پاسخ‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی تاتوره (*Datura stramonium* L.) به سمیت کادمیوم

زهره شیرخانی[۱]، عبدالکریم چهرگانی راد[۱*]، منصور غلامی[۲] و فریبا محسن زاده[۱]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

[۲] گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۲/۲۳)

چکیده

فلزات سنگین از طریق منابع مختلف به دست انسان در اتمسفر منتشر می‌شوند. در پژوهش حاضر اثر اسپری برگی با غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) بر برخی پارامترهای مرفولوژیک و فیزیولوژیک تاتوره بررسی شد. نتایج نشان داد که در گروه تحت تیمار ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم، وزن تر و وزن خشک اندام هوایی، طول ساقه، مساحت سطح برگ، میزان فتوسنتز خالص، شاخص پایداری غشا سلول، محتوای نسبی آب بافت به‌ترتیب به میزان ۳۶/۵، ۱۱/۷۵، ۱۱/۹۵، ۶۳/۷۵، ۴/۲۸، ۲۵ و ۱۱/۲۹ درصد کاهش یافته است. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای کربوهیدرات‌های محلول در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت در حالیکه افزایش معنی‌دار در میزان پروتئین کل و فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز مشاهده شد. بررسی الگوی پروتئینی بذر، پیدایش باندهای جدید و افزایش تراکم باندها در الگوی پروتئینی نمونه آلوده را نشان داد که می‌تواند مربوط به سنتز پروتئین‌های سم‌زدای سلول باشد. نتایج، کاهش مقدار پروتئین کل و باندهای پروتئینی در تیمار ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم نسبت به سایر تیمارهای کادمیوم را نشان داد که احتمالاً ناشی از مسمومیت دستگاه ترجمه در این غلظت کادمیوم است. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که با وجود مقاومت نسبی تاتوره به آلودگی با کادمیوم، غلظت‌های بالای این فلز بر تاتوره اثر منفی داشته و با وجود عدم نیاز به این عنصر سنگین، جذب گیاه شده و موجب اثرات منفی بر عملکرد گیاه می‌شود. احتمالاً تاتوره با تغییردر برخی پارامترهای فیزیولوژیک و تغییر در الگوی پروتئینی توانسته در مقابل آسیب‌های ناشی از تنش آلودگی کادمیوم مقاومت نماید.

کلمات کلیدی: تاتوره، جذب برگی، شاخص‌های مرفولوژیک، شاخص‌های فیزیولوژیک، کادمیوم

مقدمه

تنش فلزات سنگین یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که سبب آلودگی محیط‌زیست در دهه‌های اخیر شده است. این فلزات برخلاف آلاینده‌های آلی دیگر از طریق فرآیندهای بیولوژیک به ترکیبات بی‌ضررتجزیه نمی‌شوند (Gisbert *et al.*, 2003). بر طبق مطالعات Chmielewska و Spiegel (۲۰۰۳) انتشار فلزات سنگین در اتمسفر به‌وسیله‌ی فعالیت‌های انسانی چندین برابر بیشتر ازانتشار طبیعی آنهاست. جذب فلزات سنگین به‌وسیله برگ، عمدتاً برای آن دسته از فلزات ارزیابی گردیده که نقش اساسی شناخته شده در واکنش‌های متابولیسمی و بیوشیمیایی گیاهان دارند. تحقیقات پیشین متعددی در دست است که جذب برگی آهن، مس، روی و منگنز راگزارش داده‌اند (Wojcik, 2004, Fernandez and Brown, 2013). تحقیقات نشان داده است که این فلزات

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: chehregani@basu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

می‌توانند از طریق کوتیکول برگ نفوذ کرده و سرانجام در بافت‌های برگ انباشته گردند (T Vu *et al*., 2013). فلزات غیر ضروری همانند سرب (Schreck *et al*., 2013)، کادمیوم (Tudoreanu and Phillips, 2004)، کروم (Levi *et al*., 1973) و آرسنیک (Handson, 1984) نیز می‌توانند از طریق برگ به بافت‌های گیاهی انتقال یابند. مطالعات نشان داده است که اندام-های هوایی گیاه ساختارهای جذب‌کننده‌مؤثری هستند که مجهز به مکانیزم جذب فلزات سنگین مشابه با ریشه‌ها می‌باشند. در واقع، فلزات می‌توانند از طریق برگ جذب شده و در بافت برگ انباشته شوند (Schreck *et al*., 2012, Xiong *et al*., 2014).

در بین فلزات سنگین، کادمیوم برای موجودات‌زنده شامل میکروب‌ها، گیاهان، جانوران و انسان سمی شناخته شده است (Xu and Wang, 2014). کادمیوم در بافت‌های موجودات‌زنده تجمع می‌یابد و نیمه عمر بیولوژیکی طولانی آن می‌تواند منجر به اثرات سمیت شدید حتی در غلظت‌های پایین شود (Chen *et al*., 2008). مطالعات قبلی نشان داده است که کادمیوم باعث القا مهار رشد و فتوسنتز، تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS) و اختلال در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌گردد که سبب تخریب کلروفیل و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (Jakab *et al*., 2005). به‌منظور کاهش اثر سمیت فلزات سنگین، گیاهان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی همانند گلوتاتیون احیا شده، فنل، کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز تولید می‌کنند (Khan *et al*., 2013).

مطالعات Barber و همکاران (۲۰۰٤) نشان داد که عوامل متعددی شامل خصوصیات گیاه همانند نوع عملکرد، مساحت سطح برگ، ساختار کوتیکولی و طول عمر برگ ممکن است جذب برگی فلزات را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین Madany و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که در برگ‌های کرک‌دار، سرب به‌طور قابل توجهی تا ده برابر بیشتر از برگ‌های صاف انباشته می‌شود.

چهرگانی و همکاران (۱۳۹٤) نشان دادند که تیمار اسپری برگی با کادمیوم به‌عنوان یک آلاینده جوی، مراحل نموی بساک و دانه‌های گرده اطلسی را تحت تأثیر قرار داده و موجب بروز انواعی از ناهنجاری‌ها و کاهش توان زیستی دانه‌های گرده می‌گردد. همچنین نشان داده شد که گیاه اطلسی در پاسخ به تنش آلودگی با کادمیوم پروتئین‌های جدیدی را تولید می‌کند.

Nouairi و همکاران (۲۰۰٦) گزارش دادند که تحت شرایط تنش کادمیوم، رشد ریشه و اندام‌های هوایی در *Brasica napus* و *Brasica juncea* کاهش می‌یابد. در تحقیقات چهرگانی و همکاران (۱۳۹٦) نشان داده شد که سایر فلزات سنگین نظیر سرب سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و ساقه، مساحت سطح برگ، ارتفاع گیاه، میزان کلروفیل a، b و a+b و افزایش در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در اطلسی می‌شود.

برخلاف انتقال ریشه‌ای فلزات (Pourrut *et al*., 2011) که تا حد زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است، پژوهش‌های کمتری به بررسی جذب فلزات سنگین از طریق برگ گیاهان پرداخته‌اند (Tomasevic *et al*., 2005; Honour *et al*., 2009). این پژوهش با هدف بررسی اثرات تیمار اسپری برگی با کادمیوم و بررسی تغییرات فاکتورهای رشد، الگوی پروتئینی و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک در شرایط تنش ناشی از سه سطح فلز کادمیوم (۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) در گیاه تاتوره به‌عنوان یک گیاه با کاربرد دارویی مهم انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه تاتوره (*Datura stramonium* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. بذرهای تاتوره در سینی‌های مخصوص کشت حاوی کوکوپیت و پرلیت کاشته شدند. بعد از جوانه‌زنی دانه‌رست‌های سالم در مرحله۲-۳ برگ حقیقی به گلدان‌هایی با ارتفاع۲۱ و قطر ۲۰ شانتی‌متر و حاوی ٤ کیلوگرم خاک منتقل شدند. تراکم کشت برای هر گلدان یک بوته در نظر گرفته شد.گلدان‌ها در گلخانه‌ای با میانگین دمای ۲۵±۵ درجه‌ی سانتیگراد، شدت نور ۸۵ $mmol/m^2.s$ و رطوبت نسبی ٦۵ درصد قرار گرفتند.

محلول‌پاشی به‌صورت روزانه یک هفته بعد از انتقال به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

گلدان آغاز و تا بعد از گلدهی (به مدت دو ماه) ادامه پیدا کرد. محلول پاشی روزی یکبار انجام شد و برای تیمار هر بوته در مجموع حدود چهار لیتر محلول مورد استفاده قرار گرفت. نمونه-گیری برگ در مرحله رشد زایشی و از برگ‌های چهارم و پنجم از راس صورت گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل چهار غلظت کلریدکادمیوم (Merk, Germany)، صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و سه تکرار انجام گرفت.

سنجش کادمیوم در بافت گیاهی: به‌منظور تعیین غلظت کادمیوم در اندام هوایی، از برگ‌های گیاه در مرحله رشد زایشی (برگ‌های چهارم و پنجم از راس) استفاده شد. به یک گرم پودر خشک گیاه ۱۰ میلی‌لیتراسیدنیتریک غلیظ افزوده شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد در حمام آب گرم قرار گرفتند. سپس ۲/۶ میلی‌لیترآب‌اکسیژنه ۲۰ درصد به آنها افزوده شد، پس از آنکه نمونه‌ها سرد شدند محلول حاصل صاف و حجم آن با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت کادمیوم توسط دستگاه جذب اتمی (Varian Spectra AA220FS) اندازه‌گیری گردید (Stingu *et al*., 2009).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: وزن تر و خشک، طول اندام هوایی، مساحت سطح برگ و میزان فتوسنتز خالص (net assimilation rate) پس از دو ماه تیمار در مرحله زایشی گیاه اندازه‌گیری شد. میزان فتوسنتز خالص (NAR) بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید (Williams, 1946):

$$NAR=(d(TDW)/dt)(1/LAI)$$

TDW: ماده خشک کل

LAI: شاخص سطح برگ

dt: فاصله زمانی بین دو نمونه‌برداری

سنجش محتوای نسبی آب بافت (RWC): از آخرین برگ نمو یافته همه گروه‌های تیماری و شاهد نمونه‌برداری صورت گرفت. وزن تر نمونه‌ها بلافاصله اندازه‌گیری و سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال و در دمای چهار درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت وزن اشباعی برگ‌ها اندازه‌گیری و برگ‌ها مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در آون قرار داده شده و وزن خشک هر نمونه به‌دست آمد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین در فرمول زیر، مقدار نسبی آب بافت (relative water content) محاسبه گردید (Barr and Weatherley, 1962).

$$RWC = ((Wf-Wd) / (Wt-Wd)) \times 100$$

Wf: وزن تازه

Wd:ورن خشک

Wt: وزن اشباع

تعیین شاخص پایداری غشا سلول (MSI): شاخص پایداری غشا (membrane stability index) بر اساس میزان هدایت الکتریکی حاصل از نشت یون‌ها از سلول‌های برگ به درون آب دیونیزه شده اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم برگ تازه در ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه غوطه‌ور گردید، سپس در حمام آب گرم در دمای ٤٠ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و پس از طی این زمان هدایت الکتریکی نمونه‌ها به کمک ECمتر اندازه‌گیری شد. مجدداً نمونه‌ها در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده و پس از رسیدن به دمای اتاق، هدایت الکتریکی آنها اندازه گیری شد. در نهایت اعداد حاصله در فرمول زیر جایگذاری و شاخص پایداری غشا سلول محاسبه گردید (Sairam, 1994).

$$MSI=(1- EC1/EC2)100$$

EC1: هدایت الکتریکی نمونه‌های آزمایشی در زمان ۱۰ دقیقه

EC2: هدایت الکتریکی نمونه‌های آزمایشی در زمان ۳۰ دقیقه

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: به منظور اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی از روشLichtenthaler و Buschmann (۲۰۰۱) استفاده گردید. سنجش پس از دو ماه تیمار در مرحله زایشی گیاه انجام شد. میزان جذب در طول موج‌های ٦٤٦/٨، ٦٦٣/٢ و ٤٧٠ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل IIBiowave انگلستان) ثبت گردید. میزان کلروفیلa، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در هر یک از نمونه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید:

$$C_a\ (\mu g/ml)=۱۲/۲۵A_{٦٦٣/٢}-۲/۷۹A_{٦٤٦/٨}$$

$$C_b\ (\mu g/ml) =۲۱/۵۰A_{٦٤٦/٨}-۵/۱۰A_{٦٦٣/٢}$$

$$Tchl\ (\mu g/ml) = C_a+C_b$$

$$C_{x+c}= (۱۰۰۰A_{٤٧٠}-۱/۸۲C_a-۸۵۲/۰۲C_b)/۱۹۸$$

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

C_a: غلظت کلروفیل a

C_b: غلظت کلروفیل b

Tchl: کلروفیل کل

C_{x+c}: غلظت کاروتنوئیدها

سنجش کربوهیدرات‌های محلول: سنجش قندهای محلول با استفاده از روش فنل-اسیدسولفوریک انجام گرفت. سنجش پس از دو ماه تیمار در مرحله زایشی گیاه انجام شد. ۰/۱ گرم از برگ خشک در ۱۰ میلی‌لیتراتانول۷۰ درصد ریخته شد و پس از یک هفته، ۰/۵ میلی‌لیتر از بخش رویی محلول برداشته و با آب مقطر به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد اضافه و بعد از آنکه خوب بهم زده شد به آن ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه گردید، حدود نیم ساعت پس از خنک شدن کامل محلول، جذب آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۸۵ نانومتر خوانده شد. برای اندازه‌گیری مقدار قند از منحنی استاندارد تهیه شده از گلوکز استفاده گردید (Kochert, 1978).

سنجش کمی پروتئین‌ها و فعالیت آنزیمی: یک گرم از برگ تر گیاه را وزن کرده، ۵ میلی‌لیتربافر فسفات (pH ٦) بر روی آن تزریق و محلول حاصل تا مرحله همگن‌سازی سائیده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه به حالت سکون باقی ماند و با دستگاه سانتریفیوژ (Sigma, 1-16k, Germany) با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. تمامی مراحل استخراج در دمای ٤- درجه سانتیگراد انجام شد و محلول حاصل در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید. سنجش پس از دو ماه تیمار در مرحله زایشی گیاه انجام شد.

سنجش محتوای پروتئین کل به روش اسپکتروفتومتری: سنجشِ کمی پروتئین‌ها با استفاده از روش برادفورد انجام گرفت. ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده در بخش قبل را در لوله آزمایش ریخته و به آن ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه کرده و به سرعت ورتکس گردید. جذب نمونه‌ها پس‌از ۲۵ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده‌شد. محتوای پروتئین کل بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد سرم آلبومین گاوی (BSA) گزارش گردید(Bradford, 1976).

سنجش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز به روش اسپکتروفتومتری: فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از مخلوط واکنش شامل بافر استات ۰/۱ مولار (pH ٤/٦)، آب اکسیژنه ١٦ میلی‌مولار، گایاکول ۱۵ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی تعیین گردید. جذب نوری محلول در طول موج ٤۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Liu *et al.*, 1999). فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با افزایش جذب در طول موج ٤۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۰۰ میلی‌مولار (pH ٦/۸)، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی بود (Jiang, 1999).

در نهایت فعالیت آنزیم برحسب واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

مطالعه پروتئین‌ها به روش الکتروفورز: در مطالعه حاضر از الکتروفورز پروتئین‌های بذر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید(۱۲ درصد) در حضور دودسیل‌سولفات استفاده شد. برای استخراج پروتئین از بذر بالغ گیاهان تحت تیمار و شاهد در حضور بافر فسفات سدیم (pH معادل ۷) و پلی‌وینیل‌پیرولیدین استفاده گردید. عصاره پروتئینی استخراج شده به نسبت یک به سه با بافر نمونه مخلوط و به مدت پنج دقیقه در حمام آب گرم حرارت داده شد. پس از اتمام الکتروفورز، رنگ‌آمیزی با رنگ کوماسی‌برلیانت‌بلو R_{250} صورت گرفت. برای انجام الکتروفورز از دستگاه الکتروفورز کمپانی Bio- Rad (USA) استفاده شد الکتروفورز با ولتاژ ثابت ۱۱۰ ولت انجام گرفت. پس از رنگ آمیزی ژل با آبی‌کوماسی‌بریلیانت‌بلو و چند مرحله رنگ‌بری ژل، بااستفاده از اسکنر از آن عکس تهیه و تغییرات باندها مورد مطالعه و مقایسه گردید (Hames, 1998).

بررسی‌های آماری: در این پژوهش، آنالیز داده‌ها با سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار SAS (version9.1) صورت گرفت. مقایسه میانگین‌هاتوسط آزمون دانکن بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم‌افزار Excell 2007 رسم گردید.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

نتایج

سنجش کادمیوم در بافت گیاهی: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم تیماری، کادمیوم جذب شده به‌وسیله اندام‌های هوایی گیاه مورد مطالعه افزایش یافت. بیشترین مقدار کادمیوم جذب شده در غلظت ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. مقدار کادمیوم موجود در اندام‌های هوایی در این تیمار به ۱۱۱/٦ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک رسید. نتایج بیانگر آن است که بین مقادیر مختلف کادمیوم انباشته شده در اندام‌های هوایی، در گروه‌های تیمار شده با مقادیر مختلف کادمیوم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال (P≤۰/۰۱) وجود داشت (شکل ۱).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: جدول شماره۱ اثر تیمار کلریدکادمیوم بر وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، مساحت سطح برگ و NAR را نشان می‌دهد. نتایج نشان می دهد با افزایش غلظت کادمیوم تیماری وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، مساحت سطح برگ و NAR کاهش یافت. از نظر آماری کاهش در وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، NAR در سطح (P≤۰/۰۱) و کاهش در سطح برگ در سطح (P≤۰/۰۵) معنی‌دار بود. بیشترین مقادیر کاهش این شاخص‌ها در تیمارهای ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم و کمترین مقادیر شاخص‌ها در نمونه‌های شاهد مشاهده شد. وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، مساحت سطح برگ و NAR به‌ترتیب از ۸۹g، ۲۲/۵ g،۳٤/٦cm، ۱۲۲/۵ cm^2 و ۱٤/۷۲ $mg.cm^{-2}.d^{-1}$ در نمونه‌های شاهد به ٥٦/٥g، ۱۰/۷٥g، ۲۲/٦٥cm، ٥۸/۷٥cm^2 و ۱۰/٤۸ $mg.cm^{-2}.d^{-1}$ در گروه تیماری با ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم رسید.

شاخص پایداری غشا: نتایج حاصل از بررسی MSI نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم شاخص پایداری غشا کاهش یافته است. این کاهش در سطح (P≤۰/۰۱) معنی‌دار بود. نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم است. مقدار کاهش MSI در نمونه شاهد نسبت به نمونه تحت تیمار ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیترکادمیوم ۲۵ درصد بود(شکل ۲).

محتوای نسبی آب بافت: محتوای نسبی آب بافت در سطوح ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیترکادمیوم اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نشان داد (P≤۰/۰۱) و با افزایش غلظت کادمیوم محتوای نسبی آب بافت کاهش یافت. گروه تیماری ۷۵ میلی‌گرم بر لیترکادمیوم فاقد اختلاف آماری معنی‌دار با گروه شاهد بود. محتوای نسبی آب بافت به میزان ۱۱/٦۲ درصد در گروه تیماری ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (شکل ۳).

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج مربوط به اثرات کادمیوم بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در شکل ٤ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با تیمار کادمیوم میزان کلروفیل a، کلروفیلb، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها کاهش می‌یابد به طوریکه بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در نمونه‌های شاهد و کمترین آن در تیمار ۷۵ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم مشاهد شد. کاهش در میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح (P ≤۰/۰۱) و کاهش در میزان کلروفیل a و کاروتنوئیدها در سطح (P ≤۰/۰۵) معنی‌دار بود.

سنجش کربوهیدرات‌های محلول: آنالیز داده‌های مربوط به میزان کربوهیدرات‌های محلول کاهش معنی‌دار (P ≤۰/۰۱) در گروه‌های تحت تیمار نسبت به گروه شاهد را نشان داد. کمترین میزان در گروه تیماری۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم مشاهده شد. میزان کاهش قندهای محلول در گیاهان تحت تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم نسبت به گروه شاهد ٥۱ درصد بود. تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تحت تیمار با غلظت‌های مختلف کادمیوم مشاهده نشد (شکل٥).

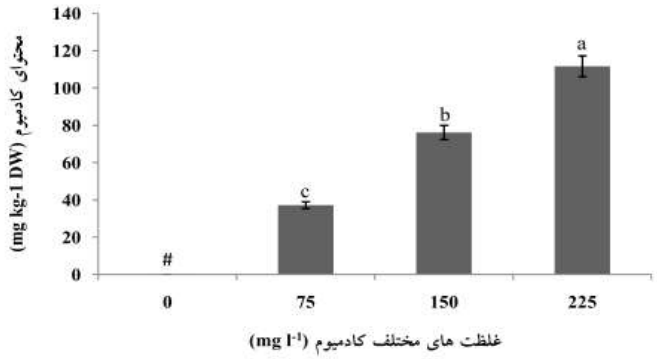
سنجش محتوای پروتئین کل و فعالیت آنزیمی: اثر کادمیوم بر روی محتوای پروتئین کل برگ‌های تازه تاتوره در شکل ٦ نشان داده شده است. در گیاهان تحت تیمار کادمیوم مقدار پروتئین کل به‌طور معنی‌داری (P ≤۰/۰۱) بیشتر از گروه شاهد بود. بیشترین مقدار در گروه تیماری ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده گردید. مقدار پروتئین کل در گروه تیماری۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم۱۱/۰۲ برابر گروه شاهد بود. در گروه‌های تیماری۱۵۰ و ۲۲۵ مقدار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

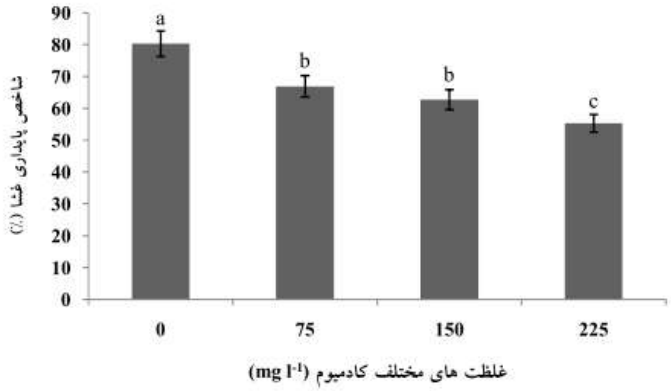
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

جدول۱- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) بر برخی شاخص‌های رشد در تاتوره. هر ستون معرف میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار است.

کادمیوم($mg\ l^{-1}$)	وزن تر اندام هوایی (g)	وزن خشک اندام هوایی(g)	ارتفاع (cm)	وزن خشک اندام هوایی(g)	NAR ($mg.cm^{-2}.d^{-1}$)
۰	۸۹±۳a	۲۲/۵±۱/۱۷a	۳٤/٦±۳/۰۵a	۲۲/۵±۱/۱۷a	۱٤/۷۲±۰/۸۱a
۷۵	٦۹/۳۳±٤b	۱۵/۸۹±٤/۱b	۲٦/۹۳±۱/۸۵b	۱۵/۸۹±٤/۱b	۱۳/۵۱±۱/۵۰a
۱۵۰	٦۱±۲/۰۸c	۱۳/۲۷±۰/۹۷bc	۲۳/۵±۲/۳۵b	۱۳/۲۷±۰/۹۷bc	۱٤±۲a
۲۲۵	۵٦/۵±۱/۵c	۱۰/۷۵±۱/۰۸c	۲۲/٦۵±۲/۷٤b	۱۰/۷۵±۱/۰۸c	۱۰/٤۸±۱/۵b



شکل ۱- مقدار کادمیوم اندام‌های هوایی در گروه‌های مختلف تیماریکادمیوم(صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.# مقدار کمتر از ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک.



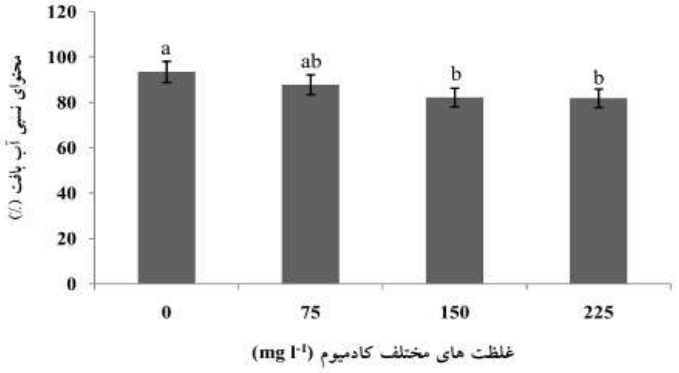
شکل ۲- شاخص پایداری غشا (٪) تحت تأثیرغلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.

پروتئین نسبت به گروه تیماری ۷۵ کاهش یافت.

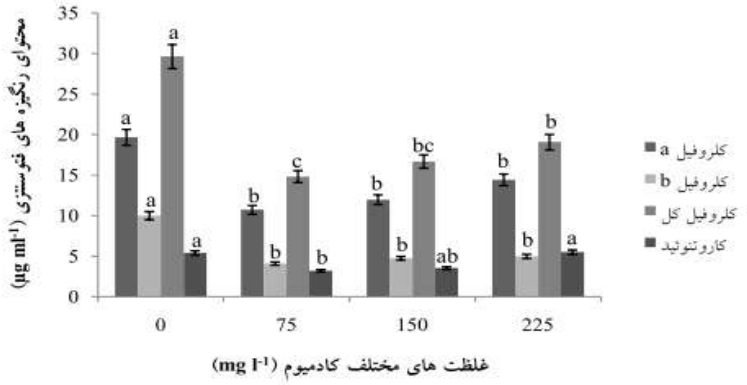
فعالیت دو آنزیم درگیر (پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) در سم‌زدایی تنش‌های اکسیداتیو، اندازه‌گیری شد. محاسبه میزان فعالیت آنزیمی مشخص کرد که فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز تنها در گیاهانی که در معرض غلظت ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم قرار گرفتند دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد است ($P \leq ۰/۰۵$). میزان فعالیت آنزیم از ۰/۰۰۲ واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در نمونه شاهد به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

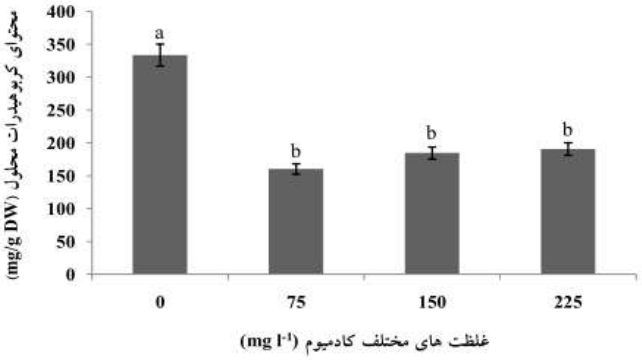
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]



شکل ۳- محتوای نسبی آب بافت (٪) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.



شکل ٤- محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.



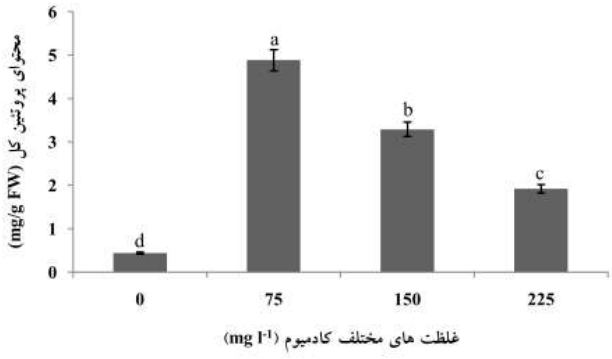
شکل ٥- محتوای کربوهیدرات‌های محلول تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.

۰/۰۲۸ واحد در نمونه تحت تیمار ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم رسید (شکل ۷). نتایج آزمون مقایسه‌ای دانکن نشان داد که کلریدکادمیوم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز اثر معنی‌دار نداشته است.

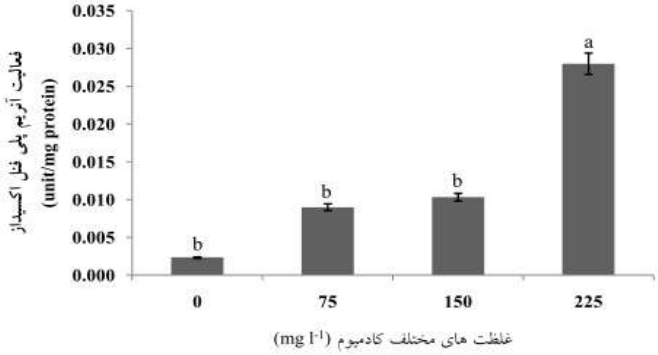
نتایج حاصل از بررسی الکتروفورزی پروتئین بذر: نیمرخ پروتئینی بذرهای گیاهان آلوده وشاهد به‌دست آمده از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]



شکل ٦- محتوای پروتئین کل تحت تأثیرغلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۷- فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.

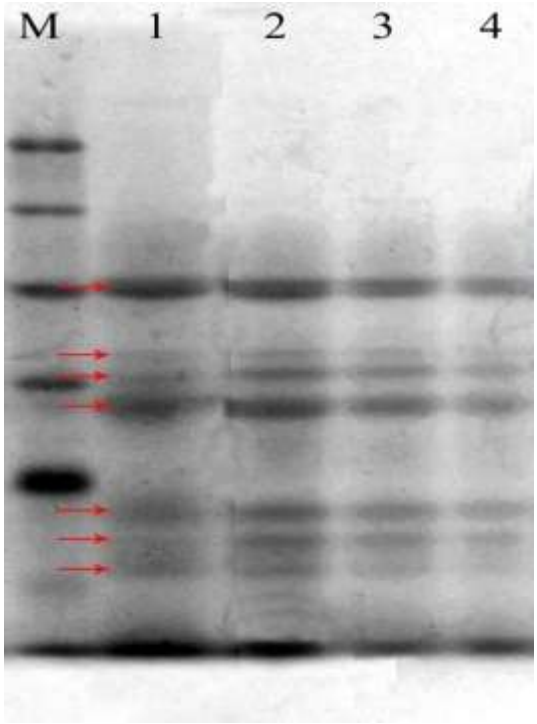
الکتروفورز به روش SDS-PAGE مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت. نتایج بررسی نیمرخ پروتئینی نشان داد که در نمونه‌های آلوده باندهای پروتئینی وجود دارد که در نیمرخ پروتئینی نمونه شاهد مشاهده نشد و همچنین تراکم و غلظت اکثر باندهای پروتئینی در نمونه‌های تیماری با ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم بیشتر از نمونه شاهد بود. در گروه تیماری ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم کاهش و از بین رفتن برخی ازاین باندها مشاهد شد (شکل ۸).

بحث

جو زمین به‌طور عمده از اکسیژن، نیتروژن و دی‌اکسیدکربن تشکیل شده است با این حال، توسعه سریع اقتصادی، شهرنشینی و صنعتی شدن در طول ۳-٤ دهه گذشته کیفیت اتمسفر را با انتشار آلاینده‌های مختلف، از جمله فلزات سنگین، به شدت تحت تأثیر قرار داده است. وجود سطوح بالای فلزات سنگین در محیط‌زیست به دلیل سمیت بالا و تمایل به انباشته‌سازی زیست‌محیطی و پایداری در اکوسیستم یک تهدید بالقوه برای سلامت انسان و اکوسیستم‌ها است(Goix *et al*., 2014; Su and Liang, 2015).

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم تیماری، مقدار کادمیوم جذب شده توسط اندام‌های هوایی افزایش یافت. به این معنی که کادمیوم اسپری شده بر روی برگ قادر به ورود به گیاه می‌باشد. قابلیت بخش‌های برگی گیاه برای جذب مواد غذایی، آب و فلزات در سال‌های گذشته نشان داده شده است (Fernandez and Eichert, 2009). برخلاف جذب ریشه‌ای فلزات (Shahid *et al*., 2014a) که به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]



شکل ۸- مقایسه نیمرخ الکتروفورزی پروتئین‌های بذر در گروه شاهد و تحت تیمار غلظت‌های مختلف کادمیوم. M: مارکر پروتئینی، ۱، ۲، ۳ و ٤ به ترتیب باندهای پروتئینی بذرهای گروه شاهد، تحت تیمار ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم. پیکان‌ها اختلاف در باندهای پروتئینی بین تیمارهای مختلف را نشان می‌دهند.

طور گسترده مطالعه شده است، اطلاعات کمتری در مورد جذب برگی فلزات از اتمسفر دردسترس است (Uzu *et al*., 2010; Tomasevic *et al*., 2005). جذب فلزات سنگین توسط سطوح برگی به واسطه روزنه‌ها، شکاف‌های کوتیکولی، عدسک‌ها و منافذ آبی صورت می‌گیرد.

مطالعات انجام شده نشان داد که کاربرد کادمیوم سبب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، NAR و مساحت سطح برگ شده است. کاهش رشد طولی ساقه در اثر تیمار فلزات سنگین در گیاهان مختلف نظیر گندم (Veselov *et al*., 2003)، سویا(Shute and Macfie, 2006)، جو (Tiryakioglu *et al*., 2006) و اطلسی (چهرگانی و همکاران، ۱۳۹٦) گزارش شده است. کاهش در وزن تر و خشک اندام هوایی در گوجه‌فرنگی (Lopez-Millan *et al*., 2009)، جو (Tiryakioglu *et al*., 2006) و لوبیا (Gouia *et al*., 2000) گزارش شده است. نتایج این مطالعات با یافته‌های پژوهش حاضر همسویی دارد. کادمیوم با ایجاد اختلال در فرآیندهایی نظیر فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن منجر به کاهش رشد و تولید زیست‌توده در گیاه می‌شود (Wang *et al*., 2008).

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش کادمیوم میزان محتوای نسبی آب بافت و پایداری غشا کاهش یافت. در سلول‌های برگ سمیت فلزات سنگین می‌تواند نفوذپذیری غشا پلاسمایی را تحت تأثیر قرار دهد که سبب کاهش در محتوای آب بافت می‌شود. به‌ویژه در مورد کادمیوم که تأثیر آن در برهم‌کنش با تعادل آبی گزارش شده است (Costa and Morel, 1994). تجمع پرولین و آمینواسیدهای آزاد در پاسخ به تنش کادمیوم دلیل مناسبی برای کاهش در میزان نسبی آب بافت و به‌وجود آوردن خشکی فیزیولوژیک در گیاه است (Barket *et al*., 2007).

پژوهش‌ها نشان داده‌اندکه تیمار کادمیوم تغییراتی در عملکردهای غشا از طریق القا پراکسیداسیون لیپید (Fodor *et al*., 1995)، اختلال در متابولیسم کلروپلاستی به‌وسیله‌ی ممانعت از بیوسنتز کلروفیل و کاهش در عملکرد آنزیم‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

درگیر در تثبیت CO_2 ایجاد می‌کند (De Filippis and Ziegler, 1993). انواع مختلفی از رنگدانه‌ها مانند کلروفیل، گزانتوفیل، کاروتنوئیدها و غیره در گیاهان وجود دارد. کلروفیل‌ها فراوان‌ترین و مهم‌ترین رنگدانه‌ها در گیاهان عالی هستند. در این تحقیق کاهش در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثر تیمار کادمیوم مشاهده شد. ایجاد اختلال در مراحل مختلف سنتز رنگیزه‌ها به‌وسیله‌ی فلزات سنگین از دلایل اصلی کاهش این رنگیزه‌ها تحت تیمار فلزات سنگین است (Vara Prasad and De Oliveira Freitas, 2003, Manios *et al*., 2003). در مطالعات چهرگانی و همکاران (۱۳۹۶) کاهش در مقادیر کلروفیل a، b و a+b در اثر تیمار سرب در گیاه اطلسی مشاهده شده است.

تیمار تاتوره با کادمیوم منجر به کاهش کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌های تاتوره گردید. کاهش در میزان قند موجود در برگ‌های گیاهان تحت تنش احتمالاً با مهار فتوسنتزی یا تحریک میزان تنفس همراه باشد. اثر منفی فلزات سنگین بر متابولیسم کربن ناشی از برهم‌کنش احتمالی با مرکز واکنشی ریبولوزبیس‌فسفات‌کربوکسیلاز است (Stiborova *et al*., 1987). کاهش معنی‌دار در مقدار قندهای احیاکننده در اثر تیمار کادمیوم و نیکل در گیاه *Tillandsia albida* مشاهده شده است (Kovacik*et al*., 2012).

بر اساس نتایج به‌دست آمده، تیمار کادمیوم محتوای پروتئین کل برگ و فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. کادمیوم تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان نداد. هنگامی که فلزات سنگین وارد سلول می‌شوند، گیاه از مکانیزم‌های مختلف دفاعی که بتواند با سمیت فلزات مواجه شود استفاده می‌کند. ممکن است بیش از یک مکانیسم دفاعی در یک گونه گیاهی وجود داشته باشد. این مکانیزم‌ها شامل کاهش جذب و انتقال فلز، القاء انتقال دهنده‌های ویژه فلزات سنگین، محدود کردن انباشته‌سازی در بافت حساس یا کده‌بندی در اندامک‌های تحمل‌کننده همانند واکوئل‌ها، تحریک فرآیندهای کنترل‌کننده اثرات سمی ROS (آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی)، تولید پروتئین‌های تنشی و سنتز مولکول‌های سیگنال‌دهی همانند اکسیدنیتریک و سالیسیلیک اسید می‌باشند. این مکانیسم‌ها به گیاهان کمک می‌کند تا آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو را کاهش دهند و سلول‌ها حالت احیا خود را حفظ کنند (Sabir *et al*., 2014; Shahid *et al*., 2014b; Shahid *et al*., 2016).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فعال‌سازی یا ممانعت از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نه‌تنها به شدت تنش و مدت زمان آن بلکه به نوع بافت و سن گیاه مورد نظر بستگی دارد (Sgherri *et al*., 2001). فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، یک استراتژی دفاعی طبیعی برای کنترل محتوای ROS با توجه به نیازهای متابولیکی سلول‌ها در یک زمان خاص است. فعال‌سازی این آنزیم‌ها تحت تنش فلزات سنگین به خوبی شناخته شده و در گیاهان مختلف گزارش شده است. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در *T. albida* تحت تیمار کادمیوم نشان می‌دهد که هوموستازی فلز سنگین در این گیاهان ممکن است به فعال شدن این آنزیم‌ها مرتبط باشد (Shahid *et al*., 2014c). تنوع در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون‌ردوکتاز، آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز مشاهده شده که این تنوع به غلظت کادمیوم و گونه گیاهی مورد استفاده بستگی دارد (Metwally *et al*., 2003; Balestrasse *et al*., 2001; Wu *et al*., 2003; Metwally *et al*., 2004). در بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با توجه به غلظت کادمیوم تیماری، اندام مورد استفاده و سن گیاه کاهش یا افزایش مشاهده شده است (Gallego *et al*., 1999; Groppa *et al*., 2001).

گزارش شده که پروتئین‌ها به‌طور مستقیم در پاسخ‌های گیاه به تنش‌ها شرکت می‌کنند و سازگاری گیاه با تنش فلزات سنگین همراه با تغییرات پروتئوم است (Singh *et al*., 2016). تغییرات در الگوهای پروتئینی (SDS-PAGE) و تشکیل باندهای جدید نیز در گیاهانی که تحت تأثیر آلودگی‌های محیط‌زیست قرار دارند گزارش شده است (Majd *et al*., 2004). همچنین نشان داده شده است که پروتئین‌های سم‌زدایی‌کننده جدید در پاسخ به اثرات آلاینده‌ها تولید می‌شوند (Chehregani and Kouhkan, 2008).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

در پژوهش حاضر در مطالعه نیمرخ الکتروفورزی بذرهای گروه‌های مختلف تیماری، بین گروه شاهد و گروه‌های تحت تیمار با کادمیوم اختلاف مشاهده شد که شامل پیدایش باندهای جدید، افزایش تراکم برخی از باندها و ناپدید شدن برخی دیگر می‌باشد. طبق نتایج مشاهده شده می‌توان چنین نتیجه گرفت که تنش کادمیوم منجر به افزایش سنتز پروتئین‌های طبیعی گیاه و همچنین موجب سنتز مولکول‌های پروتئینی جدید شده است که کلیه این تغییرات می‌تواند نوعی مقاومت‌سازی گیاه در برابر تنش‌های محیطی باشد و سبب حفظ سلامت گیاه در برابر اثر سمی کادمیوم شود .نتایج مشابهی در مورد اثر آلاینده‌های محیطی بر الگوی پروتئینی بذر لوبیا و دانه گرده طاووسی و اطلسی گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر همسو است (مجد و همکاران، ۱۳۸۲؛ چهرگانی و همکاران ۱۳۹۰؛چهرگانی و همکاران ۱۳۹٤).

نتیجه‌گیری

امروزه سطوح بالای آلودگی توسط فلزات سنگین از جمله کادمیوم در محیط‌زیست وجود دارد. در این پژوهش اثر تیمار اسپری برگی کادمیوم بر گیاه تاتوره به‌عنوان یک گیاه با کاربرد دارویی بررسی شد و نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف کادمیوم تأثیر سوء معنی‌داری بر خصوصیات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی تاتوره شامل: وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، مساحت سطح برگ، سرعت فتوسنتز خالص، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای کربوهیدارت‌های محلول داشت. در این آزمایش با افزایش غلظت کادمیوم، مقدار کمی تمام صفات فوق‌الذکر به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم، مقدار پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز افزایش یافت. براساس نتایج این پژوهش با وجود اثرات فوق، تاتوره مقاومت بالایی نسبت به آلودگی با کادمیوم دارد و می‌تواند تحت غلظت‌های بالای کادمیوم زنده بماند که به‌نظر می‌رسد با تغییرات آنزیمی و پروتئوم همراه است.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت‌های معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام شده است. مؤلفان مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاران محترم حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه اعلام می‌کنند.

منابع

چهرگانی، ع.، محسن‌زاده، ف. و حسینی روزبهانی، ش.(۱۳۹۰) بررسی اثرات سمی ذرات خروجی خودروهای دیزل بر برخی از فاکتورهای رشد و پاسخ‌های سلولی (تولیدپروتئین) در بذر و دانه گرده گیاه لوبیا. مجله علمی پژوهشی سلول و بافت ۱: ٦٦-٥٧.

چهرگانی، ع.، رمضانی، ح. و محسن‌زاده، ف.، بقایی‌فر، ز. و باب‌الحوائجی، ح. (۱۳۹٤) اثر کادمیوم بر مراحل تکوین و الگوی پروتئینی بساک و دانه‌های گرده گل اطلسی (*Petunia hybrida* Juss.). مجله سلول و بافت ٦: ۸٦-۷۱.

چهرگانی، ع.، فرزان، س. و شیرخانی، ز.(۱۳۹٦) مطالعه اثر تیمار سرب بر برخی شاخص‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه اطلسی. مجله پژوهش‌های گیاهی ایران، جلد ۳۰، (چاپ انلاین).

مجد، ا.، رضانژاد، ف.، معین، م. و امین‌زاده، م.(۱۳۸۲) اثر آلودگی هوا بر تکوین بساک، میکروسپورزایی، تکوین گرده و پروتئین‌های محلول گرده‌ای در گیاه طاووسی (*Spartium junceum*L.). مجله پژ.وهش وسازندگی در منابع طبیعی ٦۱. ۱۷-۱۰.

Balestrasse, K. B., Gardey, L., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2001) Response of antioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Functional Plant Biology 28:497-504.

Barber, J. L., Thomas, G. O., Kerstiens, G. and Jones, K. C. (2004) Current issues and uncertainties in the measurement and modelling of air–vegetation exchange and within-plant processing of POPs. Environmental Pollution 128:99-138.

Barket, A., Indu, R., Shamsul, H. and Aqil, A. (2007) Effect of 4-cl-indul-3-acetic acid on seed germination of *cicer arietinum* exposed to cadmium. Acta Botanical Croatica 66:57-65.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

Barr, H. and Weatherley, P. E. (1962) A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. Australian Journal of Biological Science 15: 28-39.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72:248-254.

Chehregani, A. and Kouhkan, F. (2008) Diesel exhaust particles and allergenicity of pollen grains of *Lilium martagon*. Ecotoxicology and Environmental Safety 69:568-573.

Chen, G., Zeng, G., Tang, L., Du, C., Jiang, X., Huang, G., Liu, H. and Shen, G. (2008) Cadmium removal from simulated wastewater to biomass byproduct of *Lentinus edodes*. Bioresource Technology 99:7034-7040.

Chmielewska, E. and Spiegel, H. (2003) Some control of an amplified heavy metal distribution at immission sites of Danube lowland refineries. Environment Protection Engineering 29:23-32.

Costa, G. and Morel, J. L. (1994) Water relations, gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce. Plant Physiology and Biochemistry 32:561-570.

De Filippis, L. and Ziegler, H. (1993) Effect of sublethal concentrations of zinc, cadmium and mercury on the photosynthetic carbon reduction cycle of Euglena. Journal of Plant Physiology 142:167-172.

Fernandez, V. and Brown, P. H. (2013) From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. Frontiers in plant science. Frontiers in Plant Science 4: 289.

Fernandez, V. and Eichert, T. (2009) Uptake of hydrophilic solutes through plant leaves: current state of knowledge and perspectives of foliar fertilization. Critical Reviews in Plant Sciences 28:36-68.

Fodor, E., Szabo-Nagy, A. and Erdei, L. (1995) The effects of cadmium on the fluidity and H^+-ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. Journal of Plant Physiology 147:87-92.

Gallego, S., Benavides, M. and Tomaro, M. (1999) Effect of cadmium ions on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. Biologia Plantarum 42:49-55.

Gisbert, C., Ros, R., De Haro, A., Walker, D. J., Bernal, M. P., Serrano, R. and Navarro-Avino, J. (2003) A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. Biochemical and Biophysical Research Communications 303:440-445.

Goix, S., Leveque, T., Xiong, T. T., Schreck, E., Baeza-Squiban, A., Geret, F., Uzu, G., Austruy, A. and Dumat, C. (2014) Environmental and health impacts of fine and ultrafine metallic particles: assessment of threat scores. Environmental Research 133:185-194.

Gouia, H., Ghorbal, M. H. and Meyer, C. (2000) Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiology and Biochemistry 38:629-638.

Groppa, M. a. D., Tomaro, M. a. L. and Benavides, M. a. P. (2001) Polyamines as protectors against cadmium or copper-induced oxidative damage in sunflower leaf discs. Plant Science 161:481-488.

Hames, B. D. (1998) Gel electrophoresis of proteins: a practical approach. OUP Oxford, London.

Handson, P. D. (1984) Lead and arsenic levels in wines produced from vineyards where lead arsenate sprays are used for caterpillar control. Journal of the Science of Food and Agriculture 35:215-218.

Honour, S. L., Bell, J. N. B., Ashenden, T. W., Cape, J. N. and Power, S. A. (2009) Responses of herbaceous plants to urban air pollution: effects on growth, phenology and leaf surface characteristics. Environmental Pollution 157:1279-1286.

Jakab, G., Ton, J., Flors, V., Zimmerli, L., Metraux, J. P. and Mauch-Mani, B. (2005) Enhancing Arabidopsis salt and drought stress tolerance by chemical priming for its abscisic acid responses. Plant Physiology 139:267-274.

Jiang, Y. M. (1999) Purification and some properties of polyphenol oxidase of longan fruit. Food Chemistry 66:75-79.

Khan, A. L., Waqas, M., Hamayun, M., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A. and Lee, I. J. (2013) Co-synergism of endophyte *Penicillium resedanum* LK6 with salicylic acid helped *Capsicum annuum* in biomass recovery and osmotic stress mitigation. BMC Microbiology 13:51.

Kochert, G. (1978) Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. Handbook of phycological methods 2:95-97.

Kovacik, J., Klejdus, B., Stork, F. and Hedbavny, J. (2012) Physiological responses of *Tillandsia albida* (Bromeliaceae) to long-term foliar metal application. Journal of Hazardous Materials 239:175-182.

Levi, E., Dalschaert, X. and Wilmer, J. (1973) Retention and absorption of foliar applied Cr. Plant and Soil 38:683-686.

Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry 1: 431-438.

Liu, W., Fang, J., Zhu, W. M. and Gao, P. J. (1999) Isolation ,purification and properties of the peroxidase from the hull of *Glycine max* var HH2. Journal of the Science of Food and Agriculture 79:779-785.

Lopez-Millan, A. F., Sagardoy, R., Solanas, M., Abadia, A. and Abadia, J. (2009) Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in hydroponics. Environmental and Experimental Botany 65:376-385.

Madany, I. M., Ali, S. M. and Akhter, M. S. (1990) Assessment of lead in roadside vegetation in Bahrain. Environment International 16:123-126.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

Majd, A., Chehregani, A., Moin, M., Gholami, M., Kohno, S., Nabe, T. and Shariatzade, M. (2004) The effects of air pollution on structures, proteins and allergenicity of pollen grains. Aerobiologia 20:111-118.

Manios, T., Stentiford, E. I. and Millner, P. A. (2003) The effect of heavy metals accumulation on the chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in a substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferus water. Ecological Engineering 20:65-74.

Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K. J. (2003) Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiology 132:272-281.

Metwally, A., Safronova, V. I., Belimov, A. A. and Dietz, K. J. (2004) Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. Journal of Experimental Botany 56:167-178.

Nouairi, I., Ammar, W. B., Youssef, N. B., Daoud, D. B. M., Ghorbal, M. H. and Zarrouk, M. (2006) Comparative study of cadmium effects on membrane lipid composition of *Brassica juncea* and *Brassica napus* leaves. Plant Science 170:511-519.

Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P. and Pinelli, E. (2011) Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer, Berlin.

Sabir, M., Waraich, E. A., Hakeem, K. R., Oztürk, M., Ahmad, H. R. and Shahid, M. (2014) Phytoremediation: mechanisms and adaptations. Soil Remediation and Plants: Prospects and Challenges 85:85-105.

Sairam, R. (1994) Effect of moisture-stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. Indian Journal of Experimental Biology 32:594-594.

Schreck, E., Foucault, Y., Sarret, G., Sobanska, S., Cecillon, L., Castrec-Rouelle, M., Uzu, G. and Dumat, C. (2012) Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: mechanisms involved for lead. Science of the Total Environment 427:253-262.

Schreck, E., Laplanche, C., Le Guedard, M., Bessoule, J. J., Austruy, A., Xiong, T., Foucault, Y. and Dumat, C. (2013) Influence of fine process particles enriched with metals and metalloids on *Lactuca sativa* L. leaf fatty acid composition following air and/or soil-plant field exposure. Environmental Pollution 179:242-249.

Sgherri, C., Milone, M. T. A., Clijsters, H. and Navari-Izzo, F. (2001) Antioxidative enzymes in two wheat cultivars, differently sensitive to drought and subjected to subsymptomatic copper doses. Journal of Plant Physiology 158:1439-1447.

Shahid, M., Austruy, A., Echevarria, G., Arshad, M., Sanaullah, M., Aslam, M., Nadeem, M., Nasim, W. and Dumat, C. (2014a) EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metals: a review. Soil and Sediment Contamination: An International Journal 23:389-416.

Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Niazi, N. K. and Antunes, P. M. (2016) Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer, New New York.

Shahid, M., Pinelli, E., Pourrut, B. and Dumat, C. (2014b) Effect of organic ligands on lead-induced oxidative damage and enhanced antioxidant defense in the leaves of *Vicia faba* plants. Journal of Geochemical Exploration 144:282-289.

Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., Nadeem, M., Aslam, M. and Pinelli, E. (2014c) Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 232: 1-44.

Shute, T. and Macfie, S. M. (2006) Cadmium and zinc accumulation in soybean: A threat to food safety ?. Science of the Total Environment 371:63-73.

Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V. P. and Prasad, S. M. (2016) Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics Frontiers in plant science. Frontiers in Plant Science 6:1143.

Stiborova ,M., Ditrichova, M. and Brezinova, A. (1987) Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley and maize seedlings. Biologia Plantarum 29:453.

Stingu, A., Volf, I. and Popa, V. I. (2009) Study of copper and cadmium accumulation by bean. Environmental Engineering and Management Journal 5:1247-1252.

Su, Y. and Liang, Y. (2015) Foliar uptake and translocation of formaldehyde with Bracket plants (*Chlorophytum comosum*). Journal of Hazardous Materials 291:120-128.

T Vu, D., Huang, L., V Nguyen, A., Du, Y., Xu, Z., A Hampton, M., Li, P. and Rudolph, V. (2013) Quantitative methods for estimating foliar uptake of zinc from suspension-based Zn chemicals. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 176:764-775.

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.

Tomasevic, M., Vukmirovic, Z ,.Rajsic, S., Tasic, M. and Stevanovic, B. (2005) Characterization of trace metal particles deposited on some deciduous tree leaves in an urban area. Chemosphere 61:753-760.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

Tudoreanu, L. and Phillips, C. (2004) Modeling cadmium uptake and accumulation in plants. Advances in agronomy 84:121-157.

Uzu, G., Sobanska, S., Sarret, G., Munoz, M. and Dumat, C. (2010) Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts. Environmental Science and Technology 44:1036-1042.

Vara Prasad, M. N. and De Oliveira Freitas, H. M. (2003) Metal hyperaccumulation in plants: biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology 6:285-321.

Veselov, D., Kudoyarova, G., Symonyan, M. and Veselov, S. (2003) Effect of cadmium on ion uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seedlings. Bulgarian Journal of Plant Physiology 29:353-359.

Wang, L., Zhou, Q., Ding, L. and Sun, Y. (2008) Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of *Solanum nigrum* L. as a newly found cadmium hyperaccumulator. Journal of Hazardous Materials 154:818-825.

Williams, R. (1946) The physiology of plant growth with special reference to the concept of net assimilation rate. Annals of Botany 10:41-72.

Wojcik, P. (2004) Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research 12: 201-218.

Wu, F., Zhang, G. and Dominy, P. (2003) Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity. Environmental and Experimental Botany 50:67-78.

Xiong, T.-T., Leveque, T., Austruy, A., Goix, S., Schreck, E., Dappe, V., Sobanska, S., Foucault, Y. and Dumat, C. (2014) Foliar uptake and metal (loid) bioaccessibility in vegetables exposed to particulate matter. Environmental Geochemistry and Health 36:897-909.

Xu, P. and Wang, Z. (2014) A comparison study in cadmium tolerance and accumulation in two cool-season turfgrasses and *Solanum nigrum* L. Water, Air, and Soil Pollution 225:1-9.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]

Morphological and physiological responses of *Datura stramonium* L. to cadmium toxicity

Zohreh Shirkhani[1], Abdolkarim Chehregani Rad[1*], Mansour Gholami[c2], Fariba Mohsenzadeh[1]

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
[2]Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
(Received: 40/03/2018, Accepted: 13/05/2018)

Abstract

Heavy metals are emitted into the atmosphere by various anthropogenic sources. In the present study, the effects of different concentrations of cadmium (0, 75, 150 and 225 $mg.l^{-1}$) were examined on certain morphological and physiological parameters in *Datura stramonium* L. The results showed that in the group treated with 225 $mg.l^{-1}$ of Cd, fresh and dry weight of shoot, shoot length, leaf area, net assimilation rate, cell membrane stability index, relative water content of tissue decreased 36.5, 11.75, 11.95, 63.75, 4.28, 25 and 11.29 percent respectively. The number of photosynthetic pigments and soluble carbohydrate content in the Cd-treated plants were decreased in comparison to the control ones, while a significant increase was observed in the total protein content and activity of the polyphenol oxidase enzyme. The seed protein profiles showed the formation of new bands and increase in the density of some bands in Cd-treated plants could be related to the synthesis of cell detoxification proteins. A decrease in total protein and number of protein bands was observed in the group treated with 225 $mg.l^{-1}$ of Cd in comparison to the other Cd treatments, which was probably caused by the toxication of the translation machinery. The results of this study indicated that, although the plant did not need this heavy element, Cd had detrimental effects on *D. stramonium* and Cd uptake leading to negative effects on their function. It seemed that *D. stramonium* was able to resist the damages caused by Cd toxicity, via altering some physiological parameters and changing the protein pattern.

Keywords: Cadmium, *Datura stramonium* L., Foliar uptake, Morphological parameters, Physiological parameters.

Corresponding author, Email: chehregani@basu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.25.3]