Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

بررسی اثر تجمع کادمیوم بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

کیوان آقائی[1*]، بهاره راه خسروانی[1]، لیلا مغانلو[1] و علی اکبر قطبی راوندی[2]

[1] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، [2] دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۱/۲٤)

چکیده:

گیاه ریحان در برخی از مناطق در زنجان کشت می‌شود که آلوده به فلزات سنگین از جمله فلز سمی کادمیوم است. لذا این تحقیق با هدف بررسی میزان انباشت‌سازی این فلز در گیاه و اثر آن بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انجام گرفت. بذرها در شرایط کشت هیدروپونیک درون گلدان‌هایی حاوی پرلیت و محیط‌کشت هوگلند کشت گردیدند و پس از رسیدن به رشد کافی به‌مدت دو هفته تحت تیمار کادمیوم نیترات با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲، ٤ و ۸ میلی‌مولار قرار گرفتند. نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه و ساقه، طول ریشه و ساقه و سطح برگ گیاه تحت تنش کادمیوم در همه غلظت‌ها نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت. همچنین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تیمار ۸ میلی‌مولار بیشترین کاهش را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. میزان پروتئین‌های محلول، پرولین و قندهای محلول در ریشه و اندام هوایی گیاهان تحت تیمار نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه و اندام هوایی گیاهان تیمارشده با کادمیوم نسبت به شاهد کاهش یافت در حالیکه فعالیت آنزیم پراکسیداز در همه تیمارهای کادمیوم افزایش نشان داد. میزان کادمیوم تجمع‌یافته در ریشه حدود سه برابر مقدار آن در اندام هوایی در تیمار ۸ میلی‌مولار بود. به‌طور کلی می‌توان گفت که گیاهچه‌های ریحان با استفاده از افزایش فعالیت پراکسیداز، غلظت پرولین، قندهای محلول و پروتئین‌های محلول در برابر تنش ناشی از تجمع فلز سنگین کادمیوم کمی مقاومت نشان می‌دهند اما نمی‌توانند از ورود مقادیر بالای کادمیوم به ریشه و به‌خصوص بخش‌های هوایی جلوگیری کنند که این امر موجب آلودگی آنها می‌شود.

کلمات کلیدی: سبزیجات، فلزات سنگین، کادمیوم نیترات، گیاهان دارویی

مقدمه

ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* L. گیاهی است یک ساله و علفی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) که یکی از سبزیجات مهم خوراکی و دارویی با اهمیت است (Javanmardi *et al*., 2002). این گیاه در درمان بیماری‌هایی چون سردرد، سرفه، اسهال، انگل‌ها، زگیل‌ها، ناراحتی‌های کلیوی و همچنین برای مداوای بزرگ‌شدن طحال مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین در طب سنتی از برگ‌ها و نوک گل‌های ریحان به‌عنوان ضدنفخ، افزایش‌دهنده شیر، درمان برخی ناراحتی‌های قلبی، اشتهاآور و داروی گیاهی ضدتشنج هم استفاده شده است (قربانی نهوجی و همکاران، ۱۳۹۳). ریحان به‌همراه چند گیاه خوراکی دیگر هر روزه به‌صورت سبزیجات

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: keyvanaghaei@znu.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

تازه توسط ما ایرانی‌ها مصرف می‌شود بنابراین اطمینان از سلامت آن از نظر محتوای غذایی از اهمیت بالایی برخوردار است. اگر چه تحقیقات زیادی در زمینه‌های مختلف بر روی این گیاه انجام شده است اما میزان تجمع فلزات سنگین و از جمله کادمیوم در اندام‌های مختلف ریشه و ساقه و برگ این گیاه و راهکارهای فیزیولوژیکی گیاه در مقابل این تنش کمتر مورد بررسی قرار گرفته است.

تنش ناشی از تجمع فلزات سنگین از جمله تنش‌های محیطی به‌شمار می‌رود که گسترش وسیعی در دنیا داشته و اثرات نامطلوبی را در گیاهان تحت تنش دارد و چون این فلزات تخریب نمی‌شوند و تمایل زیادی به انباشت‌شدن در اندام‌های زیستی دارند چه با مصرف دام‌ها و از طریق ورود به زنجیره غذایی و چه با مصرف مستقیم توسط انسان اثرات مخرب خود را اعمال می‌کنند و از این نظر دارای اثرات زیانبار زیست‌محیطی هستند. گیاهان حتی اگر بتوانند در شرایط تنشی ناشی از فلزات سنگین زنده هم بمانند ضمن اینکه از جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی، رشدی و نموی تحت تأثیر قرار گرفته و درنهایت بازده تولید و کیفیت آنها به‌شدت کاهش می‌یابد و مواد تجمع‌یافته خود را در زنجیره غذایی ما وارد می‌نمایند. (Ahmad and Prasad, 2012).

فلزات سنگینی مانند روی، نیکل و مس چون در ساختار آنزیم‌ها و رنگدانه ها شرکت می‌کنند و جزء عناصر ضروری محسوب می‌شوند تنها در صورتیکه غلظت آنها از حد خاصی بالاتر برود برای گیاهان سمی محسوب می‌شوند اما فلزات سنگینی مانند کادمیوم، سرب، جیوه و غیره که غیرضروری هستند به هر مقدار که وارد گیاهان شوند اثرات سمی و مخربی برجای خواهند گذاشت (بارنده و کاوسی، ۱۳۹۵). از بین فلزات سنگین غیرضروری، کادمیوم به‌علت حلالیت بالا در آب و جذب سریع توسط ریشه به‌سرعت وارد ریشه و اندام‌های هوایی شده و بر تقسیم و رشد سلول‌ها در منطقه مریستمی اثر گذاشته و موجب تأخیر در رشد می‌شود و از این نظر از سمیت بیشتری نسبت به بقیه فلزات سنگین برخوردار است (Liu *et al.*, 2003) منابع مختلف شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند. همچنین استفاده از کودهای شیمیایی، مخصوصاً کودهای فسفاته مقدار این عنصر را در خاک افزایش می‌دهد (Baryla *et al.*, 2001; Mejare and Bulow, 2001). کادمیوم به‌راحتی توسط گیاهان جذب می‌شود و وارد زنجیره غذایی شده و موجب واردآمدن آسیب‌های جدی به سلامت انسان می‌شود. برای مثال کسانی که از برنج دارای کادمیوم بالا استفاده می‌کنند از نوعی بیماری کلیوی به نام Renal Tubular Disease رنج می‌برند (Dong *et al.*, 2005). اثر کادمیوم بر تجمع آن در اندام‌های مختلف و نیز بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشمیایی مورد مطالعه در این تحقیق بر روی گیاهان مختلف دیگری انجام شده است. در اغلب گونه‌های گیاهی کادمیوم علاوه بر اینکه در ریشه تجمع می‌یابد به برگ‌ها نیز منتقل می‌شود (Ramos *et al.*, 2002; Hegedus *et al.*, 2001). در تحقیقی بر روی گیاه *Eruca sativa* اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر صفاتی از قبیل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، وزن خشک و محتوای آب و نیز تجمع کادمیوم در ریشه و اندام هوایی مورد بررسی قرار گرفت (Ozdener, 2016). همچنین مشخص گردید که کادمیوم در غلظت‌های بالاتر از ۱۰ میلی‌مولار موجب کاهش میزان کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها و پروتئین‌های محلول در گیاهان جو شد در حالیکه میزان قندهای محلول و پرولین را افزایش داد (Gubrelay *et al.*, 2013). در مطالعه‌ای دیگر بر روی گیاه تربچه اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان تجمع کادمیوم در اندام‌های ریشه و برگ و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد بررسی قرار گرفت (Li *et al.*, 2018).

با توجه به وجود معادن فلزات سنگین در شهرستان‌های زنجان از جمله زنجان و ماهنشان و انتقال این فلزات سنگین از طریق روان آب‌ها به ارضی پایین دست، انواع مختلف فلزات سنگین از جمله کادمیوم، روی، سرب، جیوه، مس، آلومینیوم و غیره در خاک‌های آلوده از جمله در خاک‌های آلوده زنجان وجود دارند و یکی از فراوان‌ترین آنها در خاک‌های آلوده زنجان کادمیوم است (حاجی سلطانی و همکاران، ۱۳۸۹؛ موفق

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

و همکاران، ۱۳۹۰). بررسی اثرات هر یک از این عناصر فلزی بر گیاهان مختلف کاشته‌شده در زمین‌های آلوده در جای خود اهمیت زیادی دارد که در یک برنامه تحقیقاتی وسیع در دانشگاه زنجان در حال انجام است که نتایج آن به‌تدریج درحال انتشار است که در این پژوهش به نتایج مربوط به کادمیوم پرداخته می‌شود. بررسی‌های قبلی نشان داد بسیاری از مناطق تحت کشت سبزیجات از جمله ریحان در زنجان که مصرف گسترده‌ای در بین مردم دارد آلوده به فلزات سنگین از جمله فلز کادمیوم است (آقائی و همکاران، ۱۳۹۳) حال آنکه میزان تجمع کادمیوم در ریشه یا ساقه گیاهان ریحان در مناطق آلوده چقدر است و اینکه آیا گیاه ریحان تا چه حد می‌تواند از انتقال کادمیوم به بخش‌های هوایی جلوگیری کند و با وجود کشت در این مناطق همچنان قابل استفاده باشد یا خیر باید مورد بررسی دقیق قرار می‌گرفت. لذا به‌منظور بررسی میزان تجمع این فلز سنگین و مضر در اندام‌های رویشی ریشه و اندام‌های هوایی و نیز بررسی نوع و شدت اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آن در گیاهان تحت تنش که بر میزان تولید و کیفیت تولید آن اثرگذار هستند تحقیق زیر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد و سپس با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی گردید. در هر گلدان پلاستیکی (ارتفاع ۱۳/۵ و قطر ۱۶ سانتی‌متر) از پرلیت‌های اتوکلاوشده به ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر ریخته شد و ۲۰ عدد بذر گیاه ریحان با فواصل یک سانتی‌متری قرار داده شد و روی بذرها نیم سانتی‌متر پرلیت ریخته شد و گلدان‌ها درون زیرگلدانی‌های غیرشفاف یکبار مصرف قرار داده شدند. زیرگلدانی‌ها با ۴۰۰ میلی‌لیتر محیط هوگلند با نصف غلظت آبیاری شدند و به اتاق رشد با فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه منتقل گردیدند. دما در دوره‌های نور و تاریکی به‌ترتیب ۲۵ و۲۲ درجه سانتی‌گراد بود. گلدان‌ها هر روز بررسی‌شده و در صورت کاهش محیط‌کشت هوگلند به میزان مورد نیاز به زیرگلدان‌ها محیط‌کشت اضافه می‌شد. گلدان‌ها در این شرایط به‌مدت حدود سه هفته تا رسیدن به مرحله چهار تا شش برگی نگهداری شدند.

تیمار فلز سنگین کادمیوم: تیمار فلز کادمیوم ($Cd\ (No_3)_2.4H_2O$) در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲، ٤ و۸ میلی‌مولار در محلول هوگلند با نصف غلظت با pH ٦/٥ تهیه گردید. برای جلوگیری از افزایش غلظت نیترات در محیط‌کشت، در هنگام تهیه محیط‌کشت هوگلند به‌جای استفاده از KNO_3 از KCl و به‌جای 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 به دلیل تبخیر سطحی محیط‌کشت مایع، محیط‌کشت حاوی کادمیوم به‌میزان ٤۰۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان به درون زیرگلدانی‌ها ریخته شد. هر روز محلول‌ها بررسی و کمبود محلول‌های تیمار زیرگلدانی‌ها با آب‌مقطر جایگزین می‌گردید. تیماردهی دو هفته به طول انجامید. هر تیمار دارای چهار تکرار بود و هر گلدان درنهایت دارای شش بوته گیاه ریحان بود.

اندازه‌گیری وزن خشک: توزین وزن خشک ریشه و اندام هوایی کل گیاهان با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها، پس از جداسازی ریشه و اندام هوایی، نمونه‌ها به‌مدت ٤۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

اندازه‌گیری سطح برگ: از هر گلدان یک بوته به‌طور تصادفی انتخاب شد و تمام برگ‌ها بر روی کاغذ شطرنجی قرار داده شد و از آنها کپی کاغذی تهیه و سپس مساحت برگ‌ها با شمارش مربعات کوچک برحسب سانتی‌متر مربع محاسبه گردید.

اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه: برای اندازه‌گیری طول ساقه، پس از خارج‌کردن بوته‌ها از گلدان ابتدا ریشه و ساقه از هم جدا شدند سپس بوسیله خط‌کش طول آنها اندازه‌گیری و بر حسب سانتی‌متر گزارش شد.

اندازه‌گیری مقدار پرولین: مقدار پرولین با استفاده از

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

معرف نین‌هیدرین و براساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در این روش از معرف نین‌هیدرین و استیک اسید گلاسیال برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید.

اندازه‌گیری مقدار پروتئین‌های محلول: اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های محلول به روش Bradford (1976) انجام شد. به۵۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی ۲/۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه گردید و پس از مخلوط‌شدن جذب محلول در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده‌شد.

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی: اندازه‌گیری کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Arnon (1967) انجام شد. ۰/۱ گرم بافت تازه در ۸ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. جذب محلول حاصل به‌طور جداگانه در طول‌موج ٦٦٣ نانومتر برای کلروفیل a و ٦٤٥ نانومتر برای کلروفیل b و ٤٧٠ نانومتر برای کاروتنوئیدها خوانده شد. غلظت رنگیزه‌ها (mg/g.FW) براساس روابط زیر محاسبه شد.

Chlorophyll a= $(19.3A_{663}-0.86A_{645})$ V/1000W
Chlorophyll b= $(19.3A_{645}-3.6A_{663})$ V/1000W
Carotenoids = $100(A_{470}) - 3.27$ (mg chl a) –104 (mg chl b)/227

A: جذب در طول‌موج ذکرشده در اسپکتروفتومتر، V: حجم عصاره استخراج‌شده، W: وزن تر بافت مورد استفاده برای استخراج عصاره.

اندازه‌گیری 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 در۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد ساییده و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٦٠ دقیقه قرار گرفت تا کربوهیدارت‌ها استخراج شوند. عصاره حاصل صاف شد و سسپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر حل گردید. ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد و ۵ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط‌شدن به‌مدت ۱۷ دقیقه در بن‌ماری ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از سردشدن، جذب نمونه‌ها در ٦٢٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Beckman, Fullerton, CA) خوانده شد. برای محاسبه قند از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر وزن تر ارائه گردید.

اندازه‌گیری میزان تجمع کادمیوم: به نمونه‌های خشک پودرشده نیتریک اسید غلیظ اضافه شد و به‌مدت ۱۲ ساعت محلول استراحت داده شد و در مرحله بعد ۳ تا ٤ ساعت در بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد، سپس به عصاره‌ها آب اکسیژنه اضافه شد تا محلول شفافی به‌دست آید و بعد از آن عصاره با کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف شد. در نهایت محلول‌ها با استفاده از آب‌مقطر به حجم مورد نظر رسیدند. اندازه‌گیری غلظت عناصر در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله (Varian 240) انجام گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: برای استخراج عصاره آنزیمی ۰/۵ گرم بافت نمونه تازه با نیتروژن مایع ساییده شده و در سانتریفیوژ یخچال‌دار به‌مدت۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و با دور rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس محلول رویی جدا شده و دوباره در همین شرایط به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌روش (Sariri *et al.*, 2006) عمل شد و محلول بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=7 تهیه شد. برای تهیه سل نمونه، ٤٧٥ میکرولیتر هیدروژن پراکسید و ٤٧٥ میکرولیتر فنل آمینو آنتی پیرین وسپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی صاف‌شده در کووت ریخته شد و تغییرات جذب بر زمان در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر در مدت زمان ۱۲۰ ثانیه با اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز بافر ۲۵ میلی‌مولار حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و هیدروژن پراکسید ۱۰ میلی‌مولار تهیه شد و برای تهیه سل نمونه به ۹۷۵ میکرولیتر گهرمایه هیدروژن پراکسید ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و تغییرات جذب بر زمان در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر در مدت زمان ۱۲۰ ثانیه با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 18 و مقایسه میانگین‌ها با

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

آزمون دانکن انجام شد و نمودارها با استفاده از Excel 2010 رسم شدند.

نتایج و بحث

بررسی میزان تجمع کادمیوم در اندام هوایی و ریشه: مطابق شکل۱ با افزایش غلظت کادمیوم در محیط‌کشت میزان این عنصر در ریشه و ساقه افزایش یافت که این افزایش در ریشه بسیار بیشتر از ساقه بود. به‌طوریکه در غلظت ۸ میلی‌مولار میزان کادمیوم در ریشه بیش از سه برابر آن در ساقه رسید.

پتانسیل سمیت فلزات سنگین در محیط، بستگی به غلظت آنها در محلول خاک دارد. هرچه غلظت فلز در فاز محلول بیشتر باشد جذب آن توسط گیاه بیشتر خواهد بود (Fuentes *et al.*, 2006). تجمع کادمیوم به‌میزان زیاد در ریشه‌ها می‌تواند یک نکته مثبت تلقی شود چون این امر احتمالاً مانعی برای انتقال بیشتر آن به اندام‌های هوایی و بخش‌هایی از گیاه است که استفاده غذایی دارد. به احتمال زیاد یکی از مهم‌ترین دلایل تجمع بیشتر کادمیوم در ریشه گیاهان مورد بررسی در این پژوهش در مقایسه با اندام هوایی، ورود این عنصر در فضای آپوپلاستی ریشه است که به‌راحتی به‌همراه محلول غذایی و بدون مواجه‌شدن با سد حلقه کاسپاری تا نزدیکی لایه آندودرم در عمق بافت ریشه نفوذ می‌کند و با شستشوی سطحی نیز برطرف نمی‌شود. خوشبختانه ریشه گیاه ریحان مورد استفاده قرار نمی‌گیرد و توانایی این گیاه در کنترل ورود مقادیر زیادی از کادمیوم از طریق ریشه به اندام هوایی می‌تواند به‌عنوان نکته مثبت عملکرد این گیاه در شرایط آلوده تلقی شود. هر چند که مقادیر انتقال‌یافته به بخش هوایی در این گیاه نیز قابل توجه بوده و مضرات زیادی دارد. در گیاهان اصولاً انتقال یون‌ها از طریق غشای سلولی توسط پروتئین‌هایی به نام ترانسپورترها (حمل‌کننده‌های یونی) میانجی‌گری می‌شود. این ترانسپورترها انتقال‌دهنده یک یون خاص بوده و به‌صورت اختصاصی عمل می‌کنند. قسمت اعظم این یون‌ها به‌طور فیزیکی جذب دیواره سلولی می‌شوند. یکی دیگر از دلایل افزایش میزان کادمیوم در ریشه گیاهان مورد تحقیق ممکن است تجمع آنها در واکوئل‌ها باشد. تجمع این عناصر در واکوئل‌های سلولی مانع انتقال آنها به قسمت‌های هوایی شده و به‌همین دلیل مقدار این عنصر در ریشه بیشتر از اندام هوایی است (Ramos *et al.*, 2002).

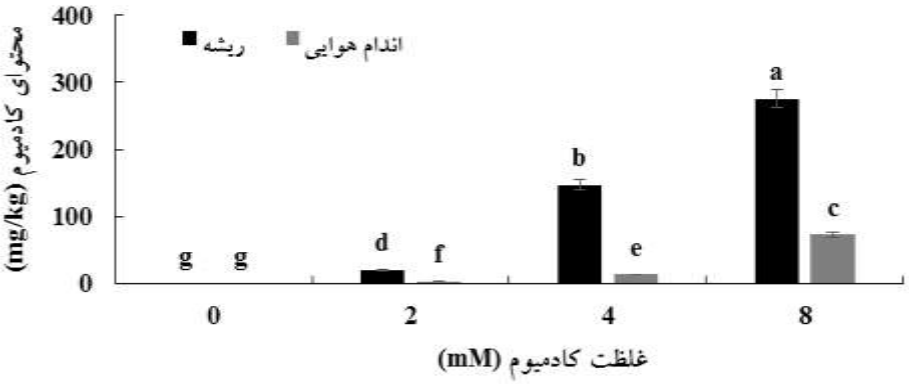
اثر کادمیوم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی: داده‌های حاصل از اثر کادمیوم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاه مورد آزمایش، نشان داد که تنش موجب کاهش وزن خشک نسبت به گیاه شاهد در تمام تیمارها بجز تیمار ۲ میلی‌مولار شد (شکل ۲). به‌طوریکه در تیمار ۸ میلی‌مولار، وزن خشک اندام هوایی ۷۶/۸ درصد و وزن خشک ریشه ۷۵/۲ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد.

اثر کادمیوم بر طول ریشه، طول ساقه و سطح برگ: کادمیوم در تمام غلظت‌ها موجب کاهش طول این اندام‌ها در مقایسه با گیاهان شاهد شد. به‌طوریکه در تیمار ۸ میلی‌مولار طول اندام هوایی۴۶ درصد و طول ریشه ۴۹/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد (شکل ۳). همچنین سطح برگ در گیاهان تحت تیمار کاهش یافت که بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۸ میلی‌مولار کادمیوم به‌میزان ۳۶/۳ درصد بود (شکل ٤).

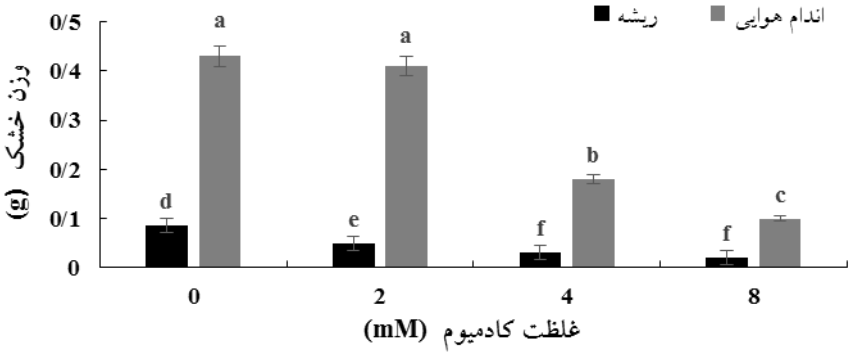
به‌نظر می‌رسد کاهش وزن خشک گیاه به‌دلیل اختلال در فعالیت آنزیم‌ها و مهار فتوسنتز (Moradoghlu *et al.*, 2015) و اختلال در بیوسنتز رنگدانه‌های کلروفیلی (Khatibi *et al.*, 2008) باشد که از اثرات احتمالی کادمیوم بر رشد گیاه هستند. اثر جذب کادمیوم در کاهش رشد ریشه نیز موجب کاهش جذب آب و مواد غذایی و درنتیجه کاهش تنفس و فرایندهای متابولیکی شده است که قبلاً نیز توسط سایر محققین گزارش شده است (Chen *et al.*, 2003). Talatam و همکارانش (۲۰۰۹) نیز کاهش وزن خشک گیاه اسفناج را در پی افزایش غلظت کادمیوم در محیط‌کشت گزارش کردند و اظهار داشتند که این کاهش می‌تواند به‌دلیل اثرات منفی کادمیوم بر روی مکانیسم تولید انرژی در میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها باشد (Talatam and Parida, 2009). در گیاه شب‌بو نیز افزایش میزان کادمیوم موجب کاهش معنی‌داری در وزن خشک بخش هوایی در گیاهان تحت تیمار شد (Ghaderian and Jamali Hajiani, 2010).

بررسی تغییرات طول ریشه و اندام هوایی گیاه در پاسخ به

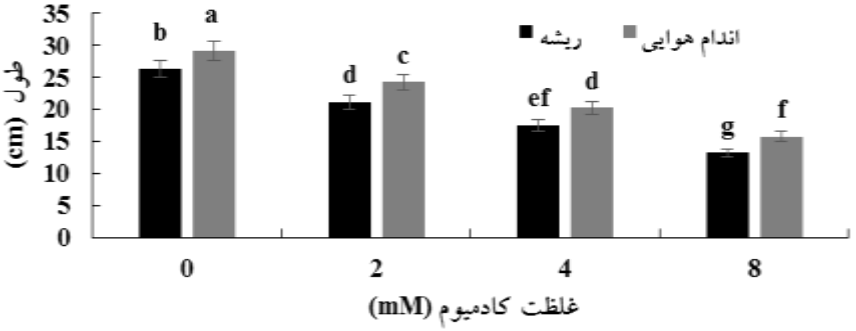
Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان تجمع این فلز در ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.



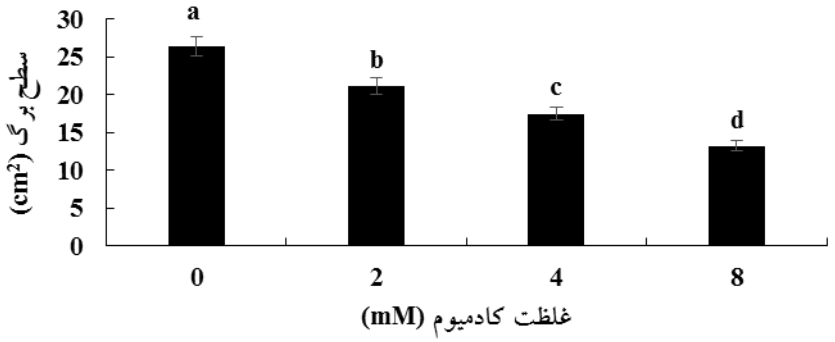
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.



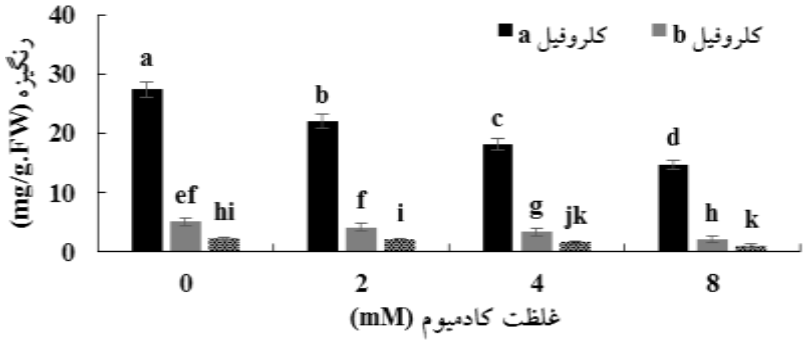
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر طول ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.

سطوح مختلف تنش کادمیوم نشان داد که طول ریشه و ساقه گیاه ریحان در اثر اعمال تنش کاهش قابل توجهی داشته است (شکل ۳). کوتاه قدی از علائم اصلی در سمیت گیاه به‌وسیله کادمیوم است (Sandalio *et al.*, 2001). در خاک‌های کشاورزی محتوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم رشد گیاه به‌شدت کاهش یافته و گیاهان کوتاه قد شدند و ریشه‌ها کوتاه و قهوه‌ای رنگ شدند که درنهایت منجر به مرگ گیاه شد (Sanita and Gabbrielli, 1999). افزایش غلظت کادمیوم باعث کاهش ارتفاع بوته ذرت نیز شد (Mihalescu *et al.*, 2010). کادمیوم باعث کاهش فعالیت هورمون سیتوکینین

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021



شکل ٤- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر سطح برگ گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.



شکل ٥- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.

می‌شود که تأثیر به‌سزایی در تکثیر سلول و رشد گیاه دارد (Mok, 1994). گزارش شده است هنگامی که فلزات سنگین به قسمت هوایی گیاه منتقل می‌شوند باعث اختلال در متابولیسم سلول و کاهش ارتفاع بوته می‌شوند (Shanker *et al*., 2005). کاهش رشد ممکن است به‌دلیل از بین‌رفتن آماس سلول و کاهش در فعالیت‌های میتوزی و یا مهار طویل‌شدن سلول باشد. به‌عنوان مثال کادمیوم در سلول‌های گیاهی می‌تواند دیواره سلولی و به‌خصوص لایه میانی دیواره سلولی را که در طویل‌شدن سلول نقش دارد تحت تأثیر قرار دهد (Hassan *et al*., 2006).

غلظت بالای کادمیوم موجب پیچش برگ، ریزش برگ و کاهش سطح برگ‌ها می‌شود. افزایش غلظت کادمیوم در خاک سطح برگ در گیاه گوجه‌فرنگی را نیز کاهش داد (Singh *et al*., 2011). این کاهش در سطح برگ به‌دلیل اثر تحریکی کادمیوم بر کاهش گسترش سطح برگ و پیری برگ بود. کاهش فشار تورژسانس سلول‌های گیاهی تیمارشده با کادمیوم و کاهش خاصیت ارتجاعی دیواره سلولی باعث تشکیل سلول‌های کوچک و فضاهای کمتر بین سلول‌های گیاهی می‌شود. کاهش فشار تورژسانس از بر هم‌خوردن تعادل آب حاصل می‌شود. نتایج پژوهش‌ها حاکی از آن است که کادمیوم جذب آب، انتقال آب و تنفس سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Vassilev *et al*., 1997).

بررسی اثر کادمیوم بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی: مطابق شکل ٥، تنش کادمیوم میزان کلروفیل a را در تمام غلظت‌ها و میزان کلروفیل b و کاروتنوئیدها را در غلظت‌های ٤ و ٨ میلی‌مولار در گیاه ریحان به‌طور معنی‌داری کاهش داده است. کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در تیمار ٨ میلی‌مولار نسبت به گیاه شاهد به‌ترتیب ٤٦/٢، ٥٨/٣ و ٥٥/٣٥ درصد بود.

مطابق نتایج تا غلظت ٤ میلی‌مولار کادمیوم بیشترین کاهش مربوط به کلروفیل a و کمترین کاهش مربوط به کاروتنوئیدها بود. پس از آن به‌دنبال افزایش شدید تنش در غلظت ٨

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

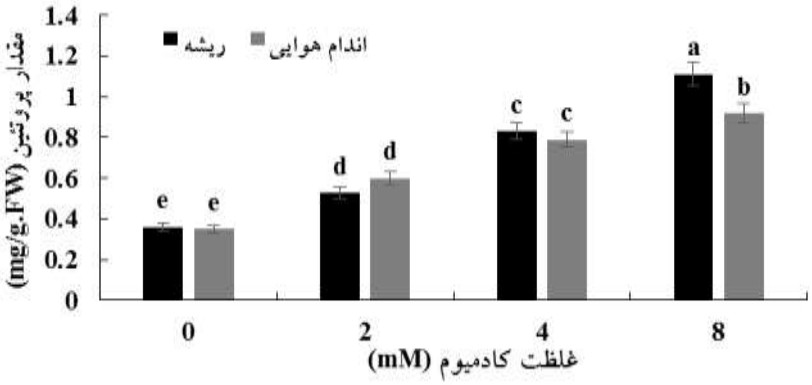
میلی‌مولار غلظت سایر رنگیزه‌ها نیز به‌شدت کاهش یافت. یکی از دلایل کمتربودن کاهش کاروتنوئیدها در غلظت‌های کمتر کادمیوم، می‌تواند مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی این رنگیزه باشد. کاهش مقدار رنگیزه‌های کلروفیلی در گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق به‌وضوح قابل ملاحظه بود. کاهش کلروفیل تحت تنش کادمیوم می‌تواند ناشی از اثر بازدارندگی شدید این عنصر بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز رنگیزه‌ها باشد (Moradoglu *et al.*, 2015). این کاهش را می‌توان این گونه توضیح داد که فلزات سنگین فرایندهای متابولیکی را از طریق ممانعت از عمل آنزیم‌ها کاهش می‌دهند. کاهش محتوای کلروفیل در اثر تنش ناشی از سایر فلزات سنگین نیز گزارش شده است و علت آن هم به ممانعت از فعالیت آنزیم‌های مسئول در بیوسنتز کلروفیل و حتی تحریک فعالیت آنزیم کلروفیلاز نسبت داده شده است (Zengin and Munzuroglu, 2005). فلزات سنگین به‌وسیله مهار آنزیم‌های گاما- آمینو لوالونیک اسید، دهیدروژناز و پروتوکلروفیلاید ردوکتاز سبب مهار بیوسنتز کلروفیل می‌شوند. برهمکنش فلز سنگین با گروه سولفیدریل آنزیم‌ها مهم‌ترین مکانسیم این مهارها عنوان شده است (Khatibi *et al.*, 2008). همچنین در برگ‌های تحت تنش کادمیوم تشکیل LHCII مختل می‌شود که علت آن مهار سنتز پروتئین LHCII درمرحله نسخه‌برداری است که باعث فتواکسیدشدن کلروفیل تازه تشکیل شده می‌شود (Hegedus *et al.*, 2001). همچنین دلیل دیگر کاهش میزان کلروفیل‌ها تحت تنش کادمیوم را می‌توان به جایگزین‌شدن کادمیوم به‌جای منیزیوم در ساختار این رنگیزه‌ها دانست زیرا کادمیوم نیز دو ظرفیتی بوده و با منیزیوم در هنگام جذب از ریشه رقابت می‌کند. این امر حتی می‌تواند به کاهش سایر عناصر ضروری دو ظرفیتی دیگر مانند آهن، کلسیم و مس هم منجر شود که اثرات سمیت ناشی از کادمیوم را تشدید می‌کند (Sanita *et al.*, 1999).

میزان پروتئین‌های محلول: همانطور که در شکل ٦ نشان داده شده است در غلظت‌های مختلف کادمیوم میزان پروتئین‌های محلول ریشه و اندام هوایی در گیاه ریحان نسبت به شاهد افزایش یافته است.

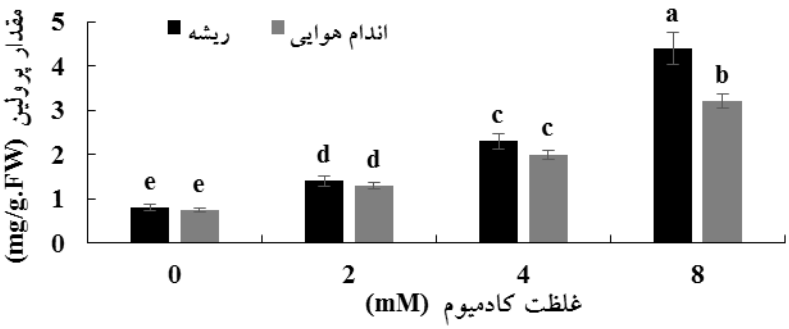
افزایش میزان پروتئین‌ها در شرایط تنش معمولاً قابل انتظار نیست اما در این تحقیق تحت تنش فلزات سنگین میزان پروتئین‌های محلول چه در ریشه و چه در بخش هوایی افزایش قابل توجهی داشته است. البته در تحقیق دیگری که بر روی گیاه برنج تحت تنش کادمیوم انجام شده است نیز افزایش میزان پروتئین در ریشه و اندام هوایی گزارش شده است (Shah and Dubey, 1997). گیاهان در پاسخ به شرایط تنش‌زای محیطی از مکانیسم‌های مقاومتی مختلفی استفاده می‌کند. این مکانیسم‌های پاسخ‌دهنده به تنش، برای برقراری مجدد هومئوستازی و حفاظت و ترمیم پروتئین‌ها و غشاهای آسیب‌دیده فعال می‌شوند (Wang *et al.*, 2003). شاید یکی از دلایل توجیه این مسأله افزایش بیان یکسری از پروتئین‌هایی باشد که در ایجاد سازگاری با شرایط تنش نقش مهمی دارند (Ashraf and Harris, 2004). آقائی و همکاران در سال ۲۰۰۸ افزایش بیان تعدادی از پروتئین‌های سازش‌دهنده به شوری از قبیل osmotine-like proteins, TSI-1 protein, heat-shock proteins, protein inhibitors, calreticulin را در گیاه سیب‌زمینی تحت تنش شوری گزارش کردند که بیان osmotin like proteins بیش از ۲۰۰ برابر نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد (Aghaei *et al.*, 2008). افزایش میزان پروتئین‌های محلول و همچنین پرولین که در این تحقیق مشاهده شده است می‌تواند یکی از دلایل احتمالی کاهش رادیکال‌های آزاد و تخریب کمتر غشا به کمک این ترکیبات در گیاهان تحت تنش باشد. از طرفی افزایش میزان پرولین در شرایط تنش می‌تواند موجب پایداری ساختمان پروتئین‌ها و جلوگیری از تخریب آنها و درنهایت ممانعت از کاهش ناشی از تخریب پروتئین‌ها شود (Munns and Tester, 2008).

بررسی میزان پرولین: داده‌های حاصل از اثر کادمیوم بر مقدار پرولین نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی گیاه افزایش می‌یابد که این افزایش در غلظت ۸ میلی‌مولار کادمیوم برای ریشه و اندام هوایی به‌ترتیب ۵/۵ و ٤/۳۲ برابر مقدار آن در گیاهان شاهد

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021



شکل ٦- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان پروتئین‌های محلول ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان پرولین ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.

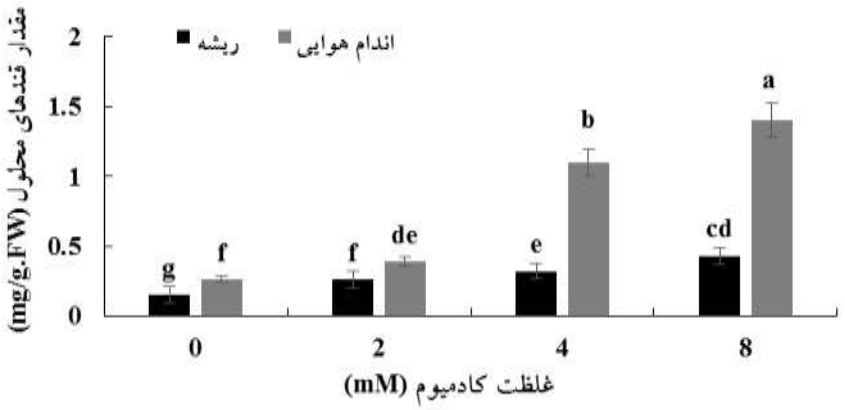
بوده است (شکل ۷).

مهم‌ترین اثر تخریبی کادمیوم تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های آزاد سوپراکساید(O_2^-)، هیدروکسیل (OH^-) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) است. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کنند (He *et al*., 2011).

یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی پرولین است. میزان پرولین با افزایش غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی ریحان افزایش یافته است. پرولین یکی از مهم‌ترین اسیدهای آمینه در گیاهان است که در برابر انواع تنش‌ها از جمله شوری، خشکی، سرما، گرما و همچنین عناصر سنگین از گیاه محافظت می‌کند. یکی از دلایل تجمع پرولین در محیط‌کشت حاوی کادمیوم را به‌دلیل نقش این ماده در اتصال به کادمیوم و تشکیل یک کمپلکس غیرسمی از پرولین-کادمیوم می‌دانند (Sharma *et al*., 1998). پرولین همچنین می‌تواند به‌عنوان یک ماده تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان عمل کند. پرولین می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها خطر رادیکال‌های آزاد را کاهش داده و باعث حفظ تمامیت غشاها گردد (Alia *et al*., 2001). اهمیت تجمع پرولین جهت حفظ وضعیت آبی گیاه در شرایط تنش مهم‌تر از بقیه ترکیبات آلی است. پرولین به‌عنوان یک محافظت‌کننده شیمیایی موجب حفاظت از پروتئین‌ها شده و به‌خصوص از متلاشی‌شدن و غیرفعال‌شدن پروتئین‌های آنزیمی جلوگیری می‌کند و از آنجاییکه از پراکسیداسون غشا ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری می‌کند در شرایط تنش‌های مختلف از جمله تنش فلزات سنگین موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش می‌شود (بارنده و کاوسی، ۱۳۹۵).

بررسی میزان قندهای محلول: نتایج حاصل از اندازه‌گیری

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021



شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان قندهای محلول ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها می‌باشد.

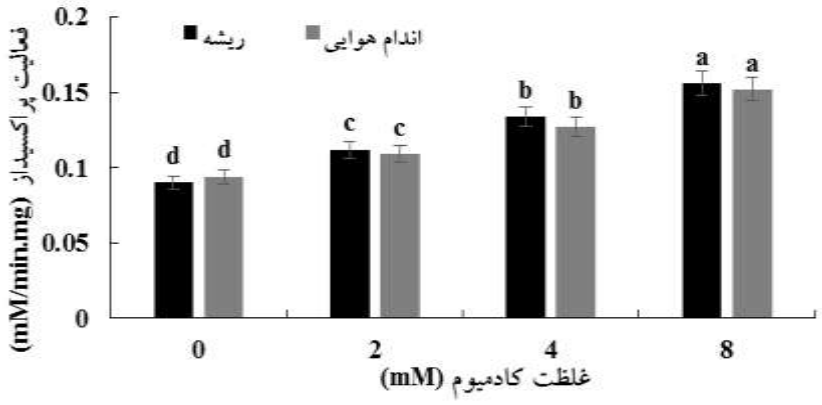
میزان قندهای محلول نشان داد که افزایش غلظت کادمیوم در محیط‌کشت باعث افزایش میزان قندهای محلول ریشه و اندام هوایی در تمام تیمارها می‌شود. این افزایش در غلظت‌های ٤ و ۸ میلی‌مولار کادمیوم در اندام‌های هوایی بیشتر بوده و به‌ترتیب ٤/۲۳ و ۵/۳۸ برابر مقدار آن در شاهد است (شکل ۸).

بسیاری از شرایط تنش‌زای محیطی بر متابولیسم قندها و پخش مواد فتوسنتزی در گیاهان در حال رشد اثر می‌گذارند. دراین پژوهش محتوای قند در اندام هوایی بسیار بیشتر از ریشه افزایش یافت زیرا مکان اصلی سنتز قندها برگ‌ها هستند. گزارش شده است که در گیاه برنج کادمیوم باعث افزایش قندها می‌شود (Verma and Dubey, 2001). کادمیوم با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و درنتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسمی قندها می‌شود. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال تجمع کادمیوم درسلول‌ها، محتوای قندها در گیاه افزایش می‌یابد. این پدیده احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت با کادمیوم است. از عوامل دیگر افزایش قندهای محلول می‌توان به افزایش آنزیم‌های تجزیه‌کننده قندهای غیرمحلول مانند سلولاز و همچنین کاهش مصرف این قندهای محلول درنتیجه کاهش فرایندهای آنابولیکی در شرایط تنش، اشاره کرد (Verma and Dubey, 2001).

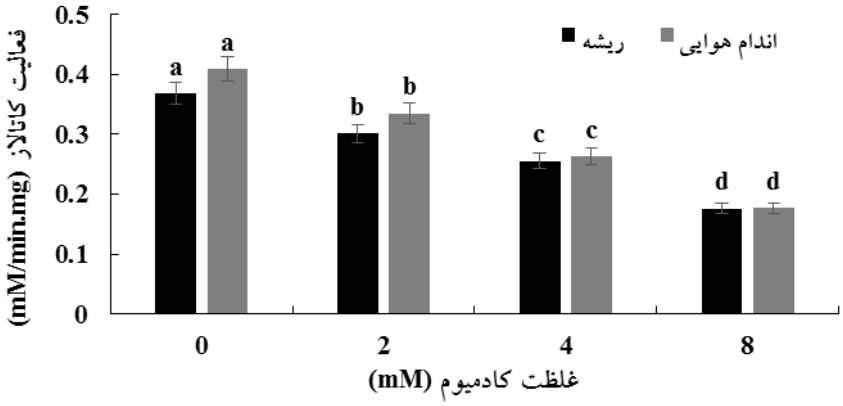
بررسی اثر کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: داده‌های حاصل از بررسی اثر کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در گیاه مورد آزمایش، نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت اما فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به گیاهان شاهد در تمام تیمارها کاهش نشان داد (شکل ۹ و ۱۰).

هیدروژن پراکسید یکی از گونه‌های فعال اکسیژن است که بسیار سمی است که باید درنتیجه فعالیت کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز از بین برود. این ترکیب در سخت‌کردن ترکیب دیواره سلولی شرکت می‌کند که منجر به محدودیت طویل‌شدن سلول می‌گردد. همچنین هیدروژن پراکسید بر تکثیر سلول‌ها تأثیر منفی می‌گذارد. کاتالاز آنزیم مهمی است که در شرایط تنش اکسیدی فعال می‌شود. این آنزیم قادر به تجزیه و حذف H_2O_2 است (Khatun *et al.*, 2008) اما پراکسیدازهای دیگری از قبیل آسکوربات پراکسیداز نیز می‌توانند در غیاب فعالیت کاتالاز نقش آنرا انجام دهند. همچنان که Breusegem و همکاران در سال ۲۰۰۱ بیان کردند که نقش پراکسیداز در پاکسازی H_2O_2 در اندام‌های هوایی گیاهان در شرایط تنش بیشتر از کاتالاز hsj. بنابراین به‌نظر می‌رسد در گیاه ریحان نیز آنزیم کاتالاز نقش چندانی در ایجاد مقاومت به تنش فلز سنگین کادمیوم نداشته است.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021



شکل ۹- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.



شکل ۱۰- اثر غلظت‌های مختلف فلز کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.

همچنین بیان شده است که کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز در برخی گیاهان تحت تنش می‌تواند درنتیجه کمبود آهن برای بیوسنتز این مولکول آنزیمی باشد و یا ممکن است مولکول‌های آنزیم توسط سایر گونه‌های فعال اکسیژن تخریب شده باشند (Sandalio *et al*., 2001).

مطابق شکل ۹ با افزایش غلظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش می‌یابد. همانطور که اشاره شد در شرایط کاهش فعالیت کاتالاز احتمالاً پراکسیداز با افزایش فعالیت خود نقش پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن را بر عهده گرفته است. تصور می‌شود که گیاهان از طریق تعدادی از سازوکارها از قبیل کنترل جذب، سمیت‌زدایی توسط فیتوکلاتین‌ها یا کلاته‌شدن فلزات سنگین توسط اسیدهای آلی یا اسیدهای آمینه شرایط تنش را مدیریت نمایند. در غیر این صورت آسیب بافتی القاشده توسط فلز، سطوح افزایش‌یافته پراکسیداسیون لیپید، تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سطوح بالای آنتی‌اکسیدان مشاهده خواهد شد (Briat and Lebrun, 1999). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب تحمل بیشتر به تنش می‌شود زیرا آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌عنوان اصلی‌ترین آنزیم‌های مهارکننده H_2O_2 شناخته شده‌اند. میزان خسارت ناشی از ROS با افزایش سطوح فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه می‌تواند تقلیل یابد (زند و همکاران، ۱۳۸۸).

نتیجه‌گیری

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

همانطور که از نتایج این پژوهش مشخص است گیاه ریحان گیاه مقاومی در برابر تنش ناشی از تجمع فلز کادمیوم به‌عنوان یکی از فلزات سنگین فراوان در مناطق کشاورزی زنجان نیست و کاهش شاخص‌های رشد از قبیل وزن خشک ریشه و ساقه و رنگیزه‌های فتوسنتزی و طول ریشه و ساقه در گیاهان تحت تنش در مدت دو هفته نسبت به گیاهان شاهد مؤید این مطلب است. البته گیاهان تحت تنش سعی کرده‌اند با افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و مواد آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی دیگر از قبیل پرولین و حتی افزایش قندهای محلول و پروتئین‌های محلول تا حدی با این تنش مقابله کنند. البته مشخص شد که آنزیم کاتالاز نقش چندانی در این زمینه در گیاه ریحان ندارد اما نکته قابل تأمل این است که بخش زیادی از کادمیوم وارد اندام‌های هوایی شده که در اثر مصرف گیاهان آلوده، این عناصر سمی وارد بدن انسان‌ها خواهند شد. بنابراین توصیه می‌شود نهادهای ذی‌ربط میزان وجود این عناصر معدنی مضر در سبزیجاتی که در همه شهرها و به‌خصوص در استان‌هایی مانند زنجان که دارای معادن فلزات سنگین هستند را اندازه‌گیری نمایند و در صورت آلوده‌بودن گیاهان از کشت آنها در مناطق آلوده جلوگیری نمایند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حوزه معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه زنجان که حمایت مالی و اجرایی این پژوهش را بر عهده داشتند و نیز از جناب آقای دکتر عباسعلی زمانی که در بخش آنالیزهای شیمیایی در این پژوهش کمک فراوانی نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

آقائی، ک.، زمانی، ع. و صالحی، س. (۱۳۹۳) بررسی آلودگی سرب و کادمیوم در برخی از سبزیجات خوردنی رایج در شهر زنجان. هجدهمین کنگره ملی و ششمین کنگره بین‌المللی زیست‌شناسی ایران. ۱۶۱ دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران.

بارنده، ف. و کاوسی، ح. (۱۳۹۵) اثر کلرید کادمیوم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای پرولین، میزان پروتئین‌های محلول و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهچه‌های عدس. فرایند و کارکرد گیاهی ۱۶: ۱۳۳-۱۱۷.

حاجی سلطانی، پ.، زمانی، ع. و پری زنگنه، ع. (۱۳۸۹) بررسی غلظت و پیامدهای زیست‌محیطی فلزهای سنگین در خاک‌های سطحی حومه شهرک تخصصی روی زنجان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. علوم محیط‌زیست. دانشگاه زنجان.

زند، ب.، سروش‌زاده، ع.، قناتی، ف. و مرادی، ف.(۱۳۸۸) اثر محلول‌پاشی روی (Zn) و اکسین (IBA) برفعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ذرت دانه‌ای. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران ۲: ۴۸-۳۵.

قربانی نهوجی، م.، تحصیلی، ژ.، نقدیبادی، ح.، شریفی، م. و ضیائی، م. (۱۳۹۳) مروری بر گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) با تأکید بر عمده‌ترین ترکیبات ثانویه و ویژگی‌های زراعی و دارویی آن. فصلنامه گیاهان دارویی ۵۲: ۴۱-۲۶.

موفق، ش.، پری زنگنه، ع.، آقائی، ک. و زمانی، ع. (۱۳۹۰) بررسی غلظت فلزات سنگین در چهار گونه گیاهی در نواحی با خاک‌های آلوده حوالی شهر زنجان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. علوم محیط‌زیست. دانشگاه زنجان.

Aghaei, K., Ehsanpour, A. A. and Komatsu, S. (2008) Proteome analysis of potato under salt stress. Journal of Proteome Research 7: 4858-4868.

Ahmad, P. and Prasad, M. N.V. (2012) Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability. Springer 1-20.

Alia, G., Srivastava, P. S. and Iobal, M. (2001) Responses of *Bacopa moniera* cultures to cadmium toxicity. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 66: 342-349.

Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

Ashraf, M. and Harris, P. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 3-16.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

Baryla, A., Carrier, P., Frank, F., Coulomb, C., Sahut, C. and Havaux, M. (2001) Leaf chlorosis oilseed rape plants *(Brassica napus)* grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for phothosynthesis and growth. Planta 212: 696-709.

Bates, L. S., Waldern, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

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

Briat, J. F. and Lebrun, M. (1999) Plant responses to metal toxicity. Critical Review the Academy science 322: 43-54.

Breusegem, F. V., Vranovi, E., Dat, J. F. and Inze, D. (2001) The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Science 161: 405-414.

Chen, Y. X., He, Y. F., Luo, Y. M., Yu, Y. L., Lin, Q. and Wong, M. H. (2003) Physiological mechanism of plant roots exposed to cadmium. Chemos 50: 789-793.

Dong, J. W. U. F. and Zhang, G. (2005) Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. Journal of Zhejiang University Science 6: 974-980.

Fuentes, D., Disante, K. B., Valdecantos, A. J. and Vallejo, V. R. (2006) Response of *Pinus halepensis Mill* seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three Mediterranean forest soils. Environmental Pollution 1-8.

Ghaderian, S. M. and Jamali Hajiani, N. (2010) Tolerance, uptake and accumulation of cadmium in *Matthiola chenopodiifolia* Fisch and C. A. Mey (Brassicaceae). Journal of Plant Biology 6: 87-98.

Gubrelay, U., Agnihotri, R. K., Singh, G., Kaur, R. and Sharma, R. (2013) Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of Barley (*Hordeum vulgare* L.). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5: 2743-2751.

Hassan, M. J., Zhu, Z., Ahmad, B. and Mahmood, Q. (2006) Influence of cadmium toxicity on rice genotypes as affected by zinc, sulfur and nitrogen fertilizers. Caspian Journal of Environmental Sciences 4: 1-8.

Hegedus, A., Erdi, S. and Horvath, G. (2001) Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress. Plant Scienc 160: 1085-1093.

He, J., Qin, J., Long, L.Y., Ma, Y. L., Li, H., Li, K., Jiang, X. N., Liu, T. X., Polle, A., Liang, Z. and Luo, Z. B. (2011) Net Cadmium flux and accumulation reveal issue-specific oxidative stress and detoxification in populous 9 canescens. Physiology Plant .143: 50-63.

Javanmardi, J., Khalighi, A., Khashi, A., Bais, H. P. and Vivanco, J. M. (2002) Chemichal characterisation of Basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. Journal Agricultural and Food Chemestry 50: 5878-83.

Khatibi, M., Rashed, M. H., Ganjeali, A. and Lahooti, M. (2008) The effects of different nickel concentration on some morpho-physiological characteristics of parsley Iran. Journals of Field Crops Research 2: 295-302.

Khatun, S., Ali, M. B., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2008) Cooper toxicity in *Withania somnifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Environmental and Experimental Botany 64: 279-285.

Li, X., Zhang, X., Wu, Y., Li, B. and Yang, Y. (2018) Physiological and biochemical analysis of mechanisms underlying cadmium tolerance and accumulation in turnip. Plant Diversity 40: 19-27.

Liu, D., Jiang, W. and Gao, X. (2003) Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. Biologia Plantarum 47: 79-83.

Mejare, M. and Bulow, L. (2001) Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. Trends, in Biotechnology 19: 67-72.

Mihalescu, L. A., Mare-Rosca, O. E., Marian, M. and Bildar, C. F. (2010) Research on the growth intensity of the *Zea mays* L. plant lets aerial parts under cadmium treatment. Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie 147-151.

Mok, M. (1994) Cytokinins and plant development- An overview in Cytokinins. Chemistry, Activity, and Function 155-166.

Muradoglu, F., Gundogdu, M., Ercisli, S., Encu, T., Balta, F., Jaafar, H. and Haq, M. (2015) Cadmium toxicity affects chlorophyll a and b content, antioxidant enzyme activities and mineral nutrient accumulation in strawberry. Biological Research 48: 11.

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Ozdener, K. Y. (2016) The effects of cadmium on the biochemical and physiological parameters of Eurca sativa. Acta Biologica Hongarica 67:. 393-402

Ramos, I., Esteban, E., Lucena, J. J. and Garate, A. (2002) Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of Lactuca sp. Cd-Mn intraction. Plant Science 162: 761-767.

Roe, J. H. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. Journal of Biological Chemistry 212: 335-343.

Sandalio, L. M., Dalurzo, H. C. and Gomez, M. (2001) Cadmium induced changes in the growth and oxidative metabolism of Pea plants. Journal of Experimental Botany 52: 2115-2126.

Sanita di Toppi, L. and Gabbrielli, R. (1999) Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany 41: 105-130.

Sariri, R., Sajedi, R. H., Jafarian, V. and Khaje, Kh. (2006) Inhibition of horse radish peroxidase by thiol type inhibitors. Journal of Molecular Liquids 123: 20-23.

Shah, K. and Dubey, R. S. (1997) Effect of cadmium on proline accumulation and ribonuclease activity in rice seedlings: Role of proline as a possible enzyme protectant. Plant Biology 40: 121-130.

Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. and Avudainayagam, S. (2005) Chromium toxicity in plants. Environment International 31: 63-68.

Sharma, S. S., Schat, H. and Vooijs, R. (1998) In vitro alleviation of heavy metal-induced enzyme inhibition by proline. Phytochemistry 49: 1531-5.

Singh, S., Singh, A. and Bahadur, R. (2011) Effect of cadmium on germination and seedling growth of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill). Plant Arch 11: 859-862.

Talatam, S. and Parida, B. (2009) Crop growth as influenced by Zinc and organic matter in Cadmium-rich polluted soils. Department of Plant Sciences 4-13.

Vassilev, A., Yordanov, I. and Tesonev, T. (1997) Effects of Cd^{2+} on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants. Photosynthetica 34: 293-302.

Verma, S. and Dubey, R. S. (2001) Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biologia Plantarum 44: 117-123.

Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A. (2003) Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. Planta 218: 1-14.

Zengin, F. K. and Munzuroglu, O. (2005) Effects of some heavy metals on chlorophyll, proline and some antioxidant and chemicals in Bean (*Phaseolus vulgaris* L) seedlings. Acta Biologica Cracoviensla Series Botanica 47: 157-164.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021

Analysis of cadmium accumulation and its effects on some biochemical and physiological characters of basil plants

Keyvan Aghaei[1*], Bahareh Rah khosravani[1], Leila Moghanlu[1] and Ali Akbar Ghotbi-Ravandi[2]

[1]Department of Biology, Faculty of Sciences, The University of Zanjan, Zanjan
[2] Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran
(Received: 07/10/2018, Accepted: 13/04/2019)

Abstract

Basil (*Ocimum basilicum* L.) is a highly used as an edible and medicinal plant. As in some places of Zanjan province basil plant is cultured and contaminated by heavy metals, such as toxic cadmium metal, a research for analyzing Cd accumulation and its effects on some physiological and biochemical traits of this plant was performed. Seeds were cultured in plastic pots containing perlite and Hoagland's culture medium in a hydroponic condition. After three weeks, plantlets with enough growth were treated by different concentrations of Cd including: 0 (control), 2, 4 and 8 mM for two weeks. Results showed that, root and shoot dry weight, root and shoot length as well as chlorophyll a and b and carotenoids contents and leaf area in all Cd treatments were decreased compared to the control plants. 8 mM Cd treatment showed the maximum decrease in all above traits. The content of soluble proteins, proline and soluble sugars of roots and shoots of treated plants increased at all Cd treatments compared to the control plants. The activity of catalase enzyme was decreased in roots and shoots of Cd treated plants. However; the activity of peroxidase was increased at all Cd treatments. The concentration of Cd in roots of treated plants was about three times higher than that of shoots at 8 mM Cd concentration. As a conclusion, basil plants showed a little tolerance against Cd heavy metal by increasing of their peroxidase activity, proline, soluble sugars and protein contents. However, they were not able to prevent Cd penetration to their roots and especially shoot contaminated them.

Keywords: Cadmium nitrate, Heavy metals, Medicinal plants, Vegetables.

.

Corresponding author, Email: keyvanaghaei@znu.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:21 IRST on Friday March 5th 2021