients in the underground parts of licorice treated under cadmium initially increased and then decreased with increasing cadmium concentration.

Keywords: Heavy metal, cadmium, macronutrients, licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.).