مقاله پژوهشی

تجمع کادمیوم در گیاه زینتی نرگس (*Narcissus tazetta* L.) و اثر آن بر شاخص‌های رشد و جذب عنصر روی تحت شرایط کشت درون شیشه‌ای

شبنم فرجاد تهرانی[۱]، فرانسواز برنارد[۱]، سیده حمیرا سلیمانی[۲*]

[۱] گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۸/۰۱)

چکیده

استفاده از گیاهان زینتی در گیاه‌پالایی، به لحاظ جلوگیری از ورود فلزات سنگین به زنجیره غذایی و از سویی زیبایی آن‌ها در محیط زیست بسیار مورد توجه است. امروزه، تکنیک کشت‌بافت به‌عنوان یک سیستم مدل برای پیش‌بینی پاسخ گیاه به آلاینده‌های محیطی استفاده می‌شود. در پژوهش حاضر به‌منظور بررسی توانایی گیاه زینتی نرگس (*Narcissus tazetta* L.) در پاکسازی محیط از آلاینده کادمیوم، ریزازدیادی این گیاه طی سه مرحله القا، تکثیر و تولید پیاز به‌صورت درون شیشه‌ای (*in vitro*) صورت گرفت و گیاهچه‌های حاصل در محیط‌کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) جامد به‌مدت دو هفته تحت تیمار کلرید کادمیوم با سه غلظت (۱، ۲ و ۵ میلی‌مولار) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که گیاهچه‌های نرگس قادر به تجمع مقادیر زیادی کادمیوم هستند و با افزایش غلظت کادمیوم در محیط، انباشتگی آن در گیاهچه‌ها افزایش می‌یابد؛ به‌طوریکه در تیمار ۵ mM مقدار کادمیوم در ریشه‌ها، پیازها و برگ‌های گیاهچه‌ها به‌ترتیب ۷۵۰۲/۸۴، ۱۹۷۱/۴۵ و ۳۹۸/۶۰ میکروگرم در گرم وزن خشک بود. افزایش غلظت کادمیوم در محیط موجب کاهش وزن خشک، مقدار رنگیزه‌ها، جذب عنصر روی و فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. در تیمار ۱ میلی‌مولار کلرید کادمیوم شاخص تحمل ۰/۹۵ بود که با افزایش غلظت کادمیوم، میزان تحمل گیاهچه‌ها کاهش یافت. فاکتور انتقال در گیاهچه‌ها، کمتر از یک و فاکتور تغلیظ زیستی بیشتر از یک بود و این نشان می‌دهد که گیاه نرگس می‌تواند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای تثبیت آلاینده کادمیوم پیشنهاد شود که البته مستلزم مطالعات بیشتر در خاک است.

کلمات کلیدی: ریزازدیادی، کادمیوم، کشت‌بافت، گیاه‌پالایی، *Narcissus tazetta*

مقدمه

فلز سنگین کادمیوم یکی از رایج‌ترین آلاینده‌های محیطی است که از طریق فعالیت‌های صنعتی، فرآیندهای کشاورزی و استفاده از فاضلاب‌ها به خاک افزوده می‌شود. آلودگی خاک با کادمیوم منجر به جذب و تجمع این فلز در گیاهان و به‌دنبال آن ورود به زنجیره غذایی می‌گردد که منجر به بروز آسیب‌های کلیوی، چشمی، تنفسی، استخوانی و سرطان در انسان می‌شود (Mead, 2010). تجمع این فلز در گیاهان نیز علائم سمیت همچون کلروز و نکروزه‌شدن برگ و ریشه، کاهش رشد اندام‌ها (Jamali *et al.*, 2014)، اختلال در انتقال مواد معدنی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و فتوسنتز (Tiwari *et al.*, 2017) ایجاد می‌کند. Tkalec و همکاران (۲۰۱۴) بیان نمودند که آسیب‌های

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: moho_plant@qodsiau.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

کادمیوم می‌تواند ناشی از شباهت شیمیایی آن با فلز روی باشد که یک عنصر ضروری در سیستم‌های بیولوژیک است. نتایج متناقضی در مورد تأثیر کادمیوم بر مقدار روی در گیاهان ذکر شده است. در برخی مطالعات به کاهش غلظت روی در گیاهان تحت تیمار کادمیوم اشاره شده است (Jiang *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2005) درحالیکه افزایش مقدار روی در برگ گیاه کاهو رقم CRV تحت‌تأثیر کادمیوم (Fontes *et al.*, 2014) و یا عدم‌تأثیر کادمیوم بر مقدار روی در دانه‌رست‌های گیاه *Nicotiana tabacum* نیز نشان داده شده است (Tkalec *et al.*, 2014). اثر سمی کادمیوم به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species, ROS) در سلول نسبت داده می‌شود و گیاه برای حفظ خود آنزیم‌های سم‌زدایی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی همچون گلوتاتیون را فعال می‌کند (Irfan *et al.*, 2014). بنابراین حذف کادمیوم از خاک از اولویت بالایی برخوردار است و به این منظور روش‌های مختلفی از جمله حفر خاک، شستشوی شیمیایی فلزات، تثبیت و جامدسازی، الکتروکینتیک و تبادل یونی استفاده شده که روش‌هایی پرهزینه است (Liu *et al.*, 2018). از این‌رو در سال‌های اخیر پاکسازی خاک‌ها با تکنیک گیاه پالایی (phytoremediation) مورد توجه قرار گرفته است که روشی ارزان، ساده و دوست‌دار محیط‌زیست و مناسب کشورهای در حال توسعه است. گیاه‌پالایی استفاده از گیاهان برای خروج آلاینده‌های محیطی مانند فلزات سنگین، علف‌کش‌ها، هیدروکربن‌ها و حلال‌های کلری از آب و خاک است (Zhang *et al.*, 2014). گیاه‌پالایی به اشکال مختلف شامل تصعید به‌وسیله گیاه (phytovolatilization)، استخراج به‌وسیله گیاه (phytoextraction)، تجزیه به‌وسیله گیاه (phytodegradation) و تثبیت به‌وسیله گیاه (phytostabilization) صورت می‌پذیرد (Radziemska *et al.*, 2017). در تکنیک تثبیت به‌وسیله گیاه، غیرمتحرک‌سازی آلاینده‌ها در خاک و یا ریشه‌های گیاه انجام می‌شود و بدین ترتیب انتقال آلاینده‌ها به منابع آبی کاهش می‌یابد. در این روش از گیاهانی استفاده می‌شود که قادر به تجمع فلزات سنگین در ریشه‌های خود هستند و بخش کمی از آن را به اندام‌های هوایی انتقال می‌دهند. ولی برخی از گیاهان قادرند مقادیر قابل‌توجهی از فلزات سنگین را پس از جذب، در اندام‌های هوایی خود انباشته نمایند بدون آنکه آثار مسمومیت در گیاه بروز نماید، این گیاهان بیش انباشته‌کننده (hyperaccumulator) نامیده می‌شوند. گیاهان مذکور قادرند از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی و یا کده‌بندی فلزات سنگین در واکوئل‌ها، سمیت این فلزات را تحمل و به بقای خود ادامه دهند.(Sharma *et al.*, 2018).

استفاده از گیاهان زینتی در گیاه پالایی به‌ندرت مطالعه‌شده است و این در حالی است که گیاهان زینتی در صورت توانایی جذب آلاینده‌ها می‌توانند به‌طور همزمان باعث رفع آلودگی خاک و زیبایی مکان موردنظر شوند و پس از جذب آلاینده می‌توان از این گیاهان نیز به‌عنوان شاخه بریده و یا برای تولید روغن‌های فرار و عطرها استفاده نمود (khan *et al.*, 2021). از سویی این گیاهان خطر کمتری نسبت به گیاهان زراعی به‌لحاظ تجمع فلزات سنگین و ورود آن به زنجیره غذایی دارند. در مطالعه‌ای توسط street و همکاران (۲۰۰۹) توانایی تجمع کادمیوم در پیازهای گیاه *Merwilla plumbea* گزارش شده است. Soudek و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند گیاه پیازدار *Allium sativum* قادر به تجمع کادمیوم در ریشه‌های خود است. گیاه نرگس با نام علمی *Narcissus tazetta* L. از خانواده لیلیاسه، گیاهی پیازدار، زینتی و دارویی است. این گیاه به جهت دارابودن آلکالوئیدهایی با خواص دارویی از جمله ضدتومور، ضدویروس، ضدآلزایمر و آنتی‌کولینرژیک و همچنین ترکیبات متعدد آروماتیک فرار در صنایع داروسازی و عطرسازی بسیار مورد توجه است (Weniger *et al.*, 1995). نتایج پژوهش پیشین ما نشان داد که گیاه نرگس تحت تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار کلرید کادمیوم قادر به تجمع کادمیوم است و کادمیوم تجمع‌یافته بر میزان آلکالوییدهای این گیاه تأثیر دارد (Soleimani *et al.*, 2020).

بسیاری از محققان نشان داده‌اند که تکنیک کشت در شیشه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

(*in vitro*) یک ابزار بسیار ارزشمند در مطالعه گیاه پالایی است. نتایج حاصل از کشت سلول، بافت و اندام گیاهی می‌تواند برای پیش‌بینی پاسخ گیاه به آلاینده‌های محیطی و بهبود طراحی و کاهش هزینه آزمایش‌های گیاهان کامل باشد (Doran, 2009; Radziemska *et al.*, 2017). از آنجا که کشت در شیشه عاری از میکروارگانیسم‌ها است بنابراین توانایی ذاتی گیاه را در پاسخ به آلاینده‌ها بدون تأثیر میکروارگانیسم‌های موجود در ریزوسفر نشان می‌دهد (Lebeau *et al.*, 2008).

با توجه به مطالب بیان‌شده تحقیق پیش‌رو با هدف بررسی توانایی گیاه نرگس در تجمع و تحمل کادمیوم در سیستم مدل کشت‌بافت در غلظت‌های بالاتر کلرید کادمیوم (۲ و ۵ میلی‌مولار) صورت گرفته است. بدین منظور ریزازدیادی این گیاه که یکی از تکنیک‌های کشت‌بافت است انجام و اثر کادمیوم بر ویژگی‌های رشد، انتقال روی و فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های ریزازدیادی‌شده مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

ریزازدیادی، تیمار کادمیوم و تعیین شاخص‌های زیستی: پیازهای گیاه *Narcissus tazetta* از روستای ضیابر از توابع بندر انزلی جمع‌آوری شدند. به‌منظور ضدعفونی، پیازها به‌مدت ۵ دقیقه در اتانول ۸۰ درصد (v/v) و سپس ۳۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲٪ قرار گرفتند و پس از شستشو با آب‌مقطر، از آن‌ها دوفلسی‌هایی به ابعاد تقریبی ۱ سانتی‌متر مربع متصل به ۱–۲ میلی‌متر کپه به‌عنوان قطعه جداکشت تهیه گردید. ریزازدیادی این گیاه طی سه مرحله انجام شد. برای القای اندام هوایی قطعات جداکشت بر روی محیط MS تغییریافته دارای ۴ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین (BAP) و ۰/۱۲ میلی‌گرم بر لیتر نفتالن استیک اسید (NAA) جامد کشت شدند (سلیمانی و همکاران، ۱۳۹۸). جهت افزایش تعداد جوانه‌ها، اندام‌های هوایی القاءشده در مرحله قبل به محیط MS تغییریافته دارای ۲ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۱۲ میلی‌گرم بر لیتر NAA جامد منتقل شدند. به‌منظور تولید پیاز و ریشه، دسته اندام‌های هوایی به محیط MS جامد دارای ۹٪ ساکارز، ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA انتقال یافتند. پس از چهار ماه گیاهچه‌های ریزازدیادی‌شده با سه غلظت ۱، ۲ و۵ میلی‌مولار کلرید کادمیوم در محیط MS جامد دارای ۹٪ ساکارز تیمار شدند. درنهایت، تمام کشت‌ها درون اتاق رشد با دمای ۲۵°C، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۲۲۰۰ لوکس شدت روشنایی قرار گرفتند. پس از دو هفته گیاهچه‌ها جمع‌آوری شدند و مواد غذایی از سطح ریشه‌ها با آب دیونیزه شسته شد. سپس ریشه‌ها، پیازها و برگ‌ها جدا شدند و به‌منظور ارزیابی توانایی آن‌ها در جذب کادمیوم شاخص‌های زیستی آن‌ها شامل شاخص تحمل (Ti, tolerance index)، فاکتور تغلیظ زیستی (BCF, bioconcentration factors) و فاکتور انتقال (TF, translocation factor) براساس Fang و همکاران (۲۰۱۷) محاسبه شد:

Ti = وزن خشک گیاه تحت تیمار/ وزن خشک گیاه شاهد

BCF = مقدار کادمیوم در اندام/ مقدار کادمیوم در محیط

TF = مقدار کادمیوم در اندام هوایی/ مقدار کادمیوم در ریشه

سنجش میزان کادمیوم: ریشه‌ها، برگ‌ها و پیازهای خشک به‌مدت ۶–۷ ساعت درون کوره الکتریکی با دمای۶۰۰°C درجه قرار گرفتند تا به خاکستر سفید تبدیل شدند. خاکسترهای حاصل در اسید نیتریک ۰/۱ مولار حل و میزان جذب نوری نمونه‌ها و استانداردها با دستگاه جذب اتمی شعله‌ای (Varian, 240 FS) اندازه‌گیری شد. با استفاده از منحنی کالیبراسیون غلظت کادمیوم در نمونه‌ها برحسب $\mu g\ g^{-1}$ DW محاسبه گردید (AOAC, 2000).

سنجش رنگیزه‌های گیاهی: ۰/۱ گرم از برگ‌ها با ۲ میلی‌لیتر استون ۸۰ ٪ (v/v) سائیده و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴°C و۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شدند. میزان جذب محلول رویی در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر با اسپکتروفتومتر (Shimadzu, UV-1601) اندازه‌گیری و با معادله‌های زیر مقدار رنگیزه‌های کلروفیل a، b و کاروتنوئید برحسب میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983):

Chla = 12.21 (A663) – 2.81 (A646)
Chlb = 20.13 (A646) – 5.03 (A663)
Carotenoids = (1000 A470 – 3.27 [Chla] – 104[Chlb]) /229

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

سنجش مقدار پروتئین و فعالیت آنزیم پراکسیداز: نمونه های گیاهی پس از خروج از محیط‌های کشت با بافر استخراج Tris – HCl شامل Na_2EDTA (۵ mM)، آسکوربیک اسید (۱۰ mM)، دی‌سدیم تترابورات (۱۰ mM)، پلی‌اتیلن گلیکول ۵٪ (W/V) و NaCl (۳۰ M) درون هاون بر روی ظرف یخ سائیده شدند (Korori *et al.*, 1992). محلول حاصل در ۴ °C و ۴۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و مقدار پروتئین و فعالیت پراکسیداز در محلول رویی حاصل اندازه‌گیری شد. سنجش پروتئین کل با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۶) صورت گرفت. فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز توسط مخلوط واکنش شامل بافر استات (۰/۲ M، pH ۴/۸)، بنزیدین (۰/۰۲ M) و H_2O_2 (۳٪) توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر سنجیده و برحسب تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

سنجش میزان روی: ماده خشک شده ریشه، برگ و پیاز در مخلوط $HNO_3/HClO_4$ 3:1 در دمای ۱۶۱ سانتیگراد تجزیه شد و پس از رقیق‌سازی با آب دیونیزه، جذب نوری نمونه‌ها و استانداردها با دستگاه جذب اتمی شعله‌ای (Varian, 240 FS) اندازه‌گیری شد. با استفاده از منحنی کالیبراسیون مقدار روی در نمونه‌ها برحسب $\mu g\ g^{-1}$ DW محاسبه گردید (Zeng *et al.*, 2011).

آزمایشات به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS-24 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از ANOVA آنالیز و گروه‌بندی میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح آماری ۵٪ انجام شد.

نتایج

تجمع کادمیوم: با افزایش مقدار کادمیوم در محیط، تجمع آن در اندام‌های مختلف گیاهچه‌های نرگس افزایش یافت به‌طوریکه بیشترین مقدار کادمیوم ($\mu g\ g^{-1}$DW ۷۵۰۲/۸۴) در ریشه‌های تیمارشده با ۵ mM کلرید کادمیوم حاصل شد که ۹۳۲ برابر تجمع کادمیوم در ریشه‌های شاهد است (جدول ۱). مطابق جدول ۱ تجمع کادمیوم در گیاهچه به این ترتیب بود: ریشه> پیاز> برگ. به‌عبارتی بیشترین مقدار کادمیوم در ریشه‌ها تجمع یافت و مقادیر کمی به برگ‌ها منتقل شد به‌طوریکه در غلظت ۵ mM کادمیوم، ۷۵/۹۹٪ یون‌های کادمیوم در ریشه‌های گیاه باقی ماند و ۱۹/۹۷٪ و ۴/۰۴٪ این فلز به‌ترتیب به پیازها و برگ‌ها انتقال یافت. بنابراین همانگونه که در جدول ۲ مشخص است TF یا فاکتور انتقال از ۱ کمتر است. به‌منظور بررسی توانایی گیاهچه نرگس برای پاکسازی خاک‌های آلوده علاوه بر فاکتور انتقال، BCF یا فاکتور تغلیظ زیستی نیز محاسبه شد. فاکتور تغلیظ زیستی ریشه‌ها در غلظت ۱، ۲ و ۵ میلی‌مولار کادمیوم به‌ترتیب ۱۲/۱۵، ۲۴/۰۱ و ۱۳/۴۰ و فاکتور تغلیظ زیستی پیازها نیز بالاتر از ۱ و در برگ‌ها فقط در حضور ۲ mM کادمیوم فاکتور تغلیظ زیستی بالاتر از ۱ بود (جدول ۲).

تأثیر کادمیوم بر رشد: شکل ظاهری گیاهچه‌های نرگس پس از دو هفته تیمار با کادمیوم کم‌وبیش طبیعی و فاقد خمیدگی و بدشکلی بود. در گیاهچه‌های تحت تیمار ۱ mM کادمیوم فقط در قسمت رأسی تعداد کمی از برگ‌ها، آسیب‌های نکروتیک مشاهده شد و ریشه‌ها و پیازها کاملاً سالم بودند. در گیاهچه‌های تحت تیمار ۲ mM کادمیوم در قسمت انتهایی نیمی از ریشه‌ها و فلس‌های خارجی پیازها و تحت تیمار ۵ mM کادمیوم در ۷۰٪ از نمونه‌ها آسیب‌های نکروتیک مشاهده گردید (شکل ۱). همان‌گونه که شکل ۲ مشاهده می‌شود وزن تر و خشک ریشه‌ها در تمام تیمارها به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاسته شد ($P<0.05$). وزن خشک پیازها درتیمار ۱ mM کادمیوم نسبت به شاهد تغییری نداشت ولی در دو غلظت دیگر کادمیوم، کاهش وزن مشاهده شد و این در حالی است که وزن تر پیازها در ۱ میلی‌مولار افزایش و در غلظت‌های بیشتر کاهش یافت. وزن تر و خشک برگ‌ها نیز تحت‌تأثیر ۱ میلی‌مولار کادمیوم قرار نمی‌گیرد ولی در غلظت‌های بالاتر کاهش می‌یابد.

مقاومت گیاه به فلزات سنگین با پارامترهای رشد مانند زیست‌توده، طول ریشه و ساقه و شاخص تحمل (Ti) ارزیابی می‌شود (Fang *et al.*, 2017). شاخص تحمل گیاهچه نرگس در غلظت ۱ میلی‌مولار کادمیوم ۰/۹۵ (Ti > ۰/۶) و شاخص

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

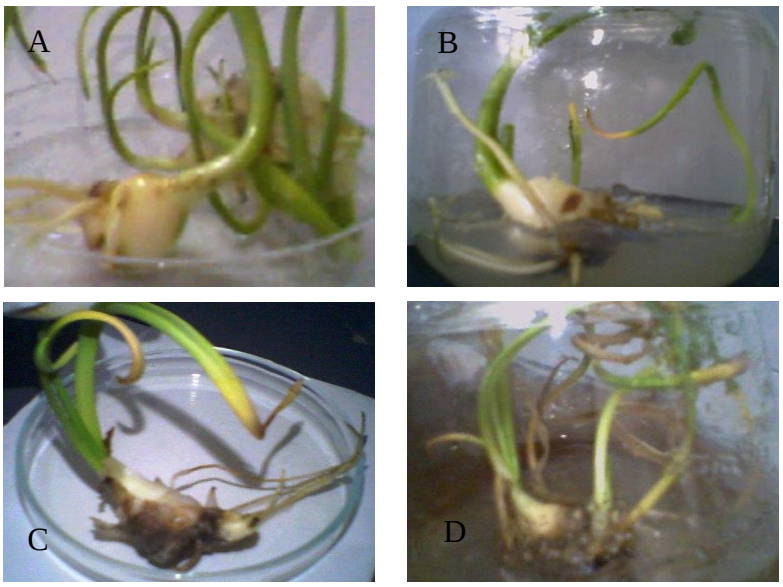
جدول ۱- مقدار کادمیوم در اندام‌های مختلف گیاهچه‌های نرگس دو هفته پس از تیمار کادمیوم

کادمیوم (mM)	میزان کادمیوم ($\mu g\ g^{-1}$ DW)		
	ریشه	پیاز	برگ
۰	۸/۰۴۲ ± ۲/۶۹ ^{d}	۰/۶۰۹ ± ۰/۰۸۵ ^{d}	۱/۳۸ ± ۰/۱۷ ^{d}
۱	۱۳۶۰/۹۸ ± ۴۰۰/۱۲ ^{c}	۲۸۷/۱۹۱ ± ۶۳/۱۸ ^{c}	۶۴/۳۷۶ ± ۲/۴۵ ^{c}
۲	۵۳۷۷/۴۷ ± ۴۷۵/۱۱ ^{b}	۳۳۳۹/۵۳ ± ۶۳/۰۴ ^{a}	۳۳۵/۲۲۱ ± ۱۸/۷۹ ^{b}
۵	۷۵۰۲/۸۴ ±۵۱۰ ^{a}	۱۹۷۱/۴۵ ± ۱۲۴/۰۱ ^{b}	۳۹۸/۶۰۱ ± ۱۲/۲ ^{a}

اعداد میانگین ۴ تکرار ± خطای استاندارد است. اختلافات معنی‌دار با اعداد متفاوت نشان داده شده است ($P< 0.05$).

جدول ۲- شاخص تحمل (Ti)، فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) و فاکتور انتقال (TF) در گیاهچه‌های گیاه نرگس دو هفته پس از تیمار با کادمیوم

کادمیوم (mM)	Ti	TF	BCF		
			ریشه	پیاز	برگ
۰	–	۰/۱۷۱	–	–	–
۱	۰/۹۵۶	۰/۰۴۹	۱۲/۱۵	۲/۵۶	۰/۵۷
۲	۰/۵۷۶	۰/۰۶۲	۲۴/۰۱	۱۴/۹۱	۱/۴۹
۵	۰/۵۴۵	۰/۰۵۳	۱۳/۴۰	۳/۵۲	۰/۷۱

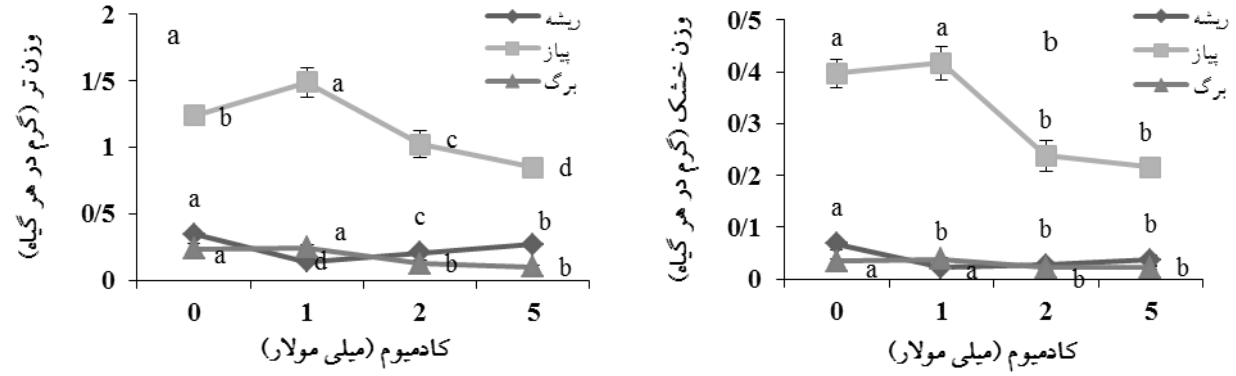


شکل ۱- گیاهچه‌های نرگس دو هفته پس از تیمار با غلظت‌های مختلف کادمیوم. A: شاهد B: ۱ میلی‌مولار C: ۲ میلی‌مولار D: ۵ میلی‌مولار

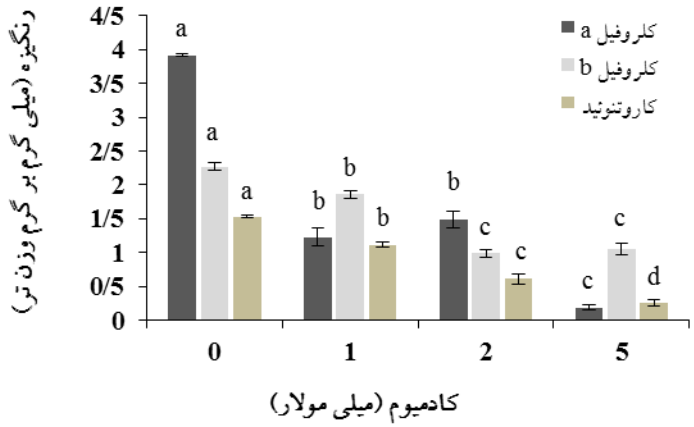
تحمل در غلظت ۲ و ۵ میلی‌مولار کمتر از ۰/۶ است، به‌عبارتی با افزایش غلظت کادمیوم، تحمل گیاهچه نسبت به این فلز سنگین کاهش یافته است (جدول ۲).

تأثیر کادمیوم بر مقدار رنگیزه‌ها: تحت‌تأثیر کادمیوم مقدار کلروفیل a و b کاهش یافت و با افزایش غلظت کادمیوم شدت کاهش بیشتر شد (شکل ۳). تقریباً ۶۸٪، ۶۲٪ و ۹۵٪ کاهش در مقدار کلروفیل a و ۱۸٪، ۵۶٪ و ۵۴٪ کاهش در مقدار کلروفیل b به‌ترتیب در غلظت‌های ۱، ۲ و ۵ میلی‌مولار کادمیوم نسبت به شاهد مشاهده شد. نتایج حاکی از آن است که کلروفیل a بیشتر از کلروفیل b تحت‌تأثیر کادمیوم قرار گرفته است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]



شکل ۲- وزن تر (a) و وزن خشک ریشه (b)، پیاز و برگ‌های گیاهچه نرگس دو هفته پس از تیمار با غلظت‌های ۱، ۲ و ۵ میلی‌مولار کادمیوم. اعداد میانگین ۴ تکرار ± خطای استاندارد است. اختلافات معنی‌دار با اعداد متفاوت نشان داده شده است (P< 0.05).



شکل ۳- رنگیزه‌های گیاهچه‌های نرگس دو هفته پس از تیمار با کادمیوم. اعداد میانگین ۴ تکرار ± خطای استاندارد است. اختلافات معنی-دار با اعداد متفاوت نشان داده شده است (P< 0.05).

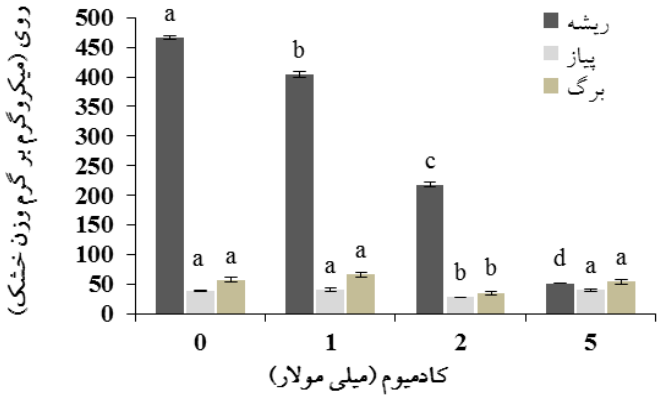
تحت تیمار کادمیوم، مقدار کاروتنوئید نیز از چنین روند کاهشی برخوردار است. بیشترین مقدار کاروتنوئید در گیاهچه‌های شاهد و کمترین مقدار در حضور ۵ mM کادمیوم مشاهده شد (شکل ۳). تقریباً ۲۷٪، ۶۰٪ و ۸۳٪ کاهش در مقدار کاروتنوئید تحت‌تأثیر غلظت‌های ۱، ۲ و ۵ میلی‌مولار کادمیوم به‌ترتیب حاصل گردید.

مقدار روی (Zn): در شکل ۴ مشاهده می‌شود که مقدار روی در ریشه‌ها بیشتر از سایر اندام‌های گیاه است و بیشترین مقدار روی در ریشه‌های شاهد دیده شد که با افزایش غلظت کادمیوم مقدار آن کاهش یافت. مقدار روی در برگ‌ها و پیازها فقط در غلظت ۲ میلی‌مولار کادمیوم کاهش نشان داد و در سایر غلظت‌ها تغییری معنی‌دار نسبت به شاهد نداشت.

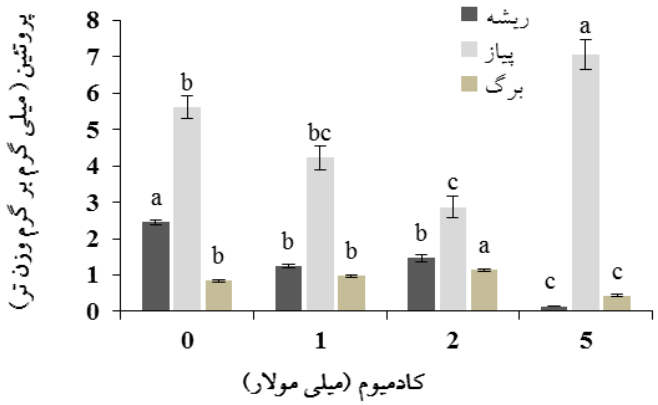
مقدار پروتئین: کادمیوم سبب کاهش معنی‌دار در مقدار پروتئین ریشه نسبت به شاهد شد به‌طوریکه در تیمار ۵ mM کمترین مقدار پروتئین حاصل گردید. اما در پیازها مقدار پروتئین تحت تیمار ۲ mM نسبت به شاهد کاهش یافت و در ۵ mM بیشترین مقدار پروتئین مشاهده شد. در مقابل، در برگ‌ها بیشترین مقدار پروتئین در تیمار ۲ mM و کمترین مقدار در تیمار ۵ mM حاصل شد (شکل ۵).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: در ریشه‌های گیاهچه نرگس کادمیوم در غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد و در غلظت ۵ mM موجب کاهش فعالیت این آنزیم شد (شکل ۶). در پیازها غلظت ۱ mM کادمیوم تأثیری بر فعالیت آنزیم نداشت ولی با افزایش غلظت

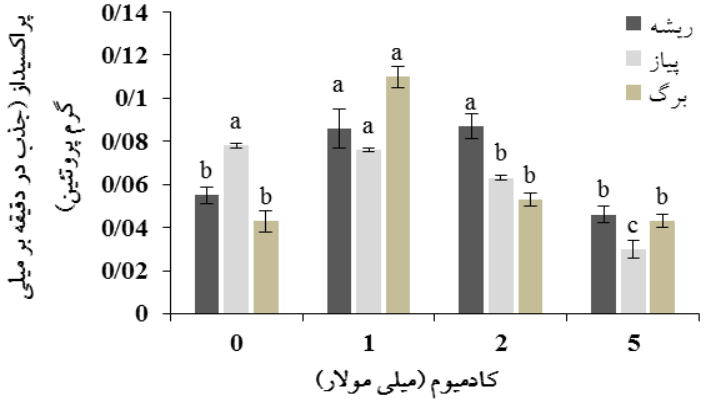
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]



شکل ۴- مقدار روی در اندام‌های مختلف گیاهچه نرگس دو هفته پس از تیمار با کادمیوم. اعداد میانگین ۴ تکرار ± خطای استاندارد است. اختلافات معنی‌دار با اعداد متفاوت نشان داده شده است ($P< 0.05$).



شکل ۵- مقدار پروتئین در گیاهچه‌های نرگس دو هفته پس از تیمار کادمیوم. اعداد میانگین ۴ تکرار ± خطای استاندارد است. اختلافات معنی‌دار با اعداد متفاوت نشان داده شده است ($P< 0.05$).



شکل ۶- فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه‌های نرگس دو هفته پس از تیمار کادمیوم. اعداد میانگین ۴ تکرار ± خطای استاندارد است. اختلافات معنی‌دار با اعداد متفاوت نشان داده شده است ($P< 0.05$).

کادمیوم، کاهش فعالیت آنزیم مشاهده شد. در برگ‌ها تیمار ۱ mM موجب افزایش فعالیت آنزیم نسبت به شاهد شد و با افزایش غلظت این فلز فعالیت آنزیم کمتر گردید و به حد شاهد رسید.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

بحث

تجمع کادمیوم: همان‌طور که در بخش نتایج اشاره شد گیاهچه نرگس نمی‌تواند کادمیوم را به‌خوبی از ریشه‌ها به اندام‌های هوایی انتقال دهد. در توافق با این نتایج در اغلب گونه‌های گیاهی مانند *Thlaspi caerulescens* (Lombi *et al.*, 2000)، *Ipomea aquatic* (Tanee *et al.*, 2016) کادمیوم اساساً در ریشه‌ها تجمع می‌یابد. ریشه‌ها اولین مکانی هستند که به‌طور انتخابی فلزات را جذب می‌کنند. فلزات جذب‌شده به دیواره‌های سلولی متصل می‌شوند و در حدود ۷۵ تا ۹۰ درصد آن‌ها در ریشه‌ها باقی می‌مانند. به‌نظر می‌رسد دیواره سلولی اولین سدی است که پروتوپلاست را از سمیت کادمیوم حفاظت می‌کند. اتصال یون‌های فلزی به دیواره سلول تحرک آن‌ها را کاهش می‌دهد و بنابراین از میزان سمیت آن‌ها بر بخش‌هایی از سلول که از نظر متابولیکی فعال‌اند کاسته می‌شود و به این ترتیب مقادیر اندکی به اندام‌های هوایی منتقل می‌شوند (Florijin and Van Beusichem, 1993). انتقال اندک فلز سنگین به اندام هوایی، مکانیسم دفاعی است که موجب حفظ فتوسنتز و اندام هوایی گیاه می‌شود. فاکتور تغلیظ زیستی که توانایی تجمع کادمیوم را نشان می‌دهد، در ریشه‌ها و پیازهای گیاهچه نرگس در تمام غلظت‌های کادمیوم بالاتر از یک و در برگ‌ها فقط در ۲ میلی‌مولار کادمیوم بیشتر از یک بود. گیاهانی که فاکتور انتقال و فاکتور تغلیظ زیستی بالاتر از یک دارند به‌عنوان بیش انباشته‌گر (hyperaccumulator) معرفی می‌شوند و اگر فاکتور انتقال کمتر از یک و فاکتور تغلیظ زیستی بیشتر از یک باشد گیاه به‌عنوان گیاه تثبیت‌کننده فلز (phytostabilizer) نامیده می‌شود (Chang *et al.*, 2018). بنابراین گیاه زینتی نرگس را می‌توان به‌عنوان تثبیت‌کننده فلز کادمیوم پیشنهاد نمود. از آنجا که در تکنیک تثبیت به‌وسیله گیاه، اجتماعات میکروبی خاک در کاهش سمیت فلز برای گیاه مؤثرند با انجام پژوهش حاضر به‌صورت در شیشه و حذف میکروارگانیسم‌های خاک، توانایی ذاتی گیاه *N. tazetta* در تجمع کادمیوم مشخص می‌گردد. در توافق با پژوهش حاضر، گونه‌ای دیگر از این گیاه *N. poeticus* نیز گیاهی مقاوم به نیکل معرفی شده است (Cig, 2020). استفاده از گیاهان زینتی به لحاظ صرفه اقتصادی و اکولوژیکی برای پاکسازی محیط زیست شهری بسیار مورد توجه است و Farooq و همکاران (۲۰۲۰) گیاه زینتی *Calendula calypso* را به‌عنوان تثبیت‌کننده کادمیوم در خاک‌های آلوده معرفی کردند. در مطالعاتی دیگر گیاهان *Amaranthus chlorostachys* نسبت به سزیم (Moogouei *et al.*, 2011) و *Iris lactea* var. Chinenesis نسبت به سرب (Han *et al.*, 2008) مقاوم گزارش شده‌اند. بنابراین گیاه نرگس می‌تواند به‌عنوان یک گیاه زینتی، کاندیدی مناسب برای پاکسازی خاک‌های آلوده به کادمیوم باشد.

تأثیر کادمیوم بر گیاهچه‌ها: در گیاهچه نرگس دو هفته پس از تیمار با کادمیوم، وزن تر و خشک ریشه در مقایسه با شاهد کاهش می‌یابد. کاهش در رشد ریشه در معرض کادمیوم توسط سایر محققین (Pirselova *et al.*, 2016; Rodriguez-Serrano *et al.*, 2009) نیز گزارش شده است. در مقابل، غلظت کم کادمیوم (۱ mM) تأثیری بر وزن خشک پیازها و برگ‌ها و کل گیاهچه نرگس ندارد. در غلظت ۱ میلی‌مولار کادمیوم، شاخص تحمل گیاهچه نرگس ۰/۹۵ است. گیاهانی که شاخص تحمل بالاتر از ۰/۶ دارند به‌عنوان گیاهان متحمل به کادمیوم شناخته می‌شوند (Lux *et al.*, 2004). بنابراین گیاهچه نرگس نسبت به غلظت‌های کم کادمیوم تا (۱ mM) گیاهی متحمل است. مشابه با پژوهش حاضر در گیاه *Hopea odorata*، افزایش غلظت کادمیوم موجب کاهش وزن خشک ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌ها می‌شود درحالیکه در غلظت‌های کم افزایش رشد برگ‌ها مشاهده می‌شود (Arifin *et al.*, 2012). در گیاه *Lupinus uncinatus* تعداد برگ‌ها و طول گیاه در غلظت زیاد کادمیوم ($۲۷ mg kg^{-1}$) نسبت به غلظت‌های کم و وزن خشک اندام‌ها نسبت به شاهد کاسته می‌شود که این کاهش رشد با علائم سمیت همراه است (Ehsan *et al.*, 2009) و یا در گیاه *Neptunia oleracea* مشابه با مطالعه حاضر کاهش شاخص تحمل از ۹۱٪ به ۳۷٪ در غلظت‌های ۰/۵ تا ۲۰ میلی-گرم بر لیتر کادمیوم گزارش شده است (Abdul *et al.*, 2014). کاهش در وزن خشک ممکن است مربوط به سمیتی باشد که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

در غلظت‌های بالای کادمیوم حاصل می‌شود. فلزات سنگین می‌توانند به‌طور غیرمستقیم با جایگزین‌شدن به‌جای عناصر ضروری در محل مبادله کاتیون‌ها در گیاه سمیت ایجاد کنند. به‌عبارتی گیاه دچار کمبود عناصر ضروری و به‌دنبال آن کاهش رشد می‌شود (Jadia and Fulekar, 2009) و یا براساس نظر Auda و Ali (۲۰۱۰) اثر کادمیوم بر کاهش رشد می‌تواند مربوط به تأثیر این فلز بر روی DNA، RNA و یا متابولیسم پروتئین باشد که بر تقسیم سلولی اثر می‌گذارد. همچنین کادمیوم بیوسنتز کلروفیل را کاهش می‌دهد که منجر به کاهش زیست‌توده اندام هوایی می‌شود (Arifin *et al.*, 2012).

پژوهش حاضر نشان داد که تحت تنش کادمیوم مقدار کلروفیل a و b کاهش می‌یابد و کاهش کلروفیل a بیشتر از کلروفیل b است و این نتایج با یافته‌های Kumar و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت داشت که بیان نمودند در گیاه باقلا تحت تنش ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم، کلروفیل a ۳۵/۳۷٪ و کلروفیل b ۲۶/۲۷٪ کاهش می‌یابد. مطالعات متعددی آشکار نموده است که با افزایش غلظت کادمیوم، کاهش مقدار کلروفیل به‌ویژه کلروفیل a بیشتر می‌شود (Kummerova *et al.*, 2010; Muradoglu *et al.*, 2015; Pirselova *et al.*, 2016). کاهش در مقدار کلروفیل‌ها می‌تواند نتیجه تجزیه آنزیمی این رنگیزه‌ها و یا بازداری بیوسنتز آن‌ها باشد. اثرات بازدارندگی کادمیوم بر بیوسنتز رنگیزه‌ها ممکن است به‌علت ممانعت از فعالیت آنزیم‌هایی باشد که در سنتز کلروفیل دخیل هستند (Liu *et al.*, 2011) و یا به‌علت کمبود آهن، روی و منیزیم باشد که تحت‌تأثیر کادمیوم در گیاه القا می‌شود (Parmar *et al.*, 2013).

همسو با مطالعه حاضر، کاهش در مقدار کاروتنوئیدها نیز توسط Pirselova و همکاران (۲۰۱۶) در گیاه باقلا و Hattab و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه نخودفرنگی، گزارش شده است. در گیاه *Miscanthus sinensis* کاهش مقدار کاروتنوئید در تنش ۲۰۰ میکرومولار کادمیوم ۴۶/۶٪ ذکر شده است (Guo *et al.*, 2016). در گیاهچه نرگس تحت تنش کادمیوم مقدار کاروتنوئیدها ۲۶/۹۵٪ در غلظت ۱ mM تا ۸۲/۹۴٪ در غلظت ۵ mM کاسته می‌شود. رابطه مثبتی بین مقدار کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها وجود دارد. کاروتنوئیدها نقش حیاتی در حفاظت کلروفیل در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو نوری با جاروب‌کردن گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کنند. بنابراین کاهش مقدار کاروتنوئید می‌تواند به‌علت افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه باشد که تحت‌تأثیر کادمیوم القا می‌شود (Behera *et al.*, 2002). Skrebskey و همکاران (۲۰۰۸) معتقدند که بازداری دلتاآمینو لوولینیک اسید دهیدراتاز که توسط کادمیوم رخ می‌دهد منجر به تجمع آمینو لوولینیک اسید و افزایش ROS می‌گردد.

کاتیون روی نقش‌های زیستی خاص و مهمی مانند ثبات ساختمانی پروتئین‌های سلولی، کاتالیزور بسیاری از آنزیم‌ها، حفاظت غشاهای زیستی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو اعمال می‌کند. از این‌رو کمبود روی می‌تواند موجب افزایش نفوذپذیری غشا و کاهش مکانیسم‌های سم‌زدایی شود. بنابراین مطالعه جذب و انتقال آن حائز اهمیت است. ورود کادمیوم به درون گیاه به‌علت شباهت شیمیایی همراه با کاتیون روی صورت می‌گیرد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که افزایش غلظت کادمیوم، غلظت روی را در بافت‌های گیاهی به‌ویژه ریشه‌های گیاه کاهش می‌دهد (Cakmak, 2000; Jiang *et al.*, 2004; Tkalec *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2005) که با نتایج پژوهش حاضر بر روی گیاهچه نرگس کاملاً همخوانی دارد. حضور کادمیوم موجب کاهش روی در ریشه‌های گیاه نسبت به شاهد شد و با افزایش غلظت کادمیوم، مقدار روی در ریشه‌های گیاه کاهش چشمگیری داشت اما در پیازها و برگ‌ها کمتر تحت‌تأثیر قرار گرفت و فقط در ۲ mM کادمیوم کاهش روی مشاهده شد. این امر آشکار می‌کند که احتمالاً جذب روی تحت‌تأثیر کادمیوم قرار می‌گیرد و کادمیوم بر انتقال آن درون گیاه تأثیر چندانی ندارد (Jiang *et al.*, 2004).

در سلول‌هایی که در معرض تنش فلزات سنگین هستند، بروز برخی ژن‌ها و درنتیجه مقدار پروتئین‌ها تغییر می‌کند. فلزات سنگین می‌توانند با افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک مانند پروتئازها، RNAase و DNAase موجب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

کاهش پروتئین‌ها شوند (Khudsar *et al.*, 2004). کاهش در مقدار پروتئین مربوط به کاهش سنتز پروتئین یا افزایش سرعت تجزیه آن است. در ریشه‌های گیاه سویا در تیمارهای ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار کادمیوم افزایش فعالیت پروتئاز مشاهده می‌شود که منجر به کاهش مقدار پروتئین می‌گردد (Bavi *et al.*, 2011). در پژوهش حاضر نیز مقدار پروتئین در ریشه تحت‌تأثیر کادمیوم کاهش می‌یابد. در پیازها نیز در غلظت ۱ mM و ۲ کادمیوم کاهش مقدار پروتئین نسبت به شاهد وجود دارد که در ۵ mM ناگهان افزایش پروتئین مشاهده می‌شود که احتمالاً افزایش میزان پروتئین تحت تنش فلزات سنگین می‌تواند بیانگر افزایش پروتئین‌های با وزن مولکولی پایین باشد. فلزات سنگین با تغییر فعالیت آنزیم‌ها موجب القای سنتز پروتئین‌هایی مانند فیتوکلاتین‌ها، سیتوکروم P450 و گلوتاتیون S- ترانسفراز می‌شوند. زیرا یکی از راه‌های کاهش اثر سمیت فلزات سنگین و تحمل گیاهان، اتصال عناصر سنگین به پروتئین‌ها (متالوتیونین‌ها) و پپتیدهای دارای گروه تیولی (فیتوکلاتین‌ها) است (Roy *et al.*, 2016).

کادمیوم به‌طور غیرمستقیم قادر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن است که در اثر افزایش آن برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز فعال می‌شوند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که بسته به نوع گونه گیاهی، بافت مورد آزمایش و غلظت فلز، کادمیوم می‌تواند فعالیت تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را ممانعت و یا تحریک کند (Chang *et al.*, 2012; Shetty *et al.*, 2012; Zheng *et al.*, 2010). در پژوهش حاضر کادمیوم موجب افزایش فعالیت پراکسیداز ریشه و برگ به‌ترتیب در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار و ۱ میلی‌مولار کادمیوم نسبت به شاهد می‌شود. Cao و همکاران (۲۰۰۴) بیان نمودند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در حضور غلظت‌های زیاد فلزات سنگین موجب مقاومت گیاه به این فلزات می‌شود. در گونه‌های مقاوم به فلزات سنگین، فعالیت پراکسیداز افزایش می‌یابد تا گیاه خود را در برابر تنش اکسیداتیو حفظ نماید، درحالیکه در گیاهان حساس فعالیت این آنزیم تغییر نکرده یا کاهش می‌یابد (Irfan *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2010). اما در غلظت ۵ mM کادمیوم در ریشه‌ها و پیازهای گیاهچه نرگس با افزایش غلظت کادمیوم فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش می‌یابد. کاهش فعالیت پراکسیداز می‌تواند به‌دلیل افزایش تجمع کادمیوم در اندام‌های گیاه در غلظت‌های زیاد باشد که موجب تولید مقادیر زیادی گونه‌های فعال اکسیژن شده است که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان قادر به از بین‌بردن آنها نیستند و گونه‌های فعال اکسیژن احتمالاً از طریق بازداری سنتز پروتئین موجب کاهش فعالیت پراکسیداز می‌شوند (Wu *et al.*, 2003). در گیاه *Pteris vittata* که یک انباشته‌گر آرسنات است، در غلظت کم آرسنات افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان مشاهده می‌شود که در سم‌زدایی آرسنات مؤثر است و در غلظت زیاد آن آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی مانند گلوتاتیون نقش سم‌زدا را ایفا می‌کند (Cao *et al.*, 2004).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر آشکار نمود که ریشه‌های گیاهچه‌های ریزازدیادی شده نرگس قادر به تجمع مقادیر زیاد کادمیوم در غلظت ۱ میلی‌مولار کادمیوم بدون هیچ عارضه سمیت و کاهش رشد است. شاخص تحمل بالاتر از ۰/۶ نشان داد که این گیاه یک گیاه متحمل نسبت به کادمیوم است. فاکتور تغلیظ زیستی بالاتر از ۱ و فاکتور انتقال کمتر از ۱ مشخص کرد که گیاه زینتی نرگس را می‌توان به‌عنوان یک تثبیت‌کننده برای رفع آلودگی کادمیوم از مکان‌های آلوده معرفی نمود. با افزایش غلظت کادمیوم مقدار روی، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها و پروتئین کل ریشه کاهش یافت و کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در حضور بیشترین مقدار کادمیوم (۵ mM) حاصل شد. پیشنهاد می‌شود با توجه به نتایج حاصله مطالعات بیشتر در خاک صورت پذیرد تا از توانایی این گیاه زینتی برای پاکسازی خاک‌های آلوده به فلز سنگین استفاده نمود.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

منابع

سلیمانی، س. ح.، برنارد، ف. و فاضلی‌نژاد، س. (۱۳۹۸) ریزازدیادی گیاه نرگس (*Narcissus tazetta* L.) تحت تیمارهای هورمونی متفاوت و انتقال به خاک گیاهچه‌ها. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۳۲: ۳۵۴-۳۴۳.

Abdul, W., Aini, S. I., Sharifah, N., Sarva, M. P. and Awang, S. (2014) The comparison of phytoremediation abilities of water Mimosa and water Hyacinth. ARPN Journal of Science and Technology 4: 722-731.

Horwitz, W. (2000) AOAC Official Methods of Analysis. 17th Ed.

Arifin, A., Parisa, A., Hazandy, A. H., Mahmud, T. M., Junejo, N., Fatemeh, A., Mohsen, S., Wasli M. E. and Majid, N. M. (2012) Evaluation of cadmium bioaccumulation and translocation by *Hopea odorata* grown in a contaminated soil. African Journal of Biotechnology 11: 7472-7482.

Auda, M. A. and Ali, E. E. L. S. (2010) Cadmium and zinc toxicity effects on growth and mineral nutrients of carrot (*Daucus carota*). Pakistan Journal of Botany 42: 341-351.

Bavi, Kh., kholdebarin, B. and moradshahi, A. (2011) Effect of cadmium on growth, protein content and peroxidase activity in pea plants. Pakistan Journal of Botany 43: 1467-1470.

Behera, K., Mishra, P. Ch. and Choudhury, N. K. (2002) High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. Journal of Plant Physiology 159: 967-973.

Bradford, M. M. (1976) A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-54.

Cakmak, I. (2000) Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytologist 146: 185-205.

Cao, X., Ma, L.Q. and Tu, C. (2004) Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.). Environmental Pollution 128: 317-325.

Chang, K. J., Gonzales, M. J., Ponce, O., Ramirez, L., Leon V., Torres, A., Corpus, M. and Loayza-Muro, R. (2018) Accumulation of heavy metals in native Andean plants: Potential tools for soil phytoremediation in Ancash (Peru). Environmental Science and Pollution Research 25: 33957-33966.

Chang, M. L., Chen, N. Y., Liao, L. J., Cho, Ch. L. and Liu, Z. H. (2012) Effect of cadmium on peroxidase isozyme activity in roots of two *Oryza sativa* cultivars. Botanical Studies 53: 31-44.

Cig, A. (2020) Tolerance of daffodil (*Narcissus poeticus* L. C.V. "ice folies") to nickel contaminated media. ISPEC Journal of Agricultural Sciences 4: 105-112.

Doran, P. M. (2009) Application of plant tissue cultures in phytoremediation research: Incentives and limitations. Biotechnology and Bioengineering 103: 60-76.

Ehsan, M., Santamaria-Delgado, K., Alderete-Chavez, A., Cruz-Landero, N. De la, Jaen-Contreras, D. and Augustine Molumeli, P. (2009) Phytostabilization of cadmium contaminated soils by *Lupinus uncinatus* Schldl. The Spanish Journal of Agricultural Research 2: 390-397.

Fang, Zh., Lou, L., Tai, Zh., Wang, Y., Yang, L., Hu, Zh. and Cai, Q. (2017) Comparative study of Cd uptake and tolerance of two Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) cultivars. PeerJ 2: e 3621.

Farooq, A., Nadeem, M. D., Abbas, Gh. and Shabbir, A. (2020) Cadmium partitioning, physiological and oxidative stress responses in Marigold (*Calendula calypso*) grown on contaminated soil: Implications for phytoremediation. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 105: 270-276.

Florijin, P. J. and Van Beusichem, M. L. (1993) Cadmium distribution in maize inbred lines: Effects of pH and level of Cd supply. Plant and Soil 153: 79-84.

Fontes, R. L. F., Pereira, J. M. N. and Neves, J. C. L. (2014) Uptake and translocation of Cd and Zn in two lettuce cultivars. Annals of the Brazilian Academy of Sciences 86: 907-922.

Guo, H., Hong, Ch., Chen, X., Xu, Y., Liu, Y., Jiang, D. and Zheng, B. (2016) Different growth and physiological responses to cadmium of the three *Miscanthus* species. Plos One 12: 1-16.

Han, Y. L., Huang, S. Zh., Gu, J. G. and Qiu, Sh. (2008) Tolerance and accumulation of lead by species of *Iris* L. Ecotoxicology 17: 853-9.

Hattab, S., Dridi, B., Chouba, L., Kheder, M. B. and Bousetta, H. (2009) Photosynthesis and growth responses of pea *Pisum sativum* L. under heavy metals stress. Journal of Environmental Science 21: 1552-1556.

Irfan, M., Ahmad, A. and Hayat, Sh. (2014) Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea*. Saudi Journal of Biological Sciences 21: 125-131.

Jadia, C. D. and Fulekar, M. (2009) Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. African Journal of Biotechnology 8: 921-928.

Jamali, N., Ghaderian, S. M. and Karimi, N. (2014) Effects of cadmium and zinc on growth and metal accumulation of *Mathiola flavida* boiss. Environmental Engineering and Management Journal 13: 2937-2944.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

Jiang, X. J., Luo, Y. M., Liu, Q., Liu, S. L. and Zhao, Q. G. (2004) Effects of cadmium on nutrient uptake and translocation by Indian mustard. Environmental Geochemistry and Health 26: 319-324.

Khan, A. H. A., Kiyani, A., Mirza, C. R., Ashfaq, B. T., Barros, R., Ali, B., Iqbal, M. and Yousaf, S. (2021) Ornamental plants for the phytoremediation of heavy metals: Present knowledge and future perspectives. Environmental Research 195: 110780.

Khudsar, T., Mahmooduzzafar, M., Iqbal, M. and Sairam, R. K. (2004) Zinc induced changes in morpho-physiological and biochemical in *Artemisia annua*. Biologia Plantarum 48: 255-60.

Korori, S. A. A., Hinterstoisser, B., Long, M. and Ebermann, R. (1992) Seasonal alteration of plant peroxidase isoenzymes pattern *in larix decidua*. Phyton 32: 307-313.

Kumar, N. M., Tomar, M. and Bhatnagar, A. K. (2000) Influence of cadmium on growth and development of *Vicia faba* Linn. Indian Journal of Experimental Biology 38: 819-823.

Kummerova, M., Zezulka, S., Kraľova, K. and Masarovicova, E. (2010) Effect of zinc and cadmium on physiological and production characteristics in *Matricaria recutita*. Biologia Plantarum 54: 308-314.

Lebeau, T., Braud, A. and Jezequel, K. (2008) Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils. Environmental Pollution 153: 497-522.

Lichtenthaler, H. and Wellburn, A. (1983) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 603: 591-592.

Liu, D., Hu, K., Ma, J., Qiu, W., Wang, X. and Zhang, Sh. (2011) Effects of cadmium on the growth and physiological characteristics of sorghum plants. African Journal of Biotechnology 10: 15770-15776.

Liu, L., Li, W., Song, W. and Guo, M. (2018) Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. Science of the Total Environment 633: 206-219**.**

Lombi, E., Zhao, F. J., Dunham, S. J. and Mc Grath, S. P. (2000) Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*. New Phytologist 145: 11-20.

Lux, A., Sottnikova, A., Opatrna, J. and Greger, M. (2004) Differences in structure of adventitious roots in Salix clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity. Physiologia Plantarum 120: 537-545.

Mead, M. N. (2010) Cadmium confusion: Do consumers need protection? Environmental Health Perspectives 118: A528-A534.

Moogouei, R., Borghei, M. and Arjmandi, R. (2011) Phytoremediation of stable Cs from solutions by *Calendula alata*, *Amaranthus chlorostachys* and *Chenopodium album*. Ecotoxicology and Environmental safety 74: 2036-2039.

Muradoglu, F., Gundogdu, M., Ercisli, S., Encu, T., Balta, F., Jaafar, H. Z. E. and Zia-U-Haq, M. (2015) Cadmium toxicity affects chlorophyll a and b content, antioxidant enzyme activities and mineral nutrient accumulation in strawberry. Biological Research 48: 1-7.

Parmar, P., Kumari, N. and Sharma, V. (2013) Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. Botanical Studies 54: 45.

Pirselova, E., Kuna, R., Lukac, P. and Havrlentova, M. (2016) Effect of cadmium on growth, photosynthetic pigments, iron and cadmium accumulation of faba bean (*Vicia faba* cv. Astar). Agriculture (Pol'nohospodarstvo) 62: 72-79.

Radziemska, M., Vaverkova, M. D. and Baryla, A. (2017) Phytostabilization management strategy for stabilizing trace elements in contaminated soils. International Journal of Environmental Research and Public Health 14: 958.

Rodriguez-Serrano, M., Romero-puertas, M. C., Pazmino, D. M. Testillano, P. S., Risueno, M. C., Delrio, L. A. and Sandalio, L. M. (2009) Cellular response of pea plants to cadmium toxicity: Cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide and calcium. Plant Physiology 150: 229-243.

Roy, S. K., Cho, S. W., Kwon, S. J., Mostafa Kamal, A. H., Kim, S. W., Oh, M. W., Lee, M. S., Chung, K. Y., Xin, Zh. and Woo, S. H. (2016) Morpho-physiological and proteome level responses to cadmium stress in sorghum. Plos One 26: 1-27.

Sharma, A., Sainger, M., Dwivedi, S., Srivastava, S., Tripathi, R. D. and Singh, R. P. (2010) Genotypic variation in *Brassica juncea* (L.) Czern cultivars in growth, nitrate assimilation, antioxidant responses and phytoremediation potential during cadmium stress. Journal of Environmental Biology 31: 773-780.

Sharma, R., Bhardwaj, R., Gautam, V., Bali, Sh., Kaur, R., Kaur, P., Sharma, M., Kumar, V., Sharma, A., Thukral, A. K., Pal Vig, A. and Ohri, P. (2018) Phytoremediation in waste management: Hyperaccumulation diversity and techniques. In: Plants under Metal and Metalloid Stress (eds. Hasanuzzaman, M. *et al*.) Pp. 277-302. Springer Nature, Singapore Pte Ltd.

Shetty, P., Banu, U., Kedilaya, T. and Patheja, M. (2012) Characterization of peroxidase from *Brassica oleracea* gongylodes gives a lead for use of bromocresol purple as a novel substrate for peroxidase assay. Journal of Biochemical Technology 4: 502-507.

Skrebskey, E. C., Tabaldi, L. A., Pereira, L. B., Rauber, R., Maldaner, J., Cargnelutti, D., Gonçalves, J. F., Castro, G. Y., Shetinger, M. R. C. and Nicoloso, F. T. (2008) Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and δ-aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*, Braz. Journal of Plant Physiology 20: 285-294.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

Soleimani, S. H., Bernard, F., Amini, M. and Khavari-nezhad, R. A. (2020) Cadmium accumulation and alkaloid production of *Narcissus tazetta* plants grown under in vitro condition with cadmium stress. Plant Physiology Reports 25: 51-57.

Soudek, P., Petrova, S. and Vanek, T. (2011) Heavy metal uptake and stress responses of hydroponically cultivated garlic (*Allium sativum* L.). Environmental and Experimental Botany 74: 289-295.

Street, R. A., Kulkarni, M. G., Wendy, A. S. and Colin Southway, J. V. (2009) Effect of cadmium uptake and accumulation on growth and antibacterial activity of *Merwilla plumbea* — An extensively used medicinal plant in South Africa. South African Journal of Botany 75: 611-616.

Tanee, T., Sudmoon, R., Thamsenanupap, P. and Arunrat Chaveerach, A. (2016) Effect of cadmium on DNA changes in *Ipomoea aquatica* Forssk. Polish Journal of Environmental Studies 25: 311-315.

Tiwari, Sh., Bajpai, Sh. and Srivastava, N. (2017) Some morphological and biochemical changes in gram seedlings under cadmium stress. Journal of Bioremediation and Biodegradation 480: 1-4.

Tkalec, M., Tefanic, P. P., Cvjetko, P., Sikic, S., Pavlica, M. and Balen, B. (2014) The effects of cadmium-zinc interactions on biochemical responses in tobacco seedlings and adult plants. Plos One 9: e 87582.

Weniger, B., Italiano, L. and Beak, J. P. (1995) Cytotoxic activity of amaryllidaceae alkaloids. Planta Medica 61: 77-79.

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.

Wu, F., Dong, J., Qian, Q. Q. and Zhang, G. P. (2005) Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd–Zn interaction in different barley genotypes. Chemosphere 60: 1437-1446.

Zhang, H., Guo, Q., Yang, J., Chen, T., Zhu, G., Peters, M., Wei, R., Tian, L., Wang, Ch., Tan, D., Ma, J., Wang, G. and Wan, Y. (2014) Cadmium accumulation and tolerance of two castor cultivars in relation to antioxidant systems. Journal of Environmental Sciences 26: 2048-2055.

Zheng, G., Lv, H. P., Gao, S. and Wang, S. R. (2010) Effects of cadmium on growth and antioxidant responsesin *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. Plant Soil and Environment 56: 508-515.

Zeng, X. W., Ma, L. Q., Qiu, R. L. and Tang, Y. T. (2011) Effects of Zn on plant tolerance and non-protein thiol accumulation in Zn hyperaccumulator *Arabis paniculata* Franch. Environmental and Experimental Botany 76: 227-232.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]

Accumulation of Cadmium in *Narcissus tazetta* L. ornamental plant and its effect on growth character and zinc uptake under *In vitro* condition

Shabnam Farjad Tehrani [1], Francoise Bernard[1], Seyedeh Homeira Soleimani[2]

1 Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran
2 Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Ghods Branch, Tehran
(Received: 29/05/2021, Accepted: 23/10/2021)

Abstract

The use of ornamental plants in phytoremediation has attracted a lot of attention due to prevention of the entry of the heavy metals into the food chain and their beauty in the environment. Today, tissue culture technique is used as a model system to predict the plant's response to environmental pollutants. In the present study to investigate the ability of *Narcissus tazetta* L. in remediating the environment of cadmium contaminants, *in vitro* micropropagation of this ornamental plant was performed by three procedures: induction, proliferation and bulb production. Then these plantlets were treated by cadmium chloride in three concentrations (1, 2 and 5 mM) in solidified MS culture medium for two weeks. The results showed that Narcissus plantlets were able to accumulate large amounts of cadmium and by increasing cadmium concentration in the medium, its accumulation in plantlets increased; based on the results, in 5 mM treatment, the amount of cadmium in the roots, bulbs and leaves of plantlets was 7502.84, 1971.45 and 398.60 $\mu g\ g^{-1}DW$, respectively. Increasing the concentration of cadmium in the medium caused a decrease in dry weight, amount of pigments, uptake of zinc and peroxidase activity. In 1 mM cadmium chloride treatment the tolerance index was 0.95 that by increasing cadmium concentration, the tolerance of plantlets decreased. Transfer factor of plantlets were less than one and bioconcentration factor was more than one, indicating that Narcissus can be suggested as a suitable alternative for cadmium contaminant phytostabilization of course requires further research on the soil.

Keywords: Cadmium, Micropropagation, *Narcissus tazetta*, Phytoremediation, Tissue culture

Corresponding author, Email: moho_plant@qodsiau.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.9.8]