

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

زهرة شیرخانی<sup>۱</sup>، عبدالکریم چهرگانی راد<sup>۱\*</sup>، منصور غلامی<sup>۲</sup> و فریبا محسن زاده<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

<sup>۲</sup> 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 برگ‌ها با غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) بر برخی پارامترهای مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی 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 به ترتیب 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 بذرها، 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 تغییر در برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و تغییر در الگوی پروتئینی توانسته در مقابل آسیب‌های ناشی از تنش آلودگی کادمیوم مقاومت نماید.

کلمات کلیدی: تاتوره، جذب برگ‌ها، شاخص‌های مرفولوژیکی، شاخص‌های فیزیولوژیکی، کادمیوم

### مقدمه

چندین برابر بیشتر از انتشار 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 برگ‌ها آهن، مس، روی و منگنز را گزارش داده‌اند (Wojcik, 2004, Fernandez and Brown, 2013). تحقیقات نشان داده است که این فلزات

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 بیولوژیکی به ترکیبات بی‌ضرر تجزیه نمی‌شوند (Gisbert *et al.*, 2003). بر طبق مطالعات Spiegel و Chmielewska (۲۰۰۳) انتشار فلزات سنگین در اتمسفر به‌وسیله فعالیت‌های انسانی

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

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 (۲۰۰۶) گزارش دادند که تحت شرایط تنش کادمیوم، رشد ریشه و اندام‌های هوایی در *Brasica napus* و *Brasica juncea* کاهش می‌یابد. در تحقیقات چهارگانی و همکاران (۱۳۹۶) 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 مرحله ۲-۳ برگ حقیقی به گلدان‌هایی با ارتفاع ۲۱ و قطر ۲۰ سانتی‌متر و حاوی ۴ کیلوگرم خاک منتقل شدند. تراکم کشت برای هر گلدان یک بوته در نظر گرفته شد. گلدان‌ها در گلخانه‌ای با میانگین دمای  $25 \pm 5$  درجه‌ی سانتیگراد، شدت نور  $85 \text{ mmol/m}^2 \cdot \text{s}$  و رطوبت نسبی ۶۵ درصد قرار گرفتند.

محلول‌پاشی به‌صورت روزانه یک هفته بعد از انتقال به

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 اندام‌های هوایی گیاه ساختارهای جذب‌کننده مؤثری 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 موجودات زنده شامل میکروب‌ها، گیاهان، جانوران و انسان سمی شناخته شده است (Xu and Wang, 2014). کادمیوم در بافت‌های موجودات زنده 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 غیر آنزیمی همانند گلوکوتایون احیا شده، فنل، کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز تولید می‌کنند (Khan et al., 2013).

مطالعات Barber و همکاران (۲۰۰۴) 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.

چهارگانی و همکاران (۱۳۹۴) 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

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: وزن 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 ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و پس از طی این زمان هدایت الکتریکی نمونه‌ها به کمک EC متر 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 اندازه‌گیری شد. در نهایت اعداد حاصله در فرمول زیر جایگذاری و شاخص پایداری غشا سلول محاسبه گردید (Sairam, 1994).

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

EC1: هدایت الکتریکی نمونه‌های آزمایشی در زمان ۱۰ دقیقه

EC2: هدایت الکتریکی نمونه‌های آزمایشی در زمان ۳۰ دقیقه

سنجش رنگی‌های فتوسنتزی: به منظور اندازه‌گیری

محتوای رنگی‌های فتوسنتزی از روش Lichtenthaler و Buschmann (۲۰۰۱) استفاده گردید. سنجش پس از دو ماه تیمار در مرحله زایشی گیاه انجام شد. میزان جذب در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل IIBiowave انگلستان) ثبت گردید. میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در هر یک از نمونه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید:

$$C_a (\mu g/ml) = 12/25 A_{663/2} - 2/79 A_{646/8}$$

$$C_b (\mu g/ml) = 21/50 A_{646/8} - 5/10 A_{663/2}$$

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

$$C_{x+c} = (1000 A_{670} - 1/82 C_a - 852/0.2 C_b) / 198$$

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. نمونه‌گیری 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: به منظور 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 میلی‌لیتر اسیدنیتریک غلیظ افزوده شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد در حمام آب گرم قرار گرفتند. سپس ۲/۶ میلی‌لیتر آب اکسیژنه 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 به دست آمد. با قرار

C<sub>a</sub>: غلظت کلروفیل aC<sub>b</sub>: غلظت کلروفیل b

Tchl: کلروفیل کل

C<sub>x+c</sub>: غلظت کاروتنوئیدها

(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 ۴/۶)، آب اکسیژنه ۱۶ میلی‌مولار، گایاکول ۱۵ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی تعیین گردید. جذب نوری محلول در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Liu et al., 1999). فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با افزایش جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۰۰ میلی‌مولار (pH ۶/۸)، 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 دودسیل سولفات 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 کوماسی برلیانت بلو R<sub>250</sub> 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 آبی کوماسی برلیانت بلو و چند مرحله رنگ‌بری ژل، با استفاده 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 (version 9.1) صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم‌افزار Excell 2007 رسم گردید.

**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 میلی‌لیتر اتانول ۷۰ 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 ۴۸۵ 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 میلی‌لیتر بافر فسفات (pH ۶) 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 ۴- 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:**

سنجش 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 پس از ۲۵ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. محتوای پروتئین کل بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد سرم آلبومین گاوی

## نتایج

**سنجش کادمیوم در بافت گیاهی:** نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم تیماری، کادمیوم جذب شده به وسیله 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 ۱۱۱/۶ 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 شماره ۱ اثر تیمار کلرید کادمیوم بر وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، مساحت سطح برگ و NAR را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد 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 به ترتیب از ۸۹g، ۲۲/۵g، ۳۴/۶cm، ۱۲۲/۵ cm<sup>2</sup> و ۱۴/۷۲ mg.cm<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> در نمونه‌های شاهد به ۵۶/۵g، ۱۰/۷۵g، ۲۲/۶۵cm<sup>2</sup>، ۵۸/۷۵cm<sup>2</sup> و ۱۰/۴۸ mg.cm<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> 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 به دست 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 لیتر کادمیوم ۲۵ درصد بود (شکل ۲).

## محتوای نسبی آب بافت:

محتوای نسبی آب بافت در سطوح ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم 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 لیتر کادمیوم فاقد اختلاف آماری معنی‌دار با گروه شاهد بود. محتوای نسبی آب بافت به میزان ۱۱/۶۲ درصد در گروه تیماری ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (شکل ۳).

## سنجش رنگی‌های فتوسنتزی:

محتوای رنگی‌های فتوسنتزی در شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با تیمار کادمیوم میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها کاهش می‌یابد به طوری که بیشترین میزان رنگی‌های فتوسنتزی در نمونه‌های شاهد و کمترین آن در تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم مشاهده 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:

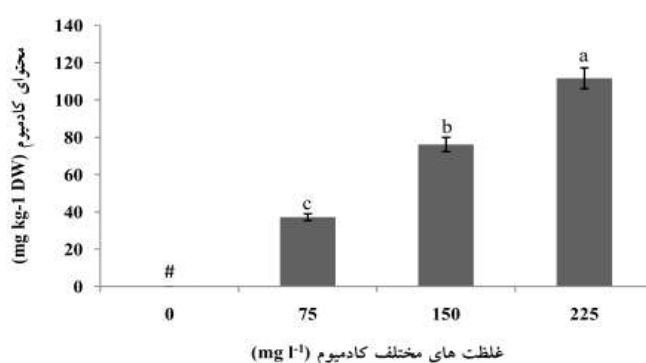
آنالیز داده‌های مربوط به میزان کربوهیدرات‌های محلول کاهش معنی‌دار (P ≤ ۰/۰۱) در گروه‌های تحت تیمار نسبت به گروه شاهد را نشان داد. کمترین میزان در گروه تیماری ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم مشاهده شد. میزان کاهش قندهای محلول در گیاهان تحت تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم نسبت به گروه شاهد ۵۱ درصد بود. تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تحت تیمار با غلظت‌های مختلف کادمیوم مشاهده نشد (شکل ۵).

## سنجش محتوای پروتئین کل و فعالیت آنزیمی:

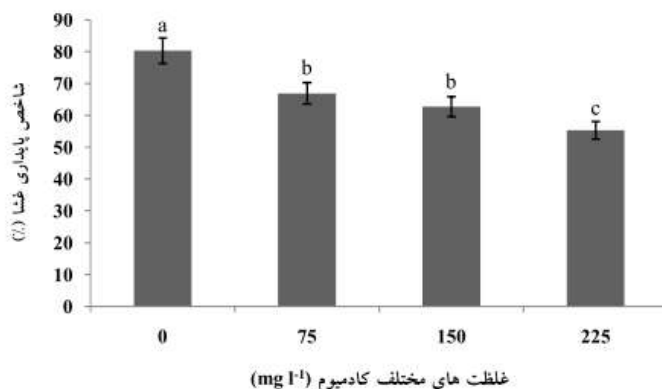
کادمیوم بر روی محتوای پروتئین کل برگ‌های تازه تاتوره در شکل ۶ نشان داده شده است. در گیاهان تحت تیمار کادمیوم مقدار پروتئین کل به‌طور معنی‌داری (P ≤ ۰/۰۱) بیشتر از گروه شاهد بود. بیشترین مقدار در گروه تیماری ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده گردید. مقدار پروتئین کل در گروه تیماری ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم ۱۱/۰۲ برابر گروه شاهد بود. در گروه‌های تیماری ۱۵۰ و ۲۲۵

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) بر برخی شاخص‌های رشد در تاتوره. هر ستون معرف میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار است.

NAR ( $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ )	وزن خشک اندام هوایی (g)	ارتفاع (cm)	وزن خشک اندام هوایی (g)	وزن تر اندام هوایی (g)	کادمیوم ( $\text{mg l}^{-1}$ )
۱۴/۷۲ $\pm$ ۰/۸۱a	۲۲/۵ $\pm$ ۱/۱۷a	۳۴/۶ $\pm$ ۳/۰۵a	۲۲/۵ $\pm$ ۱/۱۷a	۸۹ $\pm$ ۳a	۰
۱۳/۵۱ $\pm$ ۱/۵۰a	۱۵/۸۹ $\pm$ ۴/۱b	۲۶/۹۳ $\pm$ ۱/۸۵b	۱۵/۸۹ $\pm$ ۴/۱b	۶۹/۳۳ $\pm$ ۴b	۷۵
۱۴ $\pm$ ۲a	۱۳/۲۷ $\pm$ ۰/۹۷bc	۲۳/۵ $\pm$ ۲/۳۵b	۱۳/۲۷ $\pm$ ۰/۹۷bc	۶۱ $\pm$ ۲/۰۸c	۱۵۰
۱۰/۴۸ $\pm$ ۱/۵b	۱۰/۷۵ $\pm$ ۱/۰۸c	۲۲/۶۵ $\pm$ ۲/۷۴b	۱۰/۷۵ $\pm$ ۱/۰۸c	۵۶/۵ $\pm$ ۱/۵c	۲۲۵



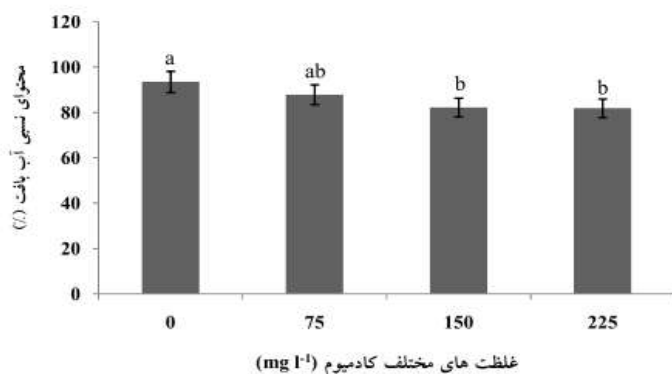
شکل ۱- مقدار کادمیوم اندام‌های هوایی در گروه‌های مختلف تیماری کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است. # مقدار کمتر از ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک.



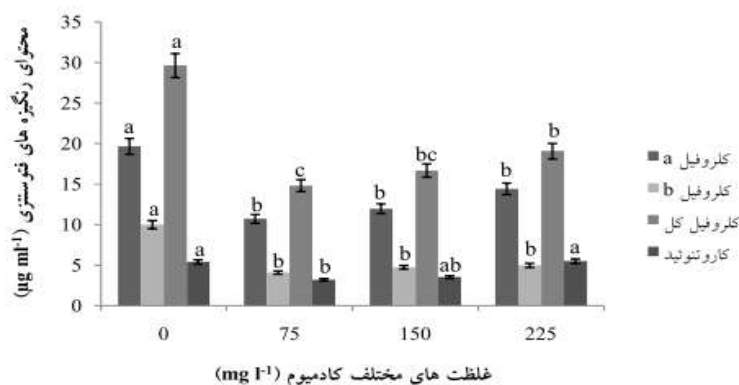
شکل ۲- شاخص پایداری غشا (%) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.

تنها در گیاهانی که در معرض غلظت ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم قرار گرفتند دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد است ( $P \leq 0/05$ ). میزان فعالیت آنزیم از ۰/۰۰۲ واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در نمونه شاهد به

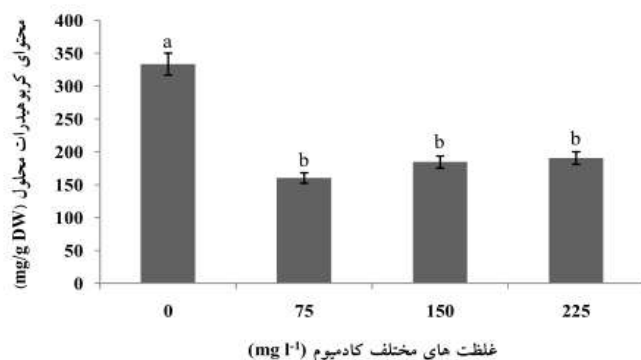
پروتئین نسبت به گروه تیماری ۷۵ کاهش یافت. فعالیت دو آنزیم درگیر (پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) در سم‌زدایی تنش‌های اکسیداتیو، اندازه‌گیری شد. محاسبه میزان فعالیت آنزیمی مشخص کرد که فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز



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

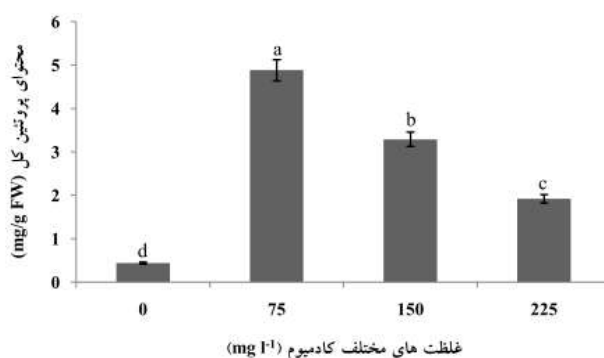


شکل ۵- محتوای کربوهیدرات‌های محلول تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر). حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت معنی‌دار است.

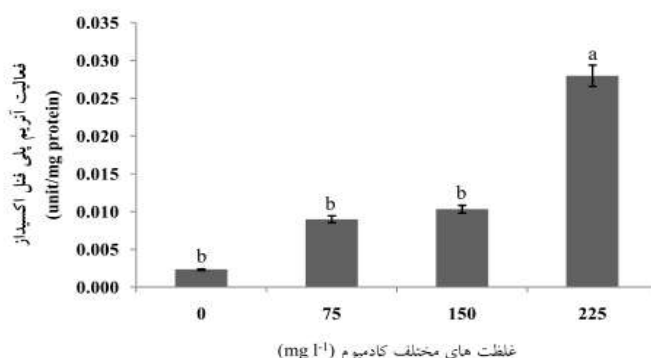
نداشته است.

نتایج حاصل از بررسی الکتروفورزی پروتئین بذر: نیمرخ پروتئینی بذره‌های گیاهان آلوده و شاهد به‌دست آمده از

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



شکل ۶- محتوای پروتئین کل تحت تأثیر غلظت‌های 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.

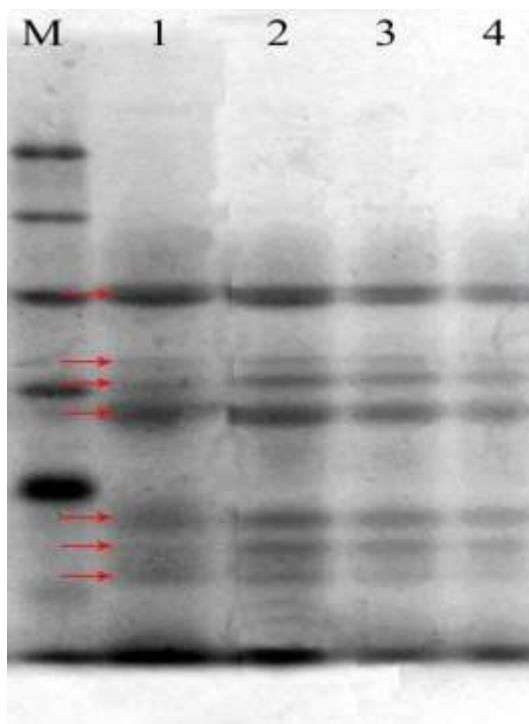
اتمسفر را با انتشار آلاینده‌های مختلف، از جمله فلزات سنگین، به شدت تحت تأثیر قرار داده است. وجود سطوح بالای فلزات سنگین در محیط‌زیست به دلیل سمیت بالا و تمایل به انباشته‌سازی زیست‌محیطی و پایداری در اکوسیستم یک تهدید بالقوه برای سلامت انسان و اکوسیستم‌ها است (Goix *et al.*, 2014; Su and Liang, 2015).

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 برگ 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

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 از این باندها مشاهده 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 ۳-۴ دهه گذشته کیفیت



شکل ۸- مقایسه نیمرخ الکتروفورزی پروتئین‌های بذر در گروه شاهد و تحت تیمار غلظت‌های مختلف کادمیوم. M: مارکر پروتئینی، ۱، ۲، ۳ و ۴ 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.

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 داده‌اند که 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

طور گسترده مطالعه شده است، اطلاعات کمتری در مورد جذب برگی فلزات از اتمسفر در دسترس 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 (Veslov *et al.*, 2003)، سویا (Shute and Macfie, 2006)، جو (Tiryakioğlu *et al.*, 2006) و اطلسی (چهرگانی و همکاران، ۱۳۹۶) گزارش شده است. کاهش در وزن تر و خشک اندام هوایی در گوجه‌فرنگی (Lopez-Millan *et al.*, 2009)، جو (Tiryakioğlu *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

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.*, 2016).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فعال‌سازی یا ممانعت از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نه تنها 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، گلوکاتایون‌ردوکتاز، 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).

درگیر در تثبیت CO<sub>2</sub> 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 ریبولوزیسی فسفات کربوکسیلاز است (Stiborova *et al.*, 1987). کاهش معنی‌دار در مقدار فندهای 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 مکانیسم‌های 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 مکانیسم‌ها 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

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 کربوهیدرات‌های 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.

#### سیاسگزاری

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.

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؛ چهارگانی و همکاران ۱۳۹۰؛ چهارگانی و همکاران ۱۳۹۴).

#### 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

#### منابع

- چهارگانی، ع.، محسن‌زاده، ف. و حسینی روزبهانی، ش. (۱۳۹۰) بررسی اثرات سمی ذرات خروجی خودروهای دیزل بر برخی از فاکتورهای رشد و پاسخ‌های سلولی (تولید پروتئین) در بذر و دانه گرده گیاه لوبیا. مجله علمی پژوهشی سلول و بافت ۱: ۶۶-۵۷.
- چهارگانی، ع.، رضضانی، ح. و محسن‌زاده، ف.، بقایی‌فر، ز. و باب‌الحوائجی، ح. (۱۳۹۴) اثر کادمیوم بر مراحل تکوین و الگوی پروتئینی بساک و دانه‌های گرده گل اطلسی (*Petunia hybrida* Juss.). مجله سلول و بافت ۶: ۸۶-۷۱.
- چهارگانی، ع.، فرزاد، س. و شیرخانی، ز. (۱۳۹۶) مطالعه اثر تیمار سرب بر برخی شاخص‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه اطلسی. مجله پژوهش‌های گیاهی ایران، جلد ۳۰، (چاپ آنلاین).
- مجد، ا.، رضانزاد، 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 پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی ۶۱: 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 Botanica Croatica* 66:57-65.

- 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<sup>+</sup>-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.

- 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 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.

- 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.

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

Zohreh Shirkhani<sup>1</sup>, Abdolkarim Chehregani Rad<sup>1\*</sup>, Mansour Gholami<sup>2</sup>, Fariba Mohsenzadeh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

<sup>2</sup>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<sup>-1</sup>) were examined on certain morphological and physiological parameters in *Datura stramonium* L. The results showed that in the group treated with 225 mg.l<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> 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.