

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر تنش کادمیوم و نقش تعدیل کننده پتاسیم بر پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه برازمبل (*Perovskia atriplicifolia*)

عطیه اورعی^{۱*} و تکتم اورعی^۲

^۱ گروه علوم گیاهی، گیاهان دارویی، مؤسسه آموزش عالی اقبال لاهوری مشهد، ایران

^۲ علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۴/۰۳/۲۰)

چکیده

آلودگی خاک به فلزات سنگین به ویژه کادمیوم از جمله چالش های مهم در تولید گیاهان دارویی محسوب می شود. از سوی دیگر، عناصر غذایی مانند پتاسیم می توانند در کاهش اثرات منفی این تنش ها نقش مؤثری ایفا کنند. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر پتاسیم بر کاهش تنش کادمیوم در گیاه دارویی برازمبل (*Perovskia atriplicifolia*) بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و در دو سطح پتاسیم (صفر و ۵ میلی مولار) و سه سطح کادمیوم (صفر، ۲، ۵ و ۵ میکرومولار CdCl_2) در محیط کشت پرلیت و ورمیکولیت در سال ۱۴۰۳ انجام شد. صفاتی نظیر نشت الکترولیت، محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل a، b، کلروفیل کل، مالون دی آلدئید، فنول کل، کربوهیدرات، پرولین، آنتی اکسیدان، آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که کادمیوم به طور معنی داری موجب کاهش صفات فیزیولوژیکی و افزایش شاخص های آسیب اکسیداتیو نظیر نشت الکترولیت و مالون دی آلدئید (۵۳/۴ درصد) در گیاه برازمبل شد. در مقابل، افزایش سطح پتاسیم باعث حفظ کلروفیل (۲/۴۳ میلی گرم بر گرم وزن تر)، افزایش ترکیبات دفاعی نظیر کربوهیدرات (۱/۲۹ میلی گرم بر گرم وزن خشک)، پرولین (۰/۵۳ میکرومول بر گرم وزن خشک) و فنول (۲۶/۳ میکروگرم بر گرم وزن خشک) و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در شرایط ۵ میکرومولار کادمیوم گردید. در تمامی صفات، اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم معنی دار بود و پتاسیم توانست به طور مؤثر اثرات منفی تنش کادمیوم را کاهش دهد. در مجموع، یافته ها نشان می دهد که مصرف پتاسیم می تواند به عنوان روشی مؤثر برای کاهش آسیب های ناشی از تنش کادمیوم و افزایش تحمل گیاه برازمبل در شرایط آلودگی خاک به فلزات سنگین مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: برازمبل، فلزات سنگین، گیاهان دارویی، نقش تعدیل کننده

مقدمه

می تواند اثرات مخربی بر رشد و متابولیسم گیاهان داشته باشد. این فلز از طریق فعالیت های صنعتی، استفاده از کودهای فسفاته و فاضلاب های شهری وارد خاک می شود و به راحتی توسط ریشه گیاهان جذب می گردد (Rizwan et al., 2018).

کادمیوم (Cd) کادمیم یک عنصر غیرضروری و سمی برای گیاهان است که خطرات قابل توجهی برای سلامت انسان و محیط زیست ایجاد کرده است که حتی در غلظت های کم نیز

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: a.oraee@eqbal.ac.ir

محتوای این دو ماده در سلول می‌شود. علاوه بر این پتاسیم به طور قابل توجهی بیان پکتین متیل استراز (PME) را تحریک می‌کند این ژن‌ها می‌توانند محل‌های اتصال کادمیوم را از طریق دیمیلاسینون پکتین افزایش دهند (Liao et al., 2025).

علاوه بر این، پتاسیم با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه، شامل آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX)، به خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ناشی از تنش کادمیوم کمک می‌کند (Kumari et al., 2021). این مکانیسم‌ها منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ یکپارچگی غشای سلولی می‌شود، که به نوبه خود از تخریب کلروفیل و کاهش فتوسنتز جلوگیری می‌کند (Hasanuzzaman et al., 2018). شواهد متعددی از پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که پتاسیم می‌تواند اثرات مخرب کادمیوم را در گونه‌های گیاهی مختلف کاهش دهد. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای بر روی گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، کاربرد پتاسیم منجر به کاهش معنادار تجمع کادمیوم در ریشه و اندام هوایی شد و رشد و وزن خشک ریشه و میزان کلروفیل و کاروتنوئید را افزایش داد (Samet et al., 2017). در گیاهان خانواده کلم (*Brassica* spp.) نیز مشاهده شد که پتاسیم با بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و افزایش تولید ترکیبات فیتوکلاستین، سمیت کادمیوم را کاهش می‌دهد (Nazar et al., 2012). علاوه بر این، در گیاهان دارویی مانند نعناع (*Mentha* spp.)، پتاسیم با افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنول‌ها و فلاونوئیدها، مقاومت گیاه را در برابر تنش کادمیوم افزایش داده است (Nahar et al., 2016). این یافته‌ها به وضوح نشان می‌دهند که پتاسیم نه تنها یک عنصر حیاتی برای رشد طبیعی گیاه است، بلکه یک راهکار مؤثر برای کاهش سمیت کادمیوم در شرایط تنش محسوب می‌شود.

برازمبل (*Perovskia* spp.) که با نام علمی *Perovskia atriplicifolia* نیز شناخته می‌شود، یک گیاه چندساله مقاوم به خشکی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است. این گیاه بومی مناطق خشک و نیمه‌خشک آسیای مرکزی، به ویژه افغانستان و

کادمیوم با مختل کردن فرآیندهای حیاتی مانند فتوسنتز، تنفس سلولی و جذب عناصر غذایی (مانند آهن، روی و کلسیم)، رشد گیاه را به شدت کاهش می‌دهد (Haider et al., 2021). همچنین این فلز سنگین با القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند سوپراکسید (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، سبب بروز استرس اکسیداتیو و آسیب به غشاهای سلولی، افزایش مالون دی‌آلدئید (MDA) و ماکرومولکول‌هایی همچون پروتئین‌ها و DNA می‌شود (Berni et al., 2019). از سوی دیگر، کادمیوم می‌تواند ساختار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) را مختل کند و در نتیجه، توانایی گیاه را برای مقابله با استرس اکسیداتیو کاهش دهد (Adrees et al., 2015). مطالعات نشان داده‌اند که تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی نه تنها باعث کاهش محتوای کلروفیل و کارایی فتوسیستم II (PSII) می‌شود، بلکه از طریق تداخل با انتقال سیگنال‌های هورمونی (مانند اکسین و جبریلین)، توسعه ریشه و جوانه‌زنی را نیز مهار می‌کند (Li et al., 2023). این اثرات تجمعی در نهایت منجر به کاهش عملکرد گیاهان زراعی و مرگ سلولی در گونه‌های حساس می‌گردد. بنابراین، یافتن راهکارهای کاهش سمیت کادمیوم، به ویژه در گیاهان مقاوم مانند برازمبل، از اهمیت بالایی برخوردار است.

پتاسیم (K) به عنوان یک عنصر ضروری در رشد گیاهان، نقش کلیدی در تعدیل تنش‌های محیطی از جمله سمیت فلزات سنگین مانند کادمیوم (Cd) ایفا می‌کند. این عنصر نه تنها در حفظ پتانسیل اسمزی و تنظیم روزه‌ای دخیل است، بلکه به عنوان کوفاکتور برخی آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم گیاهی عمل می‌کند (Johnson et al., 2022). مطالعات نشان داده‌اند که پتاسیم با کاهش جذب کادمیوم از طریق رقابت برای محل‌های جذب در ریشه، تجمع این فلز سمی را در بافت‌های گیاهی کاهش می‌دهد (Farooq et al., 2016). در آزمایشی بر روی اثرات پتاسیم بر سلول‌های ریشه در جذب کادمیوم نتایج نشان داد که پتاسیم باعث ایجاد دگرگونی در ژن‌های مسئول بیوسنتز سلولز و لیگنین می‌شود. در نتیجه سبب تقویت

پاکستان است و به دلیل سازگاری بالا با شرایط نامساعد محیطی مانند کم‌آبی و خاک‌های فقیر، در طراحی فضای سبز پایدار کاربرد گسترده‌ای دارد (Mohammadhosseini et al., 2021). برگ‌های نقره‌فام و ساقه‌های چوبی این گیاه، همراه با گل‌های بنفش-آبی که در تابستان ظاهر می‌شوند، آن را به گزینه‌ای محبوب در باغ‌های خشک‌منظر (xeriscaping) تبدیل کرده است (Huxley, 1992). مطالعات نشان داده‌اند که برازمبل دارای ترکیبات ثانویه فعالی مانند مونوترپن‌ها، سسکویتیرپن‌ها و فنولیک‌هاست که نقش کلیدی در مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کنند (سفیدکن، ۱۳۷۹). در آزمایشی کاربرد پتاسیم بر بیان ژن‌های *IRT1* و *YSL3* که مسئول جذب کادمیوم در ریشه هستند تأثیر گذاشت و این ژن‌ها را مهار کرد. علاوه‌براین بیان *COPT5* و *Nramp3* توسط پتاسیم کاهش یافت. افزایش بیان *CAD*، *POD* و *SUS* توسط بیوسنتز لیگنین و سلولز به ضخیم‌شدن دیواره سلولی آوند چوبی ریشه کمک نمود که از انتقال کادمیوم به اندام هوایی جلوگیری نمود (Huang et al., 2023).

در طب سنتی، از برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار برازمبل به عنوان ضدعفونی‌کننده، ضدالتهاب و مسکن استفاده می‌شود. تحقیقات جدید نشان داده‌اند که اسانس این گیاه دارای ترکیباتی مانند کامفور، او-۸-سینئول و بورنئول است که اثرات ضدباکتریایی علیه پاتوژن‌های مقاوم مانند *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* دارند (سفیدکن، ۱۳۷۹). همچنین، مطالعات *in vitro* تأثیر عصاره برازمبل را در مهار آنزیم‌های التهابی مانند سیکلوآکسیژناز-۲ (*COX-2*) و کاهش تولید نیتریک اکسید (*NO*) در ماکروفاژها تأیید کرده‌اند، که نشان‌دهنده پتانسیل آن در درمان بیماری‌های التهابی مانند آرتریت است (Jassbi et al., 2016). علاوه‌براین، ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاه (مانند آپیزنین و لوتئولین) با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، در محافظت از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو و پیشگیری از بیماری‌های عصبی نقش دارند (Zengin et al., 2011).

با توجه به مقاومت بالای این گیاه به شرایط خشکی و

شوری، شناخت پاسخ آن به آلودگی کادمیوم - به‌عنوان یک تهدید رایج در خاک‌های کشاورزی - از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از سوی دیگر، با وجود گزارش‌های متعدد درباره نقش محافظتی پتاسیم در کاهش سمیت فلزات سنگین در گیاهان زراعی، اطلاعات محدودی درباره مکانیسم‌های احتمالی این تأثیر در گیاهان دارویی وجود دارد (Rahmani et al., 2016; Nahar et al., 2020). این مطالعه با هدف بررسی اثرات تنش کادمیوم و نقش تعدیل‌کننده پتاسیم بر رشد و صفاتی مانند نشت الکترولیت، مالون دی‌آلدئید، رنگدانه‌های گیاهی و محتوای نسبی آب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های گیاه دارویی برازمبل (*Perovskia atriplicifolia*) انجام شد. این مطالعه فرض را بر این می‌گذارد که پتاسیم می‌تواند از طریق مکانیزم‌های فیزیولوژیکی، اثرات مخرب کادمیوم را در برازمبل کاهش دهد. بنابراین، این پژوهش می‌تواند راهکارهای جدیدی برای کشت این گیاه در خاک‌های آلوده ارائه دهد و پایه‌ای برای مطالعات آینده در زمینه گیاه‌پالایی باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت آزمایشگاهی در سال ۱۴۰۳ انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل دو سطح پتاسیم (صفر میلی‌مولار به عنوان تیمار کم و ۵ میلی‌مولار به عنوان تیمار بالا (K_2SO_4)) و سه سطح کادمیوم (صفر، ۲، ۵ و ۵ میکرومولار $CdCl_2$) بودند. ابتدا به مدت ۱۵ روز تیمار پتاسیم اعمال شد و سپس به مدت هفت روز تیمار کادمیوم در مرحله برگی برازمبل اضافه شد. بذره‌های گیاه برازمبل (*Perovskia atriplicifolia*) پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۵ دقیقه، در پتری‌دیش حاوی کاغذ صافی مرطوب قرار داده و به مدت ۱۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای شکست خواب بذر نگهداری شدند، سپس به دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد برای شش هفته منتقل شدند.

گیاهچه‌ها در اتاقک رشد با شرایط محیطی کاملاً کنترل‌شده کشت شدند. برنامه نوری شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸

ساعت تاریکی بود که با استفاده از لامپ‌های فلورسنت سفید سرد (Cool White) با شدت نوری ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه تأمین شد. دمای روز و شب به ترتیب در حدود 1 ± 28 و 1 ± 22 درجه سلسیوس تنظیم گردید. رطوبت نسبی محیط با استفاده از دستگاه رطوبت‌ساز در حدود 5 ± 60 درصد حفظ شد. تهویه مناسب از طریق فن‌های نصب‌شده در اتاقک به صورت مداوم انجام می‌گرفت. برای بستر کشت، از ترکیب پرلیت و ورمیکولیت به نسبت ۱:۱ به عنوان محیط بدون خاک استفاده شد. آبیاری گیاهان با آب مقطر انجام گرفت و زهکشی مناسب گلدان‌ها مورد توجه قرار گرفت. همچنین، تغذیه گیاهان از طریق محلول غذایی هوگلند نیم‌قوی با pH حدود ۰/۶ تا ۵/۶ انجام شد که هر پنج روز یک‌بار تجدید می‌گردید. صفاتی مانند نشت، محتوای نسبی آب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالافاصله بعد از برداشت اندازه‌گیری شدند و صفاتی نظیر فنول، کربوهیدرات و پرولین از برگ خشک استفاده شد. اما برای فعالیت‌های آنزیمی، برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته جمع‌آوری شدند و بلافاصله در نیتروژن مایع و سپس در دمای -80 درجه سانتی‌گراد منجمد شدند.

نشت الکترولیت (EL) با روش Lutts و همکاران (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. برگ‌ها در آب مقطر شناور و هدایت الکتریکی اولیه (EC1) با دستگاه هدایت‌سنج ثبت گردید. پس از اتوکلاو در 120°C به مدت ۲۰ دقیقه، هدایت نهایی (EC2) سنجیده و درصد نشت محاسبه شد. برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان محصول پراکسید شدن اسیدهای چرب غشاها اندازه‌گیری شد. در ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ با نیتروژن مایع آسیاب و به آن ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد اضافه شد. عصاره به مدت ۲۰ دقیقه با دستگاه سانتریفیوژ دور ۱۴۰۰ در دمای 4°C سانتریفیوژ شد سپس، به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۵ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتریک اسید (TBA) اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس نمونه‌ها مجدداً سانتریفیوژ شدند. ماده قرمز رنگ مالون

دی‌آلدئید تیوباربیتریک اسید (MDA-TBA) تولید شده، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد و جذب سایر رنگیزه‌های اختصاصی نیز، در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. تعیین غلظت مالون دی‌آلدئید از ضریب خاموشی معادل $1 \text{ mm}^{-1} \text{ cm}^{-1} 155$ ، برحسب نانومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد (Heath and Parker, 1968).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH صورت گرفت. در این روش ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره (صد میلی گرم ماده برگ تازه را در نیتروژن مایع به صورت کامل هموژنایز کرده و عصاره گیری با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد انجام شد. جهت جداسازی مواد جامد نامحلول به مدت ۲ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. پس از سانتریفیوژ به ۱ میلی‌لیتر DPPH (۵۰۰ میکرومولار در متانول) افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و دمای اتاق میزان جذب نور در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده و براساس معادله زیر محاسبه شد (Benzie and Strain, 1996).

$$\text{DPPH} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

DPPH = درصد تخریب رادیکال‌های، A_0 = جذب نمونه

شاهد، A_1 = جذب نمونه مورد ارزیابی

پراکسید هیدروژن (H_2O_2) با روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) واکنش با پتاسیم دیدید در ۳۹۰ نانومتر انجام شد. فعالیت کاتالاز براساس میزان اولیه ناپدید شدن پراکسید هیدروژن مطابق با روش Aebi و همکاران (۱۹۸۴) ارزیابی شد. یک میلی‌لیتر محلول واکنش کاتالاز حاوی بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار $\text{pH}=7$ با مقدار متناسبی از آنزیم استخراجی و پراکسید هیدروژن ۳۳ میلی‌مولار بود. کاهش میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در یک دقیقه و میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف‌شده در دقیقه به عنوان یک واحد کاتالاز تعریف شد.

برای اندازه‌گیری پراکسیداز، به عصاره آنزیمی ۳ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار و ۵۰ میکرولیتر مایع گایاکول خالص و سپس ۵۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۳

درصد اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه به مدت ۳ دقیقه ثبت شد. بعد از اضافه کردن آب اکسیژنه و ترکیب گایاکول محلول به رنگ قرمز مایل به قهوه‌ای درآمد. برای محاسبه فعالیت آنزیم پراکسیداز، آخرین عدد جذبی را از اولین عدد جذبی خوانده شده کم کرده و بر عدد ۳ تقسیم می‌گردد (Chance and Maehly, 1955). به منظور سنجش فنل، به ۰/۱ از عصاره متانولی (عصاره حاصل از ۰/۵ گرم برگ تازه با ۱۰ میلی لیتر متانول) هر کدام از نمونه‌ها، ۴/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی لیتر معرف فولین-سیکالتو اضافه شد. پس از ۳ دقیقه به محلول، ۰/۳ میلی لیتر محلول بی‌کربنات سدیم ۲ درصد اضافه و نمونه‌ها به مدت ۱۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160A) خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف گالیک اسید صفر، ۳، ۵، ۸، ۱۰، ۱۲ میلی گرم در لیتر استفاده شد و معادله‌ای به جای Y قرار گرفتند. میزان فنل کل براساس میلی گرم گالیک اسید بر میلی گرم وزن خشک محاسبه شد (Sigleton and Rossi, 1965).

همچنین، کربوهیدرات‌های محلول کل با روش آنترون در ۶۲۰ نانومتر (Yemm and Willis, 1954) بررسی شد. نمونه‌های برگ به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و ۱۰۰ میلی گرم از پودر خشک نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت، به آن ۲۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد افزوده و توسط شیکر مخلوط گردید. پس از سانتریفیوژ در ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، محلول رویی جدا شده و توسط آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. پس از این مرحله، به یک میلی لیتر از روشناوری محلول مذکور ۱۰ میلی لیتر محلول آنترون ۰/۱۵ درصد افزوده شد و در نهایت نمونه‌ها در دمای ۹۵ درجه سلسیوس حرارت داده شده، بلافاصله به حمام یخ منتقل شدند. آنگاه میزان جذب

نور نمونه‌ها، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده و غلظت قند کل نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز براساس میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد.

نیم گرم از بافت برگ با ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد مخلوط و به شدت تکان داده شد. در نهایت ۱۵ میلی لیتر از عصاره به دست آمده را با سانتریفیوژ ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی لیتر از عصاره الکلی همراه با ۱۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر با ۵ میلی لیتر نین‌هیدرین به مخلوط اضافه گردید. در مرحله بعد ۵ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال به هر نمونه اضافه و نمونه داخل حمام آب جوش به مدت ۴۵ دقیقه قرار داد شد. به هر نمونه ۱۰ میلی لیتر تولوئن اضافه و سپس میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد ال پرولین رسم و میزان پرولین آزاد نمونه‌ها براساس میکرومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد (Bates et al., 1973).

میزان کلروفیل موجود در برگ از جوان‌ترین برگ بالغ به روش پیشنهادی Arnon (۱۹۴۹) صورت گرفت. بدین ترتیب که ۰/۲ گرم برگ تر با ترازوی دیجیتال وزن و سپس در هاون چینی با استن ۸۰ درصد به صورت تدریجی تا حصول یک محلول بی‌رنگ سائیده شد. سپس محلول شفاف رویی به بالن ژوژه ۲۵ میلی لیتری منتقل و حجم محلول با استن به ۲۵ میلی لیتر رسید. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و سپس جذب نوری محلول رویی جهت تعیین میزان کلروفیل در طول موج‌های ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد. در نهایت میزان کل کلروفیل، کلروفیل a و b برحسب میلی گرم در گرم بافت تر برگ گزارش شد.

تمامی داده‌ها با نرم افزار MINITAB نسخه ۱۷ و آزمون ANOVA دوطرفه در سطح معناداری ۵٪ تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای توکی انجام گرفت. نمودارها با نرم افزار EXCELL نسخه ۲۰۱۳ ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم در گیاه برازمل، در صفات نشت الکترولیت، مالون دی‌آلدئید، قند کل، پرولین و آنتی‌اکسیدان کل در سطح احتمال یک درصد همچنین در صفات محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل a و b، کل، فنول، پراکسیداز و کاتالاز در سطح پنج درصد معنی‌دار شد.

نشت الکترولیت: نتایج نشان داد که با افزایش سطح پتاسیم، نشت الکترولیت به طور قابل توجهی کاهش یافت. در مقابل، کادمیوم ۵ میکرومولار در شرایط بدون پتاسیم، باعث افزایش معنادار نشت الکترولیت به میزان ۳۷ درصد شد. همچنین، اثرات منفی کادمیوم در هر دو سطح روی نشت الکترولیت در شرایط بدون پتاسیم نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱).

کاهش نشت الکترولیت در سطوح بالاتر پتاسیم در شرایط تنش می‌تواند نشان‌دهنده اثر حفاظتی این عنصر در مقابله با آسیب‌های ناشی از تنش کادمیوم باشد. پتاسیم به عنوان یک یون مهم در تنظیم فشار اسمزی و حفظ تعادل یونی در سلول‌های گیاهی شناخته شده است (Marschner, 2012). از سوی دیگر، کادمیوم به عنوان یک عنصر سمی، باعث افزایش نشت الکترولیت در گیاهان می‌شود. این افزایش نشت به دلیل آسیب به غشای سلولی و اختلال در عملکرد آن است (EL- (Mahrouk et al., 2024). افزایش سطح کادمیوم در گیاهان می‌تواند منجر به ایجاد فشار اسمزی غیرمعمول و کاهش پایداری غشاهای شود. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که پتاسیم می‌تواند اثرات منفی کادمیوم را کاهش داده و باعث حفظ پایداری غشاهای سلولی گیاه شود. این یافته‌ها با سایر مطالعاتی که نشان‌دهنده نقش پتاسیم در کاهش اثرات سمی کادمیوم بر گیاهان هستند، همخوانی دارند (Zhou et al., 2019).

میزان محتوای نسبی آب برگ (RWC): محتوای نسبی آب در تیمارهای مختلف تحت تأثیر معنی‌دار سطوح پتاسیم و کادمیوم قرار گرفت (جدول ۱). نتایج نشان داد که با افزایش

سطح پتاسیم از صفر به ۶ مولار، مقدار RWC به طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین مقدار RWC در تیمار پتاسیم و بدون کادمیوم به مقدار ۸۰/۴۳ و کمترین آن در تیمار بدون پتاسیم و کادمیوم بالابه مقدار ۷۴/۶۷ مشاهده شد. همچنین، افزایش غلظت کادمیوم باعث کاهش قابل توجه RWC شد که این کاهش بیانگر اختلال در وضعیت آبی گیاه به واسطه تنش فلز سنگین بود (شکل ۲).

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن پتاسیم باعث افزایش مقدار RWC شد، که این پدیده می‌تواند به نقش حیاتی پتاسیم در تنظیم اسمز سلولی و بهبود جذب آب توسط گیاه نسبت داده شود (Ibrahim et al., 2020). پتاسیم همچنین با تحریک باز و بسته شدن روزنه‌ها و افزایش بازده مصرف آب، نقش مؤثری در حفظ آب برگ ایفا می‌کند (Wang et al., 2013). در مقابل، کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار RWC شد که این کاهش به احتمال زیاد ناشی از آسیب به ساختار غشاهای سلولی و کاهش ظرفیت ریشه برای جذب آب است (Lux et al., 2011). این یافته‌ها با مطالعات قبلی مطابقت دارند که نشان داده‌اند پتاسیم می‌تواند تا حد زیادی اثرات منفی تنش‌های محیطی، از جمله تنش فلزات سنگین را کاهش داده و در بهبود وضعیت فیزیولوژیکی گیاه نقش ایفا کند (Nahar et al., 2016).

محتوای کلروفیل: در بررسی اثر سطوح مختلف پتاسیم و کادمیوم بر میزان کلروفیل a، b و کل (شکل ۳) در گیاه دارویی برازمل، نتایج نشان داد که افزایش پتاسیم به طور معنی‌داری باعث افزایش مقدار هر سه نوع کلروفیل شد. بیشترین غلظت کلروفیل‌ها در تیمار پتاسیم و بدون کادمیوم در کلروفیل a، b و کل به ترتیب به مقدار ۱/۹۴ و ۰/۶۹ و ۲/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. در مقابل، افزایش غلظت کادمیوم منجر به کاهش قابل توجهی در مقدار کلروفیل a، b و کل گردید. در تیمارهایی که فاقد پتاسیم بودند و کادمیوم در سطح بالایی قرار داشت، کمترین میزان کلروفیل اندازه‌گیری شد. در تنش ۵ میکرومولار کادمیوم در شرایط بدون پتاسیم و همراه با پتاسیم میزان کلروفیل a به ترتیب ۵/۴۹ و ۷/۲۹ درصد نسبت به

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر سطوح مختلف پتاسیم بر تنش کادمیوم بر برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه برازمبل

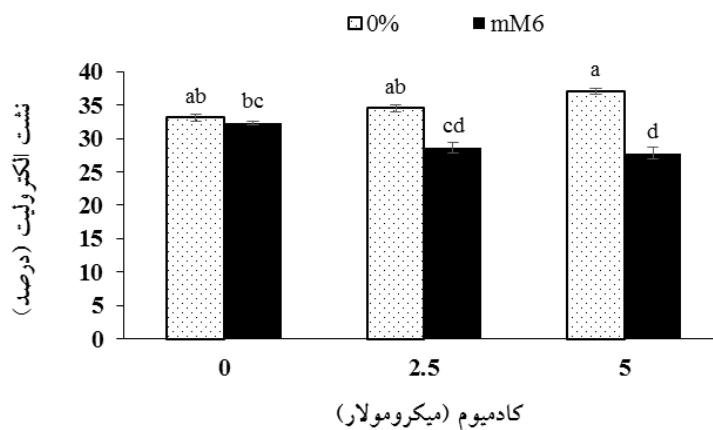
منابع تغییرات	درجه آزادی	نشت الکترولیت	آب نسبی برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	مالون دی آلدئید
پتاسیم	۱	۱۲۵/۵۰۶**	۳۱/۸۱۴**	۰/۰۳۳**	۰/۰۰۵**	۰/۰۹۸**	۲۵/۸**
کادمیم	۲	۵/۰۹۲ ^{ns}	۱۳/۴۷۲**	۰/۰۲۹**	۰/۰۰۵**	۰/۰۷۹**	۱۶/۰۵**
پتاسیم × کادمیم	۲	۲۳/۹۵۳**	۴/۷۴۳*	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۲*	۰/۸۵**
خطا	۱۲	۲/۲۳۵	۰/۵۸۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۸۵
C.V./		۴/۶۳۹	۱/۰۰۳	۰/۹۴۷	۰/۴۱۱	۰/۷۹	۴/۵۴۵

ns، **، * به ترتیب نشان‌دهنده سطح معنی‌داری ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری است.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر سطوح مختلف پتاسیم بر تنش کادمیوم بر برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه برازمبل

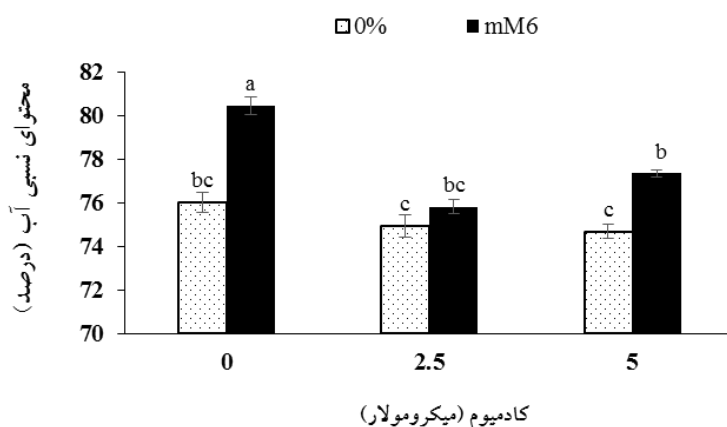
منابع تغییرات	درجه آزادی	فنول	قند	پرولین	آنتی‌اکسیدان	پراکسیداز	کاتالاز
پتاسیم	۱	۳۲**	۳/۹۳۲**	۰/۰۳۸**	۳۶۵/۴**	۰/۴۶۴**	۰/۴۵۸**
کادمیم	۲	۳۴/۰۵۶**	۳/۰۳۱**	۰/۰۱۸**	۱۴۴۵/۱۳**	۰/۰۳۷ ^{ns}	۰/۰۰۷ ^{ns}
پتاسیم × کادمیم	۲	۱/۵*	۰/۱۶۳**	۰/۰۱۱**	۴۴۸/۴**	۰/۰۶۸*	۰/۰۴۲۲*
خطا	۱۲	۰/۲۲۲	۰/۰۱	۰/۰۰۱	۶/۸۳	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹
C.V./		۲/۰۵۹	۶/۸۱۸	۹/۱۰۶	۶/۳۱۳	۷/۴۶۸	۱۱/۹۰۴

ns، **، * به ترتیب نشان‌دهنده سطح معنی‌داری ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری است.

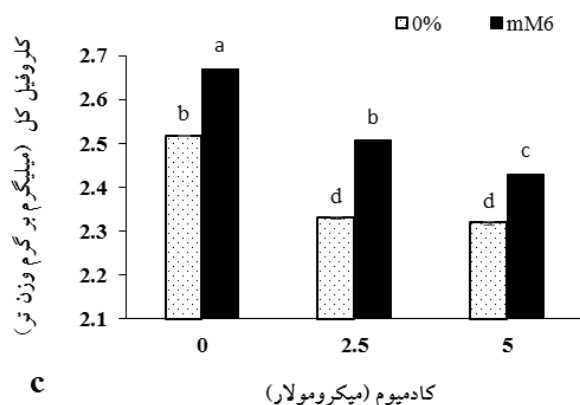
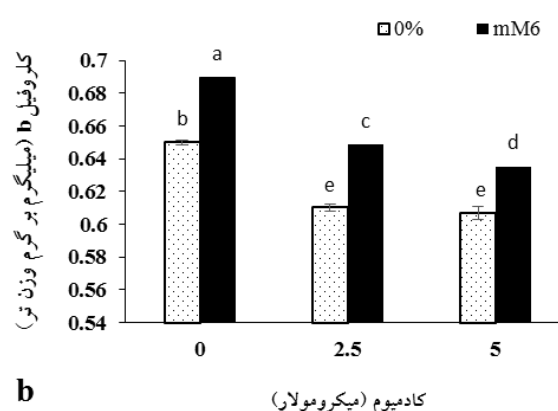
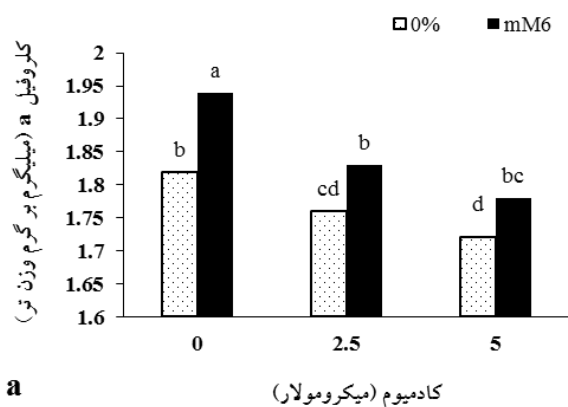


شکل ۱- اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم بر نشت الکترولیت گیاه برازمبل. میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

شرایط بدون کادمیوم کاهش یافت (شکل ۳a). در تیمارهای بدون پتاسیم بین کاربرد غلظت‌های مختلف ۲/۵ و ۵ میکرومولار تفاوت معنی‌دار در کلروفیل کل مشاهده نشد (شکل ۳c). کلروفیل‌ها به عنوان رنگدانه‌های اصلی فتوسنتزی، شاخص‌هایی حساس برای بررسی سلامت فیزیولوژیکی



شکل ۲- اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم بر محتوای نسبی آب گیاه برازمیل. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۳- اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم بر کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b) و کلروفیل کل (c) گیاه برازمیل. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

گیاهان تحت تنش عناصر هستند. در این مطالعه، افزایش پتاسیم منجر به افزایش محتوای کلروفیل a و b گردید که می‌تواند به نقش پتاسیم در تثبیت ساختار کلروپلاست‌ها، بهبود جذب مواد مغذی و کاهش تجزیه کلروفیل مرتبط باشد (Cakmak, 2005). پتاسیم همچنین در تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها و تبادل گازهای فتوسنتزی نقش دارد که در حفظ

پتاسیم منجر به افزایش محتوای کلروفیل a و b گردید که می‌تواند به نقش پتاسیم در تثبیت ساختار کلروپلاست‌ها، بهبود

فتوستتسز مؤثر است (Wang et al., 2013). در مقابل، تنش کادمیوم باعث کاهش قابل توجهی در محتوای کلروفیل شد، که می‌تواند به دلیل آسیب به ساختار کلروپلاست، مهار فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز کلروفیل و افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها باشد (Gonzalez-Mendoza et al., 2013).

مالون دی‌آلدئید: میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) تحت تأثیر معنی‌دار سطوح مختلف پتاسیم و کادمیوم قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش سطح کادمیوم، مقدار MDA در برگ‌های گیاه دارویی برازمل به‌طور قابل توجهی افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب اکسیداتیو در غشای سلولی بود. در مقابل، افزایش سطح پتاسیم باعث کاهش معنی‌دار در سطح MDA شد. کمترین مقدار MDA در تیمار پتاسیم و بدون کادمیوم به مقدار ۴/۵ نانومول بر گرم وزن تر مشاهده شد، در حالیکه بیشترین مقدار آن در تیمار فاقد پتاسیم و دارای بالاترین سطح کادمیوم به مقدار ۹/۴۵ نانومول بر گرم وزن تر به‌دست آمد (شکل ۴).

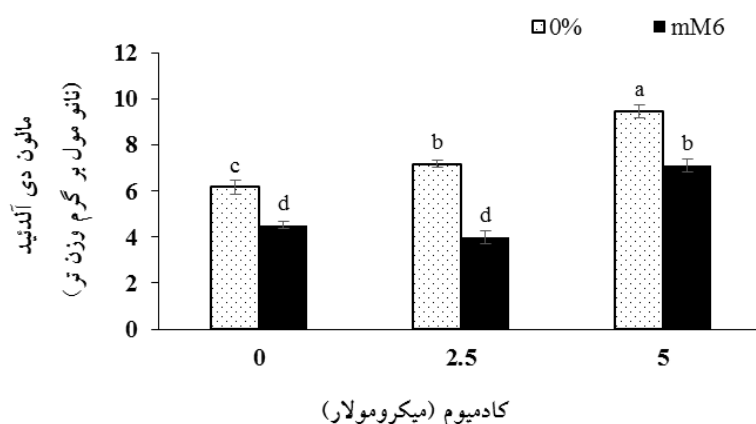
مالون دی‌آلدئید (MDA) محصول نهایی تجزیه لیپیدهای غشای سلولی در شرایط تنش اکسیداتیو است و به عنوان یک شاخص معتبر آسیب به غشا در اثر تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در نظر گرفته می‌شود (Del Rio et al., 2005). در این پژوهش، تیمار کادمیوم منجر به افزایش سطح MDA شد که نشان‌دهنده آسیب شدید به غشاهای سلولی است. این نتیجه با گزارش‌های قبلی مطابقت دارد که نشان می‌دهند فلزات سنگین مانند کادمیوم، از طریق اختلال در تعادل آنتی‌اکسیدانی و افزایش ROS، موجب پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (Gallego et al., 2012).

فنول: نتایج حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل در گیاه دارویی برازمل نشان داد که این صفت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مختلف پتاسیم و کادمیوم قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش سطح کادمیوم، محتوای فنولی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری‌که پایین‌ترین مقدار فنول در تیمار بدون کادمیوم و بدون اعمال پتاسیم به مقدار ۱۵/۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد. از طرف دیگر،

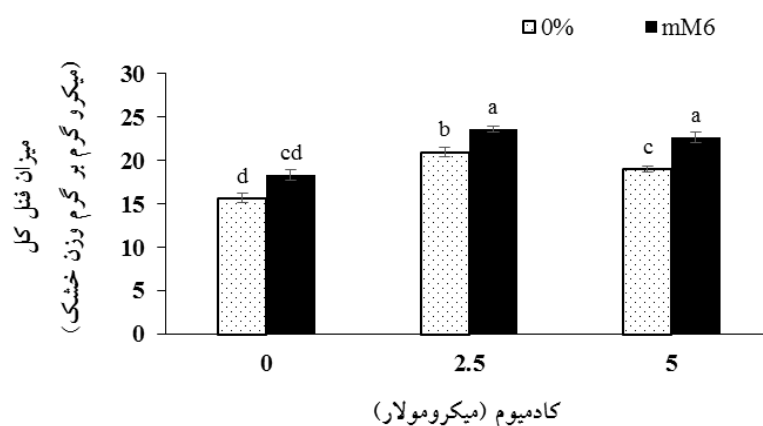
افزایش سطح پتاسیم نیز موجب افزایش معنی‌داری در محتوای فنول در هر یک از سطوح کادمیوم شد. ۵ میکرومولار کادمیوم سبب افزایش فنول در تیمارهای بدون پتاسیم و پتاسیم‌دار (۳۰ و ۱۴ درصد، به ترتیب) شد. این یافته نشان‌دهنده تعامل مثبت بین پتاسیم و تنش فلز سنگین در القای ترکیبات دفاعی گیاه است (شکل ۵).

ترکیبات فنولی از جمله متابولیت‌های ثانویه مهم در گیاهان هستند که نقش حیاتی در حفاظت گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو، فلزات سنگین، و عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کنند (Michalak, 2006). در این پژوهش، افزایش معنی‌دار محتوای فنولی در پاسخ به تنش کادمیوم مشاهده شد که می‌تواند به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه مربوط باشد. گیاهان برای مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین، سنتز ترکیبات فنولی را افزایش می‌دهند تا از آسیب به پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک جلوگیری کنند (Sharma and Dietz, 2009). از سوی دیگر، پتاسیم با بهبود وضعیت تغذیه‌ای و تنظیم تعادل یونی گیاه، می‌تواند سنتز ترکیبات فنولی را تحریک کند. همچنین گزارش شده که پتاسیم می‌تواند از طریق تقویت فعالیت آنزیم‌های دخیل در مسیر فنیل‌پروپانوید، تولید فنول‌ها را افزایش دهد (Cakmak, 2005). ترکیب تنش کادمیوم با پتاسیم بالا، باعث پاسخ دفاعی قوی‌تری در گیاه شد که نشان‌دهنده نقش محافظتی پتاسیم در القای سیستم‌های دفاعی ثانویه است.

کربوهیدرات: نتایج نشان داد که افزایش سطح پتاسیم موجب افزایش معنی‌دار در میزان کربوهیدرات‌های کل شد (جدول ۱). بالاترین مقدار کربوهیدرات در تیمار پتاسیم و بدون کادمیوم به مقدار ۲/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده گردید. از سوی دیگر، کادمیوم باعث کاهش قابل توجه کربوهیدرات‌ها در گیاه شد، به‌طور مثال پایین‌ترین میزان کربوهیدرات در تیمار ۵ میکرومولار کادمیوم بدون حضور پتاسیم به مقدار ۰/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد. ترکیب پتاسیم و کادمیوم نشان داد که پتاسیم می‌تواند اثرات منفی کادمیوم را تعدیل کرده و کربوهیدرات‌ها را در گیاه



شکل ۴- اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم بر مالون دی آلدئید گیاه برازمل. میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



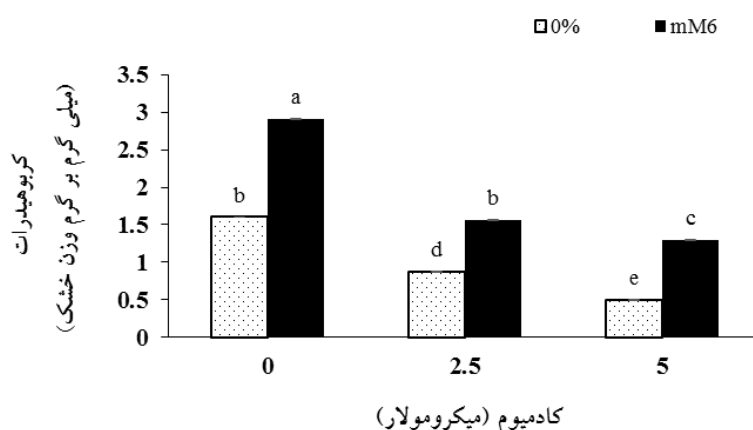
شکل ۵- اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم بر میزان فنول کل گیاه برازمل. میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

از آسیب به ساختارهای سلولی و کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در مسیرهای متابولیک کربوهیدراتی باشد. کادمیوم به‌عنوان یک فلز سنگین، با ایجاد استرس اکسیداتیو و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، موجب تخریب مواد مغذی گیاهی و کاهش ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها می‌شود (Unsal et al., 2020). این نتایج با سایر مطالعاتی که نشان‌دهنده کاهش کربوهیدرات‌ها تحت تنش‌های فلزی هستند، همخوانی دارند (Zhou et al., 2019).

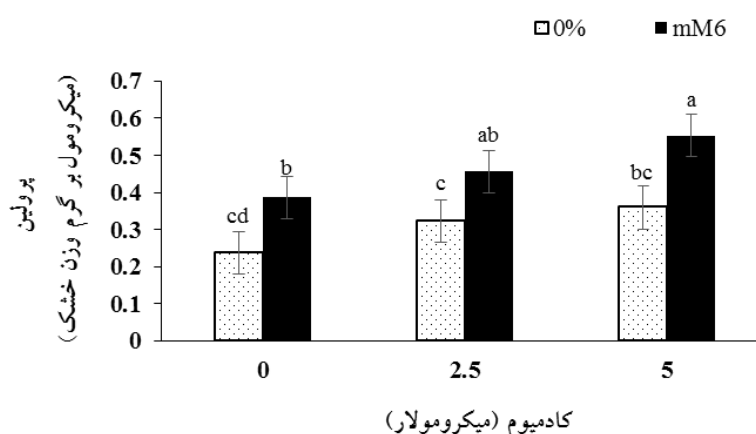
پرولین: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم، سطح پرولین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. این افزایش به‌ویژه در تیمارهای با بالاترین سطح کادمیوم مشهود بود. از طرفی

برازمل حفظ کند (شکل ۶).

کربوهیدرات‌ها به‌عنوان منابع انرژی اصلی در گیاهان، نقش مهمی در فرایندهای متابولیک و دفاعی ایفا می‌کنند. این ترکیبات به‌ویژه در شرایط تنش، برای تأمین انرژی سلولی و تنظیم فشار اسمزی اهمیت زیادی دارند (Taiz and Zeiger, 2010). در این مطالعه، افزایش پتاسیم منجر به افزایش کربوهیدرات‌ها شد که این موضوع به نقش پتاسیم در بهبود وضعیت تغذیه‌ای و تنظیم متابولیسم گیاهی اشاره دارد. پتاسیم به‌ویژه در تولید و ذخیره‌سازی نشاسته و سایر کربوهیدرات‌ها مؤثر است (Cakmak, 2005). از سوی دیگر، کادمیوم باعث کاهش سطح کربوهیدرات‌ها در گیاهان شد، که می‌تواند ناشی



شکل ۶- اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم بر کربوهیدرات گیاه برازمبل. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

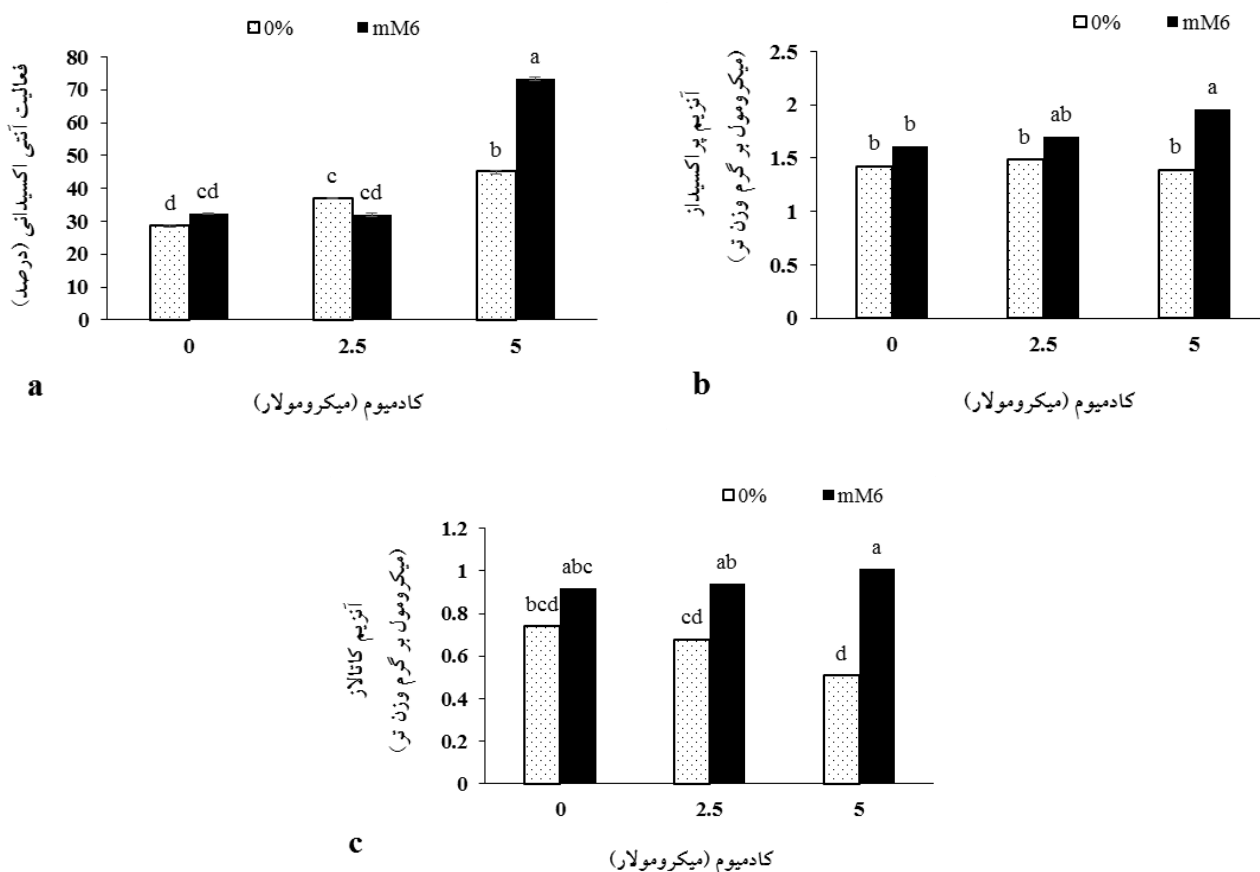


شکل ۷- اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم بر پروکلین گیاه برازمبل. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

دارد (Szabados and Savoure, 2010). در این مطالعه، سطح پروکلین در پاسخ به تنش کادمیوم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، که مطابق با یافته‌های قبلی مبنی بر نقش پروکلین به‌عنوان شاخص بیوشیمیایی حساس به استرس فلزات سنگین است (Reddy *et al.*, 2024). افزایش سطح پروکلین در حضور پتاسیم نیز نشان‌دهنده عملکرد تنظیم‌کننده‌ای این عنصر در مسیرهای متابولیکی مرتبط با تولید پروکلین است. پتاسیم می‌تواند با تقویت فعالیت آنزیم‌هایی چون P5CS (پروکلین-۵-کریوکسیلات سنتاز)، سنتز پروکلین را تحریک کرده و ظرفیت دفاعی گیاه را در برابر تنش‌های اکسیداتیو ارتقاء دهد (Cakmak, 2005).

افزایش سطح پتاسیم نیز منجر به افزایش سطح پروکلین شد در تیمار بدون کادمیوم با افزایش پتاسیم میزان فنول ۵۹ درصد افزایش یافت. بالاترین مقدار پروکلین در تیمار ترکیبی پتاسیم و کادمیوم ۵ میکرومولار به مقدار ۰/۵۵ میکرومول بر گرم وزن خشک به‌دست آمد. همچنین پایین‌ترین سطح پروکلین در تیمار عدم استفاده از کادمیوم و پتاسیم به مقدار ۰/۲۴ میکرومول بر گرم وزن خشک مشاهده شد (شکل ۷).

پروکلین یکی از مهم‌ترین اسیدهای آمینه سازگارکننده در شرایط تنش غیرزیستی است که نقش‌های متعددی نظیر تنظیم اسمزی، پایداری ساختارهای پروتئینی و غشایی، خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و ذخیره انرژی



شکل ۸- اثر متقابل پتاسیم و کادمیوم بر فعالیت آنتی اکسیدانی (a)، آنزیم پراکسیداز (b) و کاتالاز (c) گیاه برازمبل. میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

کاربرد پتاسیم فعالیت این آنزیم افزایش یافت (شکل ۸b). میزان کاتالاز با کاربرد پتاسیم افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری با افزایش غلظت کادمیوم بر فعالیت این آنزیم مشاهده نشد (شکل ۸c).

در این پژوهش، افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در تیمارهای حاوی کادمیوم نشان‌دهنده القای دفاع اکسیداتیو توسط گیاه است. از سوی دیگر، پتاسیم با بهبود تنظیم اسمزی، تعادل یونی و افزایش سنتز آنزیم‌های دفاعی، نقش مهمی در تعدیل اثرات مخرب کادمیوم ایفا کرده است (Cakmak, 2005). افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در حضور همزمان پتاسیم و کادمیوم، نشان‌دهنده تعامل مثبت بین این دو عامل و ارتقاء سیستم دفاعی گیاه است. مطالعات مشابه نیز گزارش کرده‌اند که پتاسیم می‌تواند با تقویت سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی اکسیدانی، مقاومت گیاه در برابر تنش‌های فلزی مانند

فعالیت آنتی اکسیدانی و آنزیمی: نتایج نشان داد فعالیت آنتی اکسیدان کل (شکل ۸a)، آنزیم‌های پراکسیداز (POD) و کاتالاز (CAT) (شکل ۸b, c) گیاه دارویی برازمبل به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مختلف پتاسیم و کادمیوم قرار گرفت (جدول ۱). تنش کادمیوم به‌تنهایی باعث افزایش معنی‌دار در فعالیت آنتی اکسیدان کل و آنزیم پراکسیداز شد و در آنزیم کاتالاز تفاوت معنی‌داری نشان داده نشد. اما به طور کلی در هنگام اعمال تیمار پتاسیم، این صفات ذکرشده، نسبت به عدم استفاده، افزایش معنی‌داری از خود نشان دادند. ترکیب پتاسیم و کادمیوم ۵ میکرومولار سبب بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی گردید و تیمار پتاسیم سبب افزایش ۶۸ درصدی این شاخص در شرایط کادمیوم ۵ میکرومولار نسبت به شرایط بدون پتاسیم شد (شکل ۸a). میزان آنزیم پراکسیداز در شرایط بدون پتاسیم با افزایش کادمیوم تفاوت معنی‌داری نداشت اما با

ساختار CAT و افزایش فعالیت آن نیز می‌شود (Hasanuzzaman et al., 2011). این یافته با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوان است، جایی که تیمارهای حاوی پتاسیم باعث افزایش چشمگیر در فعالیت CAT شده‌اند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که کادمیوم به‌عنوان یک فلز سنگین سمی، اثرات منفی قابل توجهی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله کاهش محتوای آب برگ، کلروفیل‌ها و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها گیاه دارویی برازمبل دارد. در مقابل، پتاسیم نقش مؤثری در کاهش این اثرات داشت و توانست از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، حفظ پایداری غشاها و تقویت تولید ترکیبات دفاعی مانند فنول و پرولین، تحمل گیاه را در برابر تنش کادمیوم افزایش دهد. به‌طور کلی، استفاده از پتاسیم به‌عنوان یک راهکار تغذیه‌ای، می‌تواند در کاهش خسارات ناشی از تنش فلزات سنگین و ارتقاء سلامت و عملکرد گیاه برازمبل مؤثر باشد.

کادمیوم را افزایش دهد (Nahar et al., 2016; Farooq et al., 2016). بنابراین، نتایج این پژوهش تأیید می‌کند که گیاه برازمبل با بهره‌گیری از سیستم آنتی‌اکسیدانی خود و در حضور پتاسیم، قادر به مقابله مؤثرتر با اثرات منفی کادمیوم است. همچنین، تیمارهای پتاسیمی موجب افزایش فعالیت POD شده‌اند که این نتیجه مؤید گزارش‌هایی است که بیان می‌کنند پتاسیم با کاهش نشت یونی و حفظ تعادل کاتیونی در سلول، موجب حفظ عملکرد آنزیم‌های حساس به استرس می‌شود (Cakmak, 2005). فعالیت بالای POD در تیمارهای ترکیبی کادمیوم و پتاسیم نشان‌دهنده یک پاسخ هم‌افزایانه برای کاهش استرس اکسیداتیو و حفظ تعادل فیزیولوژیک در گیاه است.

کاتالاز، آنزیمی با فعالیت بالا در سلول‌های گیاهی است که نقش اصلی آن تجزیه سریع پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن بدون تولید گونه‌های سمی میانی است (Mittler, 2002). افزایش فعالیت CAT در تیمارهای کادمیوم نشان‌دهنده تلاش گیاه برای حذف H_2O_2 اضافی و پیشگیری از پراکسیداسیون لیپیدی است. با این حال، فعالیت این آنزیم به‌شدت تحت تأثیر وضعیت تغذیه‌ای گیاه قرار دارد. پتاسیم با بهبود شرایط فیزیولوژیکی سلول و جلوگیری از آسیب غشایی، نه‌تنها اثرات کادمیوم را کاهش می‌دهد، بلکه سبب پایداری

منابع

- سفیدکن، فاطمه (۱۳۷۹). بررسی ترکیب‌های فرار برازمبل بلوچی *Perovskia atriplicifolia* Benth. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۶(۱)، ۲۹-۴۷.
- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Zia-ur-Rehman, M., Ibrahim, M., Abbas F., & Irshad, M. K. (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 119, 186-197. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.05.011>
- Aebi, H. (1984). Catalase in Vitro. In *Methods in Enzymology*. Academic Press.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Berni, R., Luyckx, M., Xu, X., Legay, S., Sergeant, K., Hausman, J. F., & Guerriero, G. (2019). Reactive oxygen species and heavy metal stress in plants: Impact on the cell wall and secondary metabolism. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 98-106.
- Cakmak, I. (2005). The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 521-530. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420485>
- Chance, B., & Maehly, A. C. (1955) Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.

- Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316-328.
- El-Mahrouk, E. S. M., Eldawansy, S. M., El-Tarawy, A. M., Ebrahim, H. M. A., Eisa, E. A., Tilly-Mandy, A., & Honfi, P. (2024). Evaluation of the growth, enzymatic activity, electrolyte leakage, and phytoremediation efficiency of *Conocarpus erectus* under cadmium and lead stress. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1466697.
- Farooq, M. A., Ali, S., Hameed, A., Bharwana, S. A., Rizwan, M., Ishaque, W., & Iqbal, Z. (2016). Cadmium stress in cotton seedlings: Physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. *South African Journal of Botany*, 104, 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.11.006>
- Gallego, S. M., Pena, L. B., Barcia, R. A., Azpilicueta, C. E., Iannone, M. F., Rosales, E. P., & Benavides, M. P. (2012). Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 83, 33-46.
- Gonzalez-Mendoza, D., Moreno, A., & Zapata-Perez, O. (2013). Cd stress in plants: Effects on growth and photosynthesis. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(6), 1743-1751.
- Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., & Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Environmental Research*, 111887. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111887>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Nahar, K., Hossain, M. S., Mahmud, J. A., Hossen, M. S., & Fujita, M. (2018). Potassium: A vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. *Agronomy*, 8(3), 31. <https://doi.org/10.3390/agronomy8030031>
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., & Fujita, M. (2011). Selenium-induced up-regulation of antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system reduces salinity-induced damage in rapeseed seedlings. *Biological Trace Element Research*, 143(3), 1704-1721. DOI: 10.1007/s12011-011-8958-4
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198.
- Huang, B., Liao, Q., Fu, H., Ye, Z., Mao, Y., Luo, J., & Xin, J. (2023). Effect of potassium intake on cadmium transporters and root cell wall biosynthesis in sweet potato. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 250, 114501.
- Huxley, A. (1992). The new Royal Horticultural Society dictionary of gardening. Macmillan.
- Ibrahim, M. F., Abd El-Samad, G., Ashour, H., El-Sawy, A. M., Hikal, M., Elkelish, A., & Farag, R. (2020). Regulation of agronomic traits, nutrient uptake, osmolytes and antioxidants of maize as influenced by exogenous potassium silicate under deficit irrigation and semiarid conditions. *Agronomy*, 10(8), 1212.
- Jassbi, A. R., Miri, R., Asadollahi, M., Javanmardi, N., & Firuzi, O. (2016). Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial effects of *Perovskia atriplicifolia* essential oil. *Natural Product Communications*, 11(5). DOI: 10.3109/13880209.2013.810650
- Johnson, R., Vishwakarma, K., Hossen, M. S., Kumar, V., Shackira, A. M., Puthur, J. T., & Hasanuzzaman, M. (2022). Potassium in plants: Growth regulation, signaling, and environmental stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 172, 56-69.
- Kumari, S., Chhillar, H., Chopra, P., Khanna, R. R., & Khan, M. I. R. (2021). Potassium: A track to develop salinity tolerant plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 167, 1011-1023.
- Li, Y., Rahman, S. U., Qiu, Z., Shahzad, S. M., Nawaz, M. F., Huang, J., & Cheng, H. (2023). Toxic effects of cadmium on the physiological and biochemical attributes of plants, and phytoremediation strategies: A review. *Environmental Pollution*, 325, 121433.
- Liao, Q., Xiao, H., Chen, L., Shen, C., Wang, B., Zhou, W., ... & Huang, Y. (2025). Potassium alters cadmium accumulation and translocation by regulating root cell wall biosynthesis in *Brassica napus*. *Scientia Horticulturae*, 339, 113833.
- Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78(3), 389-398.
- Lux, A., Martinka, M., Vaculik, M., & White, P. J. (2011). Root responses to cadmium in the rhizosphere: A review. *Journal of Experimental Botany*, 62(1), 21-37.
- Marschner, H. (2012). Mineral Nutrition of Higher Plants. Elsevier.
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4).
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Mohammadhosseini, M., Venditti, A., & Akbarzadeh, A. (2021). The genus *Perovskia* Kar.: Ethnobotany, chemotaxonomy and phytochemistry: A review. *Toxin Reviews*, 40(4), 484-505.
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., Rahman, A., Suzuki, T., & Fujita, M. (2016). Polyamine and nitric oxide crosstalk: Antagonistic effects on cadmium toxicity in mung bean plants through upregulating the metal detoxification, antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Ecotoxicology and Environmental*

- Safety*, 126, 245-255. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.026>
- Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A., Khan, M. I. R., Syeed, S., & Khan, N. A. (2012). Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 3(10), 1476-1489. <https://doi.org/10.4236/ajps.2012.310178>
- Rahmani, I., Ahmadi, N., Ghanati, F., & Tehrani, M. M. (2020). Potassium supplementation mitigates cadmium toxicity in wheat by enhancing photosynthesis and antioxidant defense. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 25276-25286. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08989-6>
- Reddy, S. H., Al-kalbani, H., Al-Qalhathi, S., Al-Kahtani, A. A., Al Hoqani, U., Azmi, S. N. H., & Settaluri, V. S. (2024). Proline and other physiological changes as an indicator of abiotic stress caused by heavy metal contamination. *Journal of King Saud University-Science*, 36(8), 103313.
- Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M. Z., Rinklebe, J., Tsang, D. C., Bashir, A., & Ok, Y. S. (2018). Cadmium phytoremediation potential of Brassica crop species: A review. *Science of the Total Environment*, 631, 1175-1191. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.104>
- Samet, H., Cıkılı, Y., & Atikmen, N. C. (2017). Role of potassium in alleviation of cadmium toxicity in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University (JAFAG)*, 34(1), 179-188.
- Sharma, S. S., & Dietz, K. J. (2009). The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends in Plant Science*, 14(1), 43-50.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Szabados, L., & Savoure, A. (2010). Proline: A multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89-97.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology*. 5th Ed. Sinauer Associates.
- Unsal, V., Dalkiran, T., Cicek, M., & Kolukcu, E. (2020). The role of natural antioxidants against reactive oxygen species produced by cadmium toxicity: A review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 10(2), 184.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. J. P. S. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66.
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., & Guo, S. (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 7370-7390. <https://doi.org/10.3390/ijms14047370>
- Yemm, E. W., & Willis, A. J. (1954). The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *The Biochemical Journal*, 57, 508-514.
- Zengin, G., Aktumsek, A., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., & Yildiztugay, E. (2011). Antioxidant properties of methanolic extract and fatty acid composition of *Centaurea urvillei* DC. subsp. *hayekiana* wagenitz. *Records of Natural Products*, 5(2).
- Zhou, J., Xu, H., & Liu, X. (2019). The role of potassium in mitigating cadmium-induced toxicity in plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(23), 23932-23942.

Investigation of the effects of cadmium stress and the modulating role of potassium on the physiological and biochemical responses of Russian Sage (*Perovskia atriplicifolia*)

Atiyeh Oraee*¹, Toktam Oraee²

¹ Department of Plant Sciences, Medicinal Plants, Eqbal Lahoorei Higher Education Institute of Mashhad, Iran

² Department of Horticulture and Green Spaces, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

(Received: 2025/04/27, Accepted: 2025/06/10)

Abstract

Soil contamination with heavy metals, particularly cadmium, poses a significant challenge in medicinal plant production. Conversely, nutrients like potassium can play a vital role in mitigating the adverse effects of these stresses. This study aimed to investigate the effect of potassium in alleviating cadmium stress in the medicinal plant Russian Sage. The experiment was conducted as a factorial design in a complete randomized block design with three replicates, evaluating two levels of potassium and three levels of cadmium in the year 2024. Parameters such as electrolyte leakage, relative water content of leaves, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, malondialdehyde, total phenols, carbohydrates, proline, antioxidant activity, and activities of peroxidase and catalase enzymes were assessed. Results showed that cadmium significantly reduced physiological traits and increased oxidative damage indicators such as electrolyte leakage and malondialdehyde (by 53.4%) in Russian Sage. Conversely, higher potassium levels helped maintain chlorophyll content (2.43 mg g⁻¹ FW) and enhanced defense compounds, including carbohydrates (1.29 mg g⁻¹ DW), proline (0.53 μmol g⁻¹ FW), and phenols (26.3 μg g⁻¹ DW), as well as antioxidant enzyme activities under 5 μM cadmium conditions. The interaction effect between potassium and cadmium was significant across all traits, with potassium effectively mitigating the negative impacts of cadmium stress. Overall, the findings suggest that potassium application can serve as an effective strategy to reduce cadmium-induced damage and improve Russian Sage's tolerance in contaminated soils.

Keywords: Russian Sage, Heavy metals, Medicinal plants, Moderating role

Corresponding author, Email: a.oraee@eqbal.ac.ir