

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

کیوان آقائی^{۱*}، بهاره راه خسروانی^۱، لیلا مغانلو^۱ و علی اکبر قطبی راوندی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ^۲ دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۱/۲۴)

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 به مدت دو هفته تحت تیمار کادمیوم نیترات با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲، ۴ 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 تیمار شده 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

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

ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* L. گیاهی است یک ساله و علفی از خانواده نعنائیان (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

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

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 در نهایت 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 رنگدانه‌ها 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 بیوشیمیایی 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 (Ozdenler, 2016). همچنین مشخص گردید که کادمیوم در غلظت‌های بالاتر از ۱۰ میلی‌مولار موجب کاهش میزان کلروقیل‌های 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

و همکاران، ۱۳۹۰). بررسی اثرات هر یک از این عناصر فلزی بر گیاهان مختلف کاشته شده در زمین های آلوده در جای خود اهمیت زیادی دارد که در یک برنامه تحقیقاتی وسیع در دانشگاه زنجان در حال انجام است که نتایج آن به تدریج در حال انتشار است که در این پژوهش به نتایج مربوط به کادمیوم پرداخته می شود. بررسی های قبلی نشان داد بسیاری از مناطق تحت کشت سبزیجات از جمله ریحان در زنجان که مصرف گسترده ای 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 می تواند از انتقال کادمیوم به بخش های هوایی جلوگیری کند و با وجود کشت در این مناطق همچنان قابل استفاده باشد یا خیر باید مورد بررسی دقیق قرار می گرفت. لذا به منظور بررسی میزان تجمع این فلز سنگین و مضر در اندام های رویشی ریشه و اندام های 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 روش ها

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 سانتی متر) از پرلیت های اتوکلاو شده به ارتفاع ۱۲ سانتی متر ریخته شد و ۲۰ عدد بذر گیاه ریحان با فواصل یک سانتی متری قرار داده شد و روی بذر ها نیم سانتی متر پرلیت ریخته شد و گلدان ها درون زیرگلدانی های غیرشفاف یکبار مصرف قرار داده شدند. زیرگلدانی ها با ۴۰۰ میلی لیتر محیط هوگلد 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 دوره های نور و تاریکی به ترتیب ۲۵ و ۲۲ درجه سانتی گراد بود. گلدان ها هر روز بررسی شده و در صورت

کاهش محیط کشت هوگلد به میزان مورد نیاز به زیرگلدان ها محیط کشت اضافه می شد. گلدان ها در این شرایط به مدت حدود سه هفته تا رسیدن به مرحله چهار تا شش برگی نگهداری شدند.

تیمار فلز سنگین کادمیوم: تیمار فلز کادمیوم ($Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) در غلظت های صفر (شاهد)، ۲، ۴ و ۸ میلی مولار در محلول هوگلد با نصف غلظت با pH ۶/۵ تهیه گردید. برای جلوگیری از افزایش غلظت نترات در محیط کشت، در هنگام تهیه محیط کشت هوگلد به جای استفاده از KNO_3 از KCl و به جای استفاده از $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ از $CaCl_2$ در محلول هوگلد با غلظت مولار مساوی استفاده گردید. برای جلوگیری از تجمع کادمیوم در سطح پرلیت به دلیل تبخیر سطحی محیط کشت مایع، محیط کشت حاوی کادمیوم به میزان ۴۰۰ میلی لیتر برای هر گلدان به درون زیرگلدانی ها ریخته شد. هر روز محلول ها بررسی و کمبود محلول های تیمار زیرگلدانی ها با آب مقطر جایگزین می گردید. تیماردهی دو هفته به طول انجامید. هر تیمار دارای چهار تکرار بود و هر گلدان در نهایت دارای شش بوته گیاه ریحان بود.

اندازه گیری وزن خشک: توزین وزن خشک ریشه و اندام هوایی کل گیاهان با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ محاسبه گردید. برای اندازه گیری وزن خشک نمونه ها، پس از جداسازی ریشه و اندام هوایی، نمونه ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شدند.

اندازه گیری سطح برگ: از هر گلدان یک بوته به طور تصادفی انتخاب شد و تمام برگ ها بر روی کاغذ شطرنجی قرار داده شد و از آنها کپی کاغذی تهیه و سپس مساحت برگ ها با شمارش مربعات کوچک برحسب سانتی متر مربع محاسبه گردید.

اندازه گیری طول ساقه و ریشه: برای اندازه گیری طول ساقه، پس از خارج کردن بوته ها از گلدان ابتدا ریشه و ساقه از هم جدا شدند سپس بوسیله خط کش طول آنها اندازه گیری و بر حسب سانتی متر گزارش شد.

اندازه گیری مقدار پرولین: مقدار پرولین با استفاده از

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. به ۵۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی ۲/۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه گردید و پس از مخلوط‌شدن جذب محلول در طول موج 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 طول موج ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ 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 = $100(A_{470}) - 3.27 (mg \text{ chl } a) - 104 (mg \text{ chl } b)/227$

A: جذب در طول موج 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 از معرف آنترون و براساس روش Roe (1955) تعیین گردید. ۰/۱ گرم بافت تر برگ و ریشه در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد ساییده و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت تا کربوهیدرات‌ها استخراج شوند. عصاره حاصل صاف شد و سپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر 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 به مدت ۱۷ دقیقه در بن‌ماری ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از سردشدن، جذب نمونه‌ها در ۶۲۵ 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 پودر شده نیتریک اسید غلیظ اضافه شد و به مدت ۱۲ ساعت محلول استراحت داده شد و در مرحله بعد ۳ تا ۴ ساعت در بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد، سپس به عصاره‌ها آب اکسیژنه اضافه شد تا محلول شفاف به دست آید و بعد از آن عصاره با کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف شد. در نهایت محلول‌ها با استفاده از آب مقطر 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 به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. سپس محلول رویی جدا شده و دوباره در همین شرایط به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش (Sariri et al., 2006) عمل شد و محلول بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=7 تهیه شد. برای تهیه سل نمونه، ۴۷۵ میکرولیتر هیدروژن پراکسید و ۴۷۵ میکرولیتر فنل آمینو آنتی پیرین و سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی صاف‌شده در کووت ریخته شد و تغییرات جذب بر زمان در طول موج 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 طول موج ۲۴۰ 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

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 شکل ۱ با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت میزان این عنصر در ریشه و ساقه افزایش یافت که این افزایش در ریشه بسیار بیشتر از ساقه بود. به طوریکه در غلظت ۸ میلی مولار 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 به میزان زیاد در ریشه ها می تواند یک نکته مثبت تلقی شود چون این امر احتمالاً مانعی برای انتقال بیشتر آن به اندام های هوایی و بخش هایی از گیاه است که استفاده غذایی دارد. به احتمال زیاد یکی از مهم ترین 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 به راحتی به همراه محلول غذایی و بدون مواجه شدن با سد حلقه کاسپاری تا نزدیکی لایه آندودرم در عمق بافت ریشه نفوذ می کند و با شستشوی سطحی نیز برطرف نمی شود. خوشبختانه ریشه گیاه ریحان مورد استفاده قرار نمی گیرد و توانایی این گیاه در کنترل ورود مقادیر زیادی از کادمیوم از طریق ریشه به اندام هوایی می تواند به عنوان نکته مثبت عملکرد این گیاه در شرایط آلوده تلقی شود. هر چند که مقادیر انتقال یافته به بخش هوایی در این گیاه نیز قابل توجه بوده و مضرات زیادی دارد. در گیاهان اصولاً انتقال یون ها از طریق غشای سلولی توسط پروتئین هایی به نام ترانسپورترها (حمل کننده های یونی) میانجی گری می شود. این ترانسپورترها انتقال دهنده یک یون خاص بوده و به صورت اختصاصی عمل می کنند. قسمت اعظم این یون ها به طور فیزیکی جذب دیواره سلولی می شوند. یکی دیگر از دلایل افزایش میزان کادمیوم در ریشه گیاهان مورد تحقیق ممکن است تجمع آنها در واکوئل ها باشد. تجمع این عناصر در واکوئل های سلولی مانع انتقال آنها

به قسمت های هوایی شده و به همین دلیل مقدار این عنصر در ریشه بیشتر از اندام هوایی است (Ramos *et al.*, 2002).

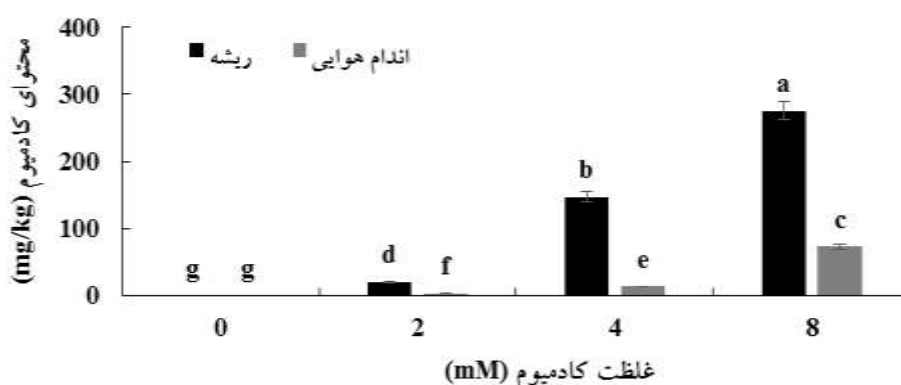
اثر کادمیوم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی: داده های

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 میلی مولار شد (شکل ۲). به طوریکه در تیمار ۸ میلی مولار، وزن خشک اندام هوایی ۷۶/۸ درصد و وزن خشک ریشه ۷۵/۲ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد.

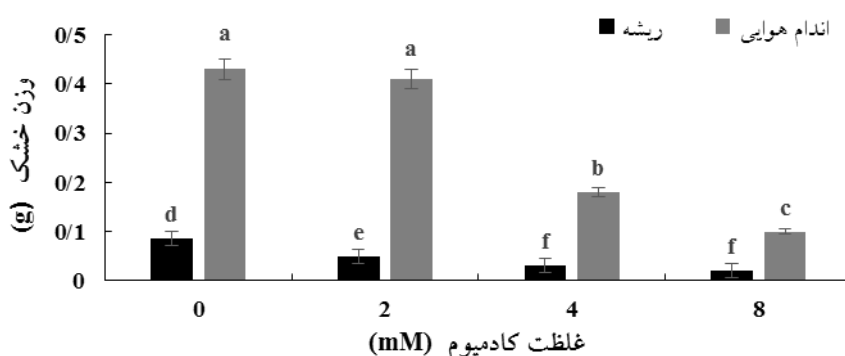
اثر کادمیوم بر طول ریشه، طول ساقه و سطح برگ:

کادمیوم در تمام غلظت ها موجب کاهش طول این اندام ها در مقایسه با گیاهان شاهد شد. به طوریکه در تیمار ۸ میلی مولار طول اندام هوایی ۴۶ 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 میلی مولار کادمیوم به میزان ۳۶/۳ درصد بود (شکل ۴). به نظر می رسد کاهش وزن خشک گیاه به دلیل اختلال در فعالیت آنزیم ها و مهار فتوسنتز (Moradoghlu *et al.*, 2015) و اختلال در بیوسنتز رنگدانه های 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 در نتیجه 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 محیط کشت گزارش کردند و اظهار داشتند که این کاهش می تواند به دلیل اثرات منفی کادمیوم بر روی مکانیسم تولید انرژی در میتوکندری ها و کلروپلاست ها باشد (Talatam and Parida, 2009). در گیاه شب بو نیز افزایش میزان کادمیوم موجب کاهش معنی داری در وزن خشک بخش هوایی در گیاهان تحت تیمار شد (Ghaderian and Jamali, 2010).

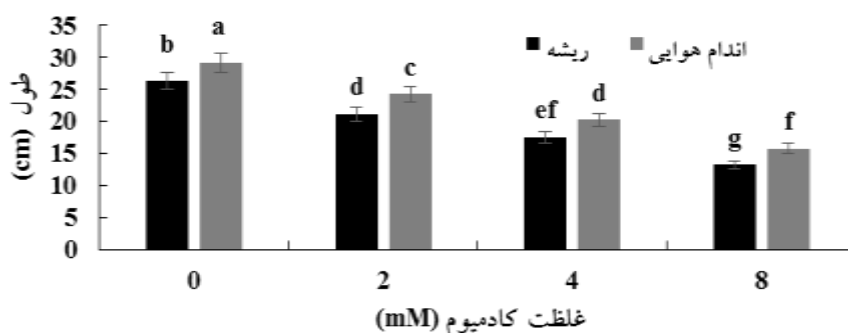
بررسی تغییرات طول ریشه و اندام هوایی گیاه در پاسخ به



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.



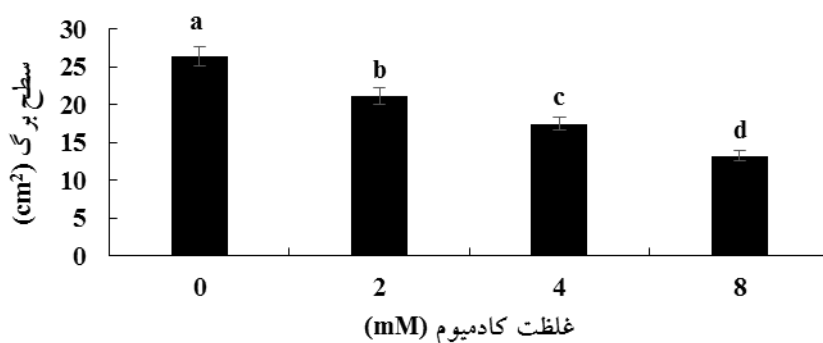
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.



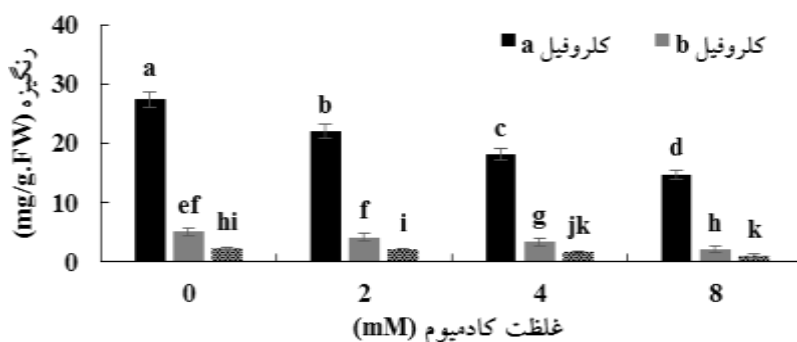
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر طول ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها است.

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 نیز شد (Mihalescu *et al.*, 2010). کادمیوم باعث کاهش فعالیت هورمون سیتوکینین

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



شکل ۴- اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر سطح برگ گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت داده ها است.



شکل ۵- اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت داده ها است.

و کاهش خاصیت ارتجاعی دیواره سلولی باعث تشکیل سلول های کوچک و فضاهای کمتر بین سلول های گیاهی می شود. کاهش فشار تورژسانس از برهم خوردن تعادل آب حاصل می شود. نتایج پژوهش ها حاکی از آن است که کادمیوم جذب آب، انتقال آب و تنفس سلولی را تحت تأثیر قرار می دهد (Vassilev et al., 1997).

بررسی اثر کادمیوم بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی: مطابق شکل ۵، تنش کادمیوم میزان کلروفیل a را در تمام غلظت ها و میزان کلروفیل b و کاروتنوئیدها را در غلظت های ۴ و ۸ میلی مولار در گیاه ریحان به طور معنی داری کاهش داده است. کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در تیمار ۸ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۴۶/۲، ۵۸/۳ و ۵۵/۳۵ درصد بود.

مطابق نتایج تا غلظت ۴ میلی مولار کادمیوم بیشترین کاهش مربوط به کلروفیل a و کمترین کاهش مربوط به کاروتنوئیدها بود. پس از آن به دنبال افزایش شدید تنش در غلظت ۸

می شود که تأثیر به سزایی در تکثیر سلول و رشد گیاه دارد (Mok, 1994). گزارش شده است هنگامی که فلزات سنگین به قسمت هوایی گیاه منتقل می شوند باعث اختلال در متابولیسم سلول و کاهش ارتفاع بوته می شوند (Shanker et al., 2005). کاهش رشد ممکن است به دلیل از بین رفتن آماس سلول و کاهش در فعالیت های میتوزی و یا مهار تولید شدن سلول باشد. به عنوان مثال کادمیوم در سلول های گیاهی می تواند دیواره سلولی و به خصوص لایه میانی دیواره سلولی را که در تولید شدن سلول نقش دارد تحت تأثیر قرار دهد (Hassan et al., 2006).

غلظت بالای کادمیوم موجب پیچش برگ، ریزش برگ و کاهش سطح برگ ها می شود. افزایش غلظت کادمیوم در خاک سطح برگ در گیاه گوجه فرنگی را نیز کاهش داد (Singh et al., 2011). این کاهش در سطح برگ به دلیل اثر تحریکی کادمیوم بر کاهش گسترش سطح برگ و پیری برگ بود. کاهش فشار تورژسانس سلول های گیاهی تیمار شده با کادمیوم

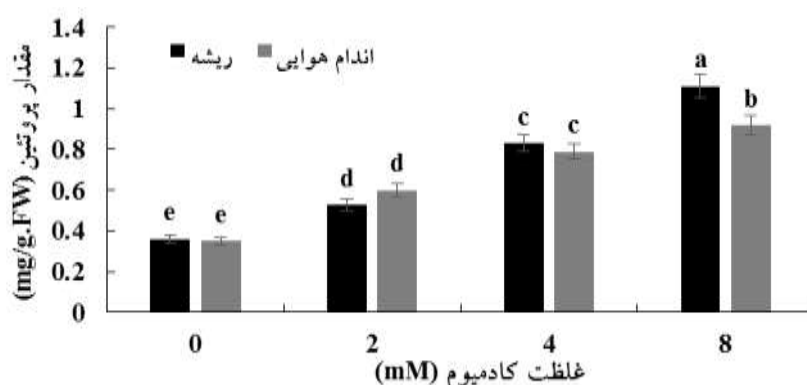
به شاهد افزایش یافته است.

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 در نهایت ممانعت از کاهش ناشی از تخریب پروتئین‌ها شود (Munns and Tester, 2008).

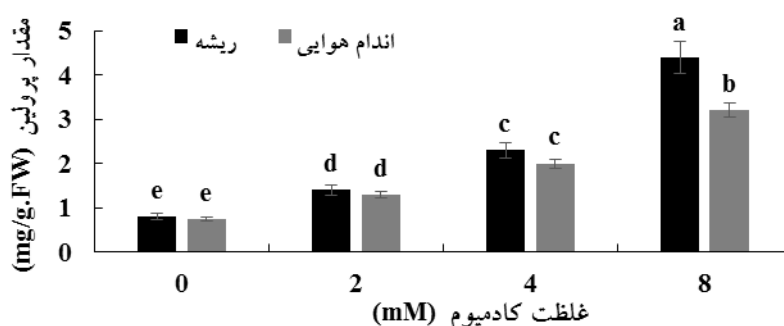
بررسی میزان پرولین: داده‌های حاصل از اثر کادمیوم بر مقدار پرولین نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی گیاه افزایش می‌یابد که این افزایش در غلظت ۸ میلی‌مولار کادمیوم برای ریشه و اندام هوایی به ترتیب ۵/۵ و ۴/۳۲ برابر مقدار آن در گیاهان شاهد

میلی‌مولار غلظت سایر رنگیزه‌ها نیز به شدت کاهش یافت. یکی از دلایل کم‌تر بودن 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 به وضوح 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 کلروفیل‌لاز نسبت داده شده است (Zengin and Munzuroglu, 2005). فلزات سنگین به وسیله مهار آنزیم‌های گاما- آمینو لوالونیک اسید، دهیدروژناز و پروتوکلروفیلاید ردوکتاز سبب مهار بیوسنتز کلروفیل می‌شوند. برهمکنش فلز سنگین با گروه سولفیدریل آنزیم‌ها مهم‌ترین مکانیسم 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 در مرحله 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 جایگزین شدن کادمیوم به جای 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 ۶ نشان داده شده است در غلظت‌های مختلف کادمیوم میزان پروتئین‌های محلول ریشه و اندام هوایی در گیاه ریحان نسبت



شکل ۶- اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر میزان پروتئین های محلول ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت داده ها است.

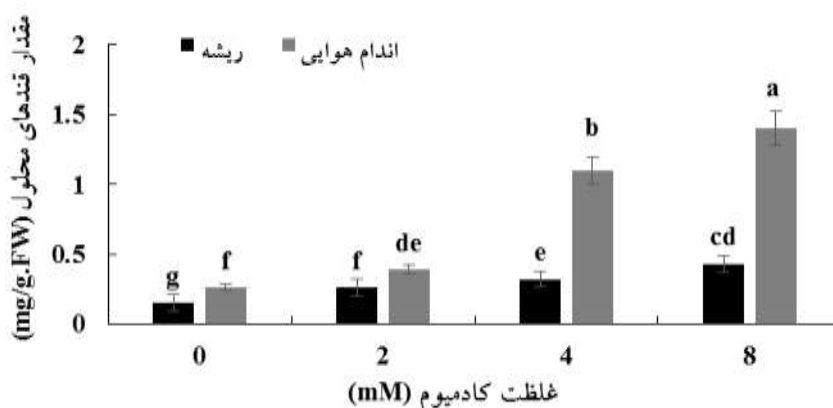


شکل ۷- اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر میزان پروتئین ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت داده ها است.

بوده است (شکل ۷).
 مهم ترین اثر تخریبی کادمیوم تولید رادیکال های فعال اکسیژن مثل رادیکال های آزاد سوپراکساید (O_2^-)، هیدروکسیل ($OH^\cdot$) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) است. گیاهان برای مقابله با این رادیکال های آزاد از آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می کنند (He et al., 2011).
 یکی از مهم ترین آنتی اکسیدان های غیرآنزیمی پروتئین است. میزان پروتئین با افزایش غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی ریحان افزایش یافته است. پروتئین یکی از مهم ترین اسیدهای آمینه در گیاهان است که در برابر انواع تنش ها از جمله شوری، خشکی، سرما، گرما و همچنین عناصر سنگین از گیاه محافظت می کند. یکی از دلایل تجمع پروتئین در محیط کشت حاوی کادمیوم را به دلیل نقش این ماده در اتصال به کادمیوم و تشکیل یک کمپلکس غیرسمی از پروتئین-کادمیوم می دانند (Sharma et al., 1998). پروتئین همچنین می تواند به عنوان یک ماده تنظیم کننده اسمزی در گیاهان عمل کند. پروتئین می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها خطر رادیکال های آزاد را کاهش داده و باعث حفظ تمامیت غشاها گردد (Alia et al., 2001). اهمیت تجمع پروتئین جهت حفظ وضعیت آبی گیاه در شرایط تنش مهم تر از بقیه ترکیبات آلی است. پروتئین به عنوان یک محافظت کننده شیمیایی موجب حفاظت از پروتئین ها شده و به خصوص از متلاشی شدن و غیرفعال شدن پروتئین های آنزیمی جلوگیری می کند و از آنجایی که از پراکسیداسون غشا ناشی از گونه های فعال اکسیژن جلوگیری می کند در شرایط تنش های مختلف از جمله تنش فلزات سنگین موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش می شود (بارنده و کاوسی، ۱۳۹۵).

بررسی میزان قندهای محلول: نتایج حاصل از اندازه گیری

بررسی اثر تجمع کادمیوم بر برخی ویژگی های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی...
 مهم ترین اثر تخریبی کادمیوم تولید رادیکال های فعال اکسیژن مثل رادیکال های آزاد سوپراکساید (O_2^-)، هیدروکسیل ($OH^\cdot$) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) است. گیاهان برای مقابله با این رادیکال های آزاد از آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می کنند (He et al., 2011).
 یکی از مهم ترین آنتی اکسیدان های غیرآنزیمی پروتئین است. میزان پروتئین با افزایش غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی ریحان افزایش یافته است. پروتئین یکی از مهم ترین اسیدهای آمینه در گیاهان است که در برابر انواع تنش ها از جمله شوری، خشکی، سرما، گرما و همچنین عناصر سنگین از گیاه محافظت می کند. یکی از دلایل تجمع پروتئین در محیط کشت حاوی کادمیوم را به دلیل نقش این ماده در اتصال به کادمیوم و تشکیل یک کمپلکس غیرسمی از پروتئین-کادمیوم می دانند (Sharma et al., 1998).

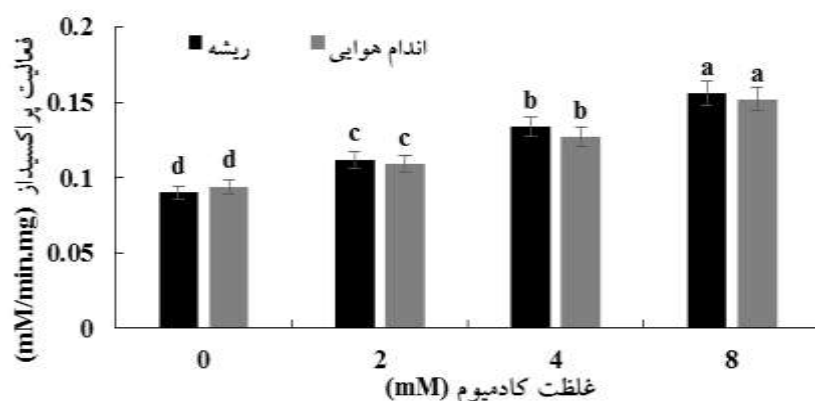


شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر میزان قندهای محلول ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت داده‌ها می‌باشد.

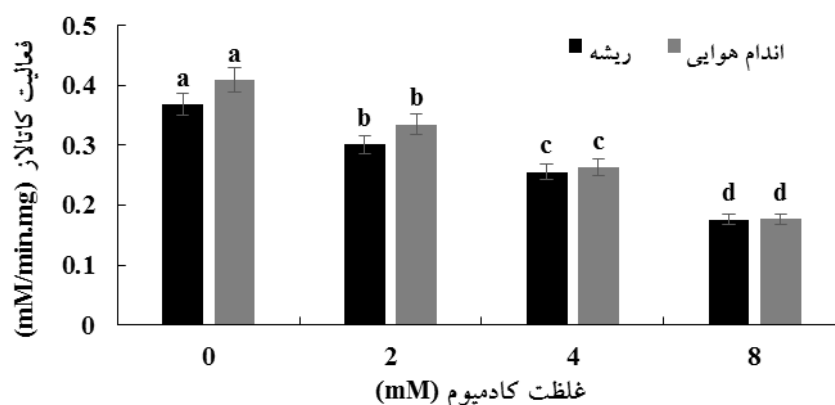
بررسی اثر کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: داده‌های حاصل از بررسی اثر کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در گیاه مورد آزمایش، نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت اما فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به گیاهان شاهد در تمام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

هیدروژن پراکسید یکی از گونه‌های فعال اکسیژن است که بسیار سمی است که باید در نتیجه فعالیت کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز از بین برود. این ترکیب در سخت‌کردن ترکیب دیواره سلولی شرکت می‌کند که منجر به محدودیت طول شدن 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 به نظر می‌رسد در گیاه ریحان نیز آنزیم کاتالاز نقش چندانی در ایجاد مقاومت به تنش فلز سنگین کادمیوم نداشته است.

میزان قندهای محلول نشان داد که افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت باعث افزایش میزان قندهای محلول ریشه و اندام هوایی در تمام تیمارها می‌شود. این افزایش در غلظت‌های ۴ و ۸ میلی‌مولار کادمیوم در اندام‌های هوایی بیشتر بوده و به ترتیب ۴/۲۳ 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. در این 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 در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندام‌های 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 در سلول‌ها، 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 در نتیجه کاهش فرایندهای آنابولیکی در شرایط تنش، اشاره کرد (Verma and Dubey, 2001).



شکل ۹- اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت داده ها است.



شکل ۱۰- اثر غلظت های مختلف فلز کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان. حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت داده ها است.

یا اسیدهای آمینه شرایط تنش را مدیریت نمایند. در غیر این صورت آسیب بافتی القاشده توسط فلز، سطوح افزایش یافته پراکسیداسیون لیپید، تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و سطوح بالای آنتی اکسیدان مشاهده خواهد شد (Briat and Lebrun, 1999). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان موجب تحمل بیشتر به تنش می شود زیرا آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز به عنوان اصلی ترین آنزیم های مهارکننده H_2O_2 شناخته شده اند. میزان خسارت ناشی از ROS با افزایش سطوح فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه می تواند تقلیل یابد (زند و همکاران، ۱۳۸۸).

نتیجه گیری

همچنین بیان شده است که کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز در برخی گیاهان تحت تنش می تواند در نتیجه کمبود آهن برای بیوسنتز این مولکول آنزیمی باشد و یا ممکن است مولکول های آنزیم توسط سایر گونه های فعال اکسیژن تخریب شده باشند (Sandalio et al., 2001).

مطابق شکل ۹ با افزایش غلظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش می یابد. همانطور که اشاره شد در شرایط کاهش فعالیت کاتالاز احتمالاً پراکسیداز با افزایش فعالیت خود نقش پاکسازی گونه های فعال اکسیژن را بر عهده گرفته است. تصور می شود که گیاهان از طریق تعدادی از سازوکارها از قبیل کنترل جذب، سمیت زدایی توسط فیتوکلاتین ها یا کلاته شدن فلزات سنگین توسط اسیدهای آلی

همانطور که از نتایج این پژوهش مشخص است گیاه ریحان گیاه مقاومی در برابر تنش ناشی از تجمع فلز کادمیوم به عنوان 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: ۱۱۷-۱۳۳.
- 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) بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ذرت دانه‌ای. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران ۲: ۴۸-۳۵.
- قربانی نهوجی، م.، تحصیلی، ژ.، نقدیادی، 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.

- 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 photosynthesis 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 H₂O₂ 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 populus 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 Chemistry* 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 Gabbriellini, 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.

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

Keyvan Aghaei^{1*}, Bahareh Rah khosravani¹, Leila Moghanlu¹ and Ali Akbar Ghotbi-Ravandi²

¹Department 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: keyvanaghahi@znu.ac.ir