تاثیر تنش فلز کادمیوم بر برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه داروئی ماریتیغال (*Silybum marianum*)

ثریا پورتبریزی[۱]، شهرام پورسیدی[۲*]، روح‌اله عبدالشاهی[۱] و نازی نادرنژاد[۳]

[۱]گروه زراعت و اصلاح‌نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، [۲] گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، [۳]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰٤/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۲/۲٤)

چکیده

کادمیوم یکی از فلزات سنگین است که در گیاهان تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند. در این پژوهش که در سال ۹۵-۹٤ در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهیدباهنر کرمان انجام شد، اثر سمیت این فلز بر گیاه داروئی ماریتیغال مورد بررسی قرار گرفت. تاثیر چهار تیمار کلریدکادمیوم (صفر(شاهد)، ۳۰۰، ٦۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار) بر گیاه ماریتیغال با استفاده از یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار بررسی گردید. نتایج محاسبه شاخص تنش تحمیل شده، شدت تنش وارد بر گیاه را در سطوح مختلف تیمار تایید کرد. کاهش وزن خشک اندام هوایی، سطح برگ، مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل در غلظت ۹۰۰ میکرومولار معنی‌دار بود. کلروفیل b برگ‌ها در هر سه سطح تنش در مقایسه با شاهد، به طور معنی‌داری کاهش یافت. با این حال محتوای کاروتنوئید تغییر معنی‌داری نشان نداد. غلظت مالون دآلدئید، محتوای آنتوسیانین، ترکیبات فنلی کل و فلاوونوئیدها در سطح ۹۰۰ میکرومولار کادمیوم افزایش یافت. میزان پروتئین کل در سطح ۹۰۰ میکرومولار، کاهش و میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، گلوتاتیون‌ردوکتاز و آسکوربات‌پراکسیداز در این سطح نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. نتایج تایید کرد این گیاه داروئی دارای مکانیسم‌های متفاوت فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جهت کاهش خسارت ناشی از تنش کادمیوم است. سنجش غلظت یون کادمیوم در بافت برگ و ریشه با استفاده از روش جذب اتمی نشان داد که غالب کادمیوم در برگ این گیاه تجمع و مقدار کمی در ریشه باقی می‌ماند که می‌تواند ماریتیغال را به عنوان گزینه مناسبی جهت مطالعات گیاه‌پالایی معرفی نماید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، تنش کادمیوم ، ماریتیغال، گیاه‌پالایی

مقدمه

در سال‌های اخیر استفاده از داروهای گیاهی به‌طورچشم‌گیری در سراسر جهان افزایش یافته است، از این‌رو سلامت و کیفیت مواد خام گیاهان دارویی و محصولات فرآوری‌شده آنها یکی از نگرانی‌های عمده سازمان بهداشت جهانی است .آلودگی‌های زیست‌محیطی، از جمله فلزات سنگین یکی از معیارهای کنترل کیفیت گیاهان دارویی و محصولات فرآوری‌شده آن‌ها می‌باشند و ممکن است با تحت تاثیر قراردادن مسیر زیست‌ساختی متابولیت‌های ثانویه، باعث تغییرات قابل توجه در کمیت و کیفیت این متابولیت‌ها شوند. با توجه به افزایش استفاده از کودهای شیمیایی، سموم و آفت‌کش‌های مختلف برای افزایش عملکرد محصولات

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: spseyedi@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

کشاورزی از یک طرف و توسعه شهرنشینی و فعالیت‌های صنعتی از سوی دیگر، ممکن است در مواردی این عناصر در گیاهان دارویی انباشته شوند (عسکری لجایر و همکاران، ۱۳۹۳). در بین فلزات سنگین، به کادمیوم توجه ویژه‌ای شده چرا که طبق مطالعات نورانی‌آزاد و کفیل‌زاده (۱۳۹۰) به‌راحتی به وسیله ریشه گیاه جذب می‌شود و سمیت آن تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است. گزارش شده است که این فلز سبب کلروز و نکروز برگ‌ها می‌شود (Singh and Myhr,1998). کادمیوم اگرچه برای رشد گیاه ضروری نیست، اما به‌راحتی از طریق پوست ریشه جذب و سپس از راه سیمپلاستی یا آپوپلاستی وارد بافت چوب می‌شود. مطالعات Sanita و Gabbrielli (۱۹۹۹) نشان داد گیاهان برای حفاظت در برابر تنش اکسیداتیو حاصل از سمیت غلظت‌های بالای کادمیوم مجهز به یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این سیستم شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیداسیون مانند کاتالاز و نیز سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی می‌باشد. سمیت کادمیوم در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد گیاه به شکل‌های مختلف دیده شده است که شامل کاهش عملکرد، کاهش رشد ریشه و برگ، بازدارندگی فعالیت برخی آنزیم‌ها، تولید موتاژن‌ها،کاهش سطح برگ و ماده خشک گیاه می‌شود. مطالعات گوناگون از جمله آزمایشات Hegedus و همکاران (۲۰۰۱) روی تاثیر کادمیوم بر مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a، b وکاروتنوئیدها در گیاهان عالی و نیز مطالعات Ramos و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی تجمع کادمیوم موید اهمیت موضوع است. گیاه ماریتیغال متعلق به تیره آستراسه (*Asteraceae*)، گیاهی دارویی است که در مناطق مختلف کشور ایران از جمله چالوس، گنبدکاووس، بابل، دشت مرغان، کرمانشاه، خوزستان و جهرم به صورت خودرو می‌روید (صرامی و همکاران، ۱۳۹۱). مطالعات Gupa (۲۰۰۳) نشان می‌دهد از این گیاه ماده‌ای به نام سیلی مارین با خواص درمانی فراوان استخراج شده که میزان آن در بذر نسبت به سایر اندام‌های گیاه بیشتر است. شناخت اثرات تنش‌های مختلف روی فیزیولوژی گیاهان دارویی برای آگاهی از مکانیسم‌های مقاومت و بقای گیاهان به منظور افزایش تحمل در برابر تنش ضرورت دارد. از این رو این تحقیق با هدف بررسی پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک در شرایط تنش ناشی از افزایش فلز کادمیوم انجام شده است.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه ماریتیغال از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت‌سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه، به کمک آب مقطر چندین بار شستشو داده شد. بذرهای ضدعفونی شده، طبق مطالعات نبئی و همکاران (۱۳۹۳) جهت تسریع در جوانه زنی با نیترات‌پتاسیم ۰/۲٪ به مدت ۲٤ ساعت تیمار و سپس در گلدان حاوی کوکوپیت در قفسه نوری کشت گردیدند. پس از یک هفته آبیاری با آب مقطر و سبز شدن گیاهچه‌ها، به مدت دو هفته از محلول کامل غذایی جهت آبیاری استفاده شد. بعد از آن آبیاری توسط محلول‌های حاوی ۹۰۰ و ۶۰۰، ۳۰۰، ۰ میکرومولار کلریدکادمیوم به‌مدت دو هفته انجام شد. پس از طی مرحله سه‌برگی، گیاهان از گلدان خارج و وضعیت رویشی ریشه‌ها بررسی شد و سپس اندام‌های مختلف گیاه شامل ریشه و برگ جدا و نمونه‌ها در نیتروژن مایع منجمد و تا زمان اندازه گیری پارامترها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری وزن خشک (Laiye *et al*., 2003)، برگ‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۸ ساعت قرار گرفت .پس از خشک شدن نمونه‌ها توزین شد. برای مقایسه سطح برگ(سلطانی‌وهمکاران، ۱۳۸۵) گیاه شاهد با گیاهان تحت تیمار، از برگ‌های جدا شده، کپی کاغذی تهیه گردید. سپس وزن کپی مورد نظر با ترازو اندازه‌گیری شد. یک سانتیمترمربع از کادر کاغذ نیز جدا وزن و با محاسبه نسبت وزن برگ به وزن یک سانتیمتر مربع از کاغذ، سطح هر برگ محاسبه و مقایسه شد. در این روش می‌بایست حتماً از یک جنس کاغذ استفاده گردد و دقت زیادی در بریدن شکل برگها از روی کاغذ انجام شود، در این صورت روشی بسیار دقیق می‌باشد.

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام شد. ۰/۲ گرم از برگ‌های فریز شده با ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد وپس از صاف کردن جذب آنها با اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ٦٤٦/٨، ٦٦٣/٢٠ و ٤٧٠ نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. غلظت بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاهی تعیین و سپس نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بافت محاسبه شد.

$$Chl\ a = ۱۲/۲۵\ A_{663.2} - ۲/۷۹\ A_{646.8}$$

$$Chl\ b = ۲۱/۲۱\ A_{646.8} - ۵/۱\ A_{663.2}$$

$$Chl\ T = chl\ a + chl\ b$$

$$Car = (۱۰۰۰\ A_{470} - ۱/۸\ chl\ a - ۸۵/۰۲\ chl\ b) / ۱۹۸$$

در این رابطه Chl a، Chl b، Chl T و Car به ترتیب کلروفیل a، b، کل و کاروتنویید می‌باشند.

شاخص میزان تنش تحمیل‌شده (Tolerance stress Index): Ti نسبت و معیاری برای مقایسه وزن خشک کل، بخش هوایی و ریشه گیاهان تحت تنش با تیمار شاهد می‌باشد و فاقد واحد است. این شاخص در واقع شدت تنش وارد بر گیاه را نشان می‌دهد. در این تحقیق شاخص وارده به اندام هوایی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Ewaise, 1997):

$$Ti = \frac{Yp - Ys}{Yp}$$

Yp= وزن ماده خشک اندام هوایی در شرایط بدون تنش

Ys= وزن ماده خشک اندام هوایی در شرایط تنش

اندازه‌گیری مالون‌دآلدئید (MDA) به روش Heath و Packer (۱۹٦۹) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت برگ فریزشده، با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل با سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول روئی حاصل از سانتریفیوژ، ٤ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم حرارت داده شده سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در طول موج ٦۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید. سنجش میزان آنتوسیانین بر اساس روش Wagner(۱۹۸۷) انجام شد. ۰/۱ گرم از بافت برگ را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک‌اسید خالص) به نسبت (۱:۹۹) کاملاً ساییده و عصاره در لوله‌های آزمایش سر پیچ‌دار ریخته شد و به مدت ٢٤ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌مولار بر گرم وزن تر بافت ارائه گردید. سنجش فلاوونوئیدهای کل با روش اندازه‌گیری آلومینیوم‌کلراید کالریمتری Zhishen و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد. ۰/۱ گرم از بافت برگ در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ به خوبی سائیده شد و عصاره حاصل در دور ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. محلول روئی جهت مراحل بعدی استفاده شد. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره برداشته و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. ۳۰۰ میکرولیتر سدیم‌نیتریت ۵ درصد و بعد از ۵ دقیقه، ٦۰۰ میکرولیتر کلریدآلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه شد. بعد از ٦ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر هیدروکسیدسدیم ۱ مولار به همراه ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول اضافه گردید. شدت جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت فلاوونوئید کل با استفاده از روتین منحنی استاندارد رسم گردید و غلظت فلاوونوئیدهای کل بر حسب میلی‌گرم روتین در ۱۰۰ گرم وزن تر ارائه شد.

محتوای فنلی کل با استفاده از روش Laima و Sonald (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد. ۰.۱ گرم از اندام هوایی گیاه را در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد ساییده و به مدت ٢٤ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به یک میلی‌لیتر محلول رویی۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ اضافه گردید و با آب مقطر دوبار تقطیر شده به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰.۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰٪ و ۱ میلی‌لیتر کربنات‌سدیم ۵٪ به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگهداری شد و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

سپس جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت ترکیبات فنلی کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) با استفاده از روش Hahlbrock و Ragg (۱۹۷۵) ۳۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ در هاون سرد حاوی Tris-Hcl (PH= ۸/۸) ۵۰ میلی‌مولار حاوی بتامرکاپتواتانول ۱۵ میلی‌مولار ساییده و سپس ۳۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰، سانتریفیوژ شد. محلول رویی جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم استفاده شد. در یک لوله ۱ میلی‌لیتر از بافر استخراج به همراه ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل‌آلانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/٤ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر و ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و ٦۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰٪ پایان می پذیرد. غلظت سینامیک‌اسید با قرائت جذب ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد. یک واحد از فعالیت آنزیم معادل ۱ میکرومول از سینامیک‌اسید تولید شده در دقیقه است.

جهت سنجش میزان پروتئین کل یک گرم برگ فریز شده در یک هاون چینی محتوی ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار که دارای اتیلن‌دی‌آمین‌تتراستیک‌اسید ۱ میلی‌مولار، فنیل‌متان‌سولفونیل‌فلورید ۱ میلی‌مولار و پلی‌وینیل‌پیرولیدین ۱ درصد بود، ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار با ۱٤۰۰۰ دور و دمای ٤ درجه قرار گرفت. جهت سنجش پروتئین کل از روش Bradford (۱۹۷٦) استفاده شد. به این منظور به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و سریعا ورتکس گردید. پس از ۲ دقیقه و قبل از یک ساعت جذب محلول‌ها در طول موج ۵۹۵ قرائت و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX) با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱).مخلوط کل واکنش با حجم ۳ میلی‌لیتر شامل ۲/٤۹۰ میلی‌لیتر بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با PH= ۷، ۳۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، ۳۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۱۵ میلی‌مولار، ۳۰ میکرولیتر EDTA ۱۰ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با شروع واکنش آنزیمی و به دنبال اکسید شدن آسکوربات، جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر، دو دقیقه پس از شروع واکنش نسبت به زمان شروع واکنش در بازه‌های زمانی یک دقیقه‌ای خوانده و فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) گزارش شد.

جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌ردوکتاز (GR) به وسیله اکسیداسیون NADPH از روش Foyer و Halliwell (۱۹۷٦) استفاده شد. در این روش مخلوط واکنش با حجم کل ۳ میلی‌لیتر حاوی ۲/٤۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH= ۷/۸)، ۳۲/۸۳ میلی‌گرم گلوتاتیون‌اکسیدشده (GSSG) ۰/۵ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر NADPH ۰/۱ میلی‌مولار، ۰/۰۷۵ گرم EDTA ۲ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با اضافه کردن NADPH شروع شد. جذب نمونه‌ها به مدت ۳ دقیقه در طول موج ۳٤۰ نانومتر خوانده شد. سنجش غلظت یون کادمیوم در گیاه در بافت ریشه و برگ با استفاده از روش جذب اتمی انجام شد. بافت خشک گیاهی در کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده شد و در ۱۰ سی‌سی اسید هیدروکلریدریک ۲ نرمال ریخته شد. سپس محلول حاصل گرم گردید تا بخارات اسیدی از محلول خارج شود. بعد از آن حجم محلول را به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شد. از محلول به دست آمده برای سنجش غلظت با استفاده از دستگاه طیف نگار جذب اتمی Spectra AA مدل Atomic Absorption Spectrometer 220 استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مراحل مختلف این تحقیق با استفاده نرم‌افزار آماری SAS و تجزیه واریانس ANOVA انجام و برای مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر پارامترهای مورد بررسی از آزمون دانکن و ضریب اطمینان ۹۵٪ استفاده شد.

نتایج

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

پارامترهای مورفولوژیک: خارج کردن گیاهچه‌ها با خاک از گلدان نشان داد که حجم ریشه بطور کاملاً محسوسی در سطوح مختلف تیمار نسبت به شاهد کاهش یافته است. بعد از شستشوی خاک و جدا کردن ریشه‌های فرعی، کاهش طول ریشه اصلی در سطوح بالای تیمار کاملاً محرز بود (شکل ۱). در حقیقت کادمیوم از تقسیم سلول‌های منطقه مریستمی و رشد سلول‌های منطقه رشد جلوگیری می‌کند و از طرف دیگر تمایز زودرس و چوبی شدن دیواره سلول‌های واقع در منطقه رشد طولی سلول می‌تواند از دلایل دیگر کاهش رشد ریشه باشد (Fusconi *et al*., 2007).

وزن خشک اندام هوایی: مقایسه گیاهان تیمار شده با گیاه شاهد (شکل۲a) نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم این وزن کاهش می‌یابد. وزن خشک اندام هوایی در غلظت ۹۰۰ میکرومولار کادمیوم کاهش چشم‌گیری نسبت به گیاه شاهد داشت و اختلاف معنی دار بین شاهد و این غلظت مشاهده شد (جدول ۱و ۲).

سطح برگ: نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که در گیاهان تحت تنش سطح برگ نسبت به گیاه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل۲b).

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج نشان داد که کادمیوم در غلظت ۳۰۰ میکرومولار، اثر چندانی بر مقدار کلروفیلa، کلروفیل کل و کاروتنوئید نداشته در حالی که توانسته میزان کلروفیل b را هم‌چون غلظت‌های ۶۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار کاهش دهد. کاهش محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل در سطوح ۶۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار معنی‌دار است (شکل۳). در این مطالعه هیچ یک از سطوح تیمار علی رغم روند رو به افزایش، نتوانسته منجر به تغییرات معنی‌داری نسبت به شاهد در میزان کاروتنوئید برگ این گیاه گردد (جدول ۱و ۲).

مالون‌دآلدئید: بررسی نشان داد مقدار مالون‌دآلدئید در برگ گیاهان تحت تیمار در غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار کادمیوم تفاوت زیادی با شاهد ندارد (جدول ۱و ۲)، اما در غلظت ۹۰۰ میکرومولار افزایش چشم‌گیری را نسبت به گیاه شاهد در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد (شکل٤).

سنجش میزان آنتوسیانین و محتوای فلاوونوئید کل در برگ‌ها نشان داد که تیمار۹۰۰ میکرومولار باعث افزایش معنی‌دار این پارامترها شده است. میزان ترکیبات فنلی در دو سطح ۶۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد افزایش یافته و تفاوت معنی‌دار نشان داد (شکل۵ و جدول۱، ۲).

فعالیت فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز: طبق نتایج شکل(A)٦ افزایش فعالیت این آنزیم با افزایش سطح کلریدکادمیوم به ۹۰۰ میکرومولار تفاوت معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۱ و ۲).

محتوای پروتئین کل: نتایج تغییرات مقدار پروتئین در برگ‌های ماریتیغال نشان می‌دهد با افزایش سطح تنش مقدار پروتئین کل به طور معنی‌داری در سطح ۹۰۰ میکرومولار کاهش می یابد. این کاهش همان‌طور که در شکل (B) ٦ نشان داده شده است بین سطوح ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار تفاوت معنی‌داری نشان نداد، هرچند تفاوت کاهش در این دو سطح نسبت به شاهد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲).

فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌ردوکتاز: بررسی اثر سطوح مختلف کلریدکادمیوم (شکل(C) ٦) بیانگر افزایش این فعالیت این آنزیم در برابر افزایش غلظت کادمیوم است و این افزایش در سطح ۹۰۰ میکرومولار در بالاترین حد و در سطوح ۳۰۰ و۶۰۰ تفاوت معنی‌دار با شاهد نداشت (جدول ۱ و ۲).

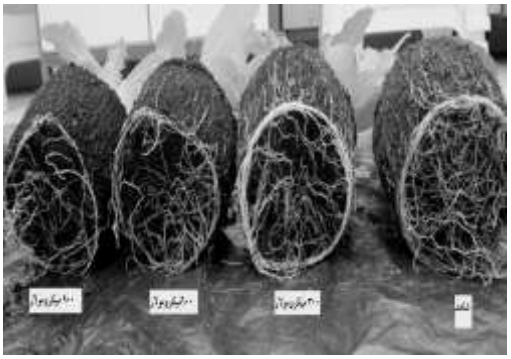
فعالیت آسکوربات‌پرکسیداز: طبق نتایج شکل (D) ٦ فعالیت آسکوربات‌پرکسیداز با افزایش سطح کلریدکادمیوم به ۶۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار تفاوت معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. هر چند فعالیت این آنزیم نسبت به آنزیم گلوتاتیون‌ردوکتاز کمتر بود (جدول ۱ و ۲).

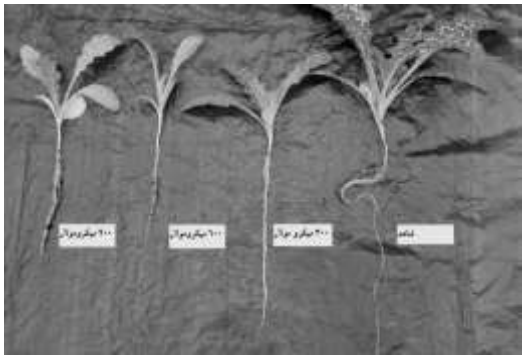
شاخص تنش تحمیل‌شده: از نظر مقدار Ti تیمارها به سه گروه دسته بندی شدند، به‌طوری‌که تیمار شاهد کمترین مقدار تنش تحمیل‌شده را نشان داد و سایر تیمارهای کادمیوم مقدار بالاتری را نشان دادند (شکل۷).

جذب و تجمع کادمیوم: مقدارجذب و تجمع این فلز در برگ و ریشه گیاه شاهد با گیاهان تحت تیمار مقایسه شد.

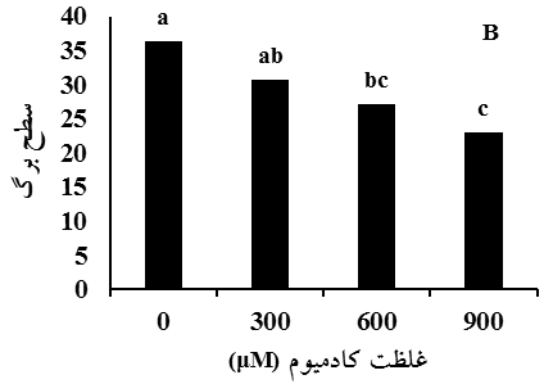
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

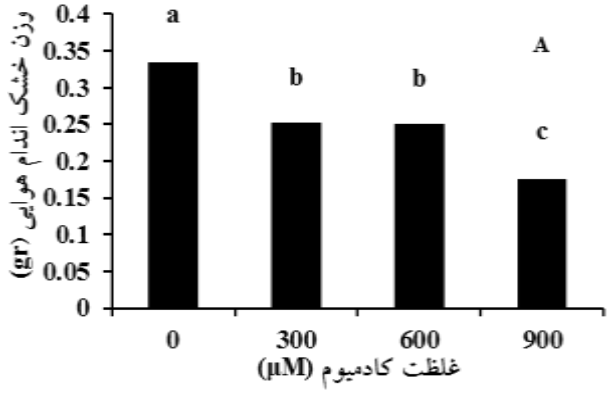
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]





شکل ۱- کاهش کل حجم ریشه (راست)، طول ریشه اصلی و رشد رویشی (چپ) در سطوح مختلف تیمار کلریدکادمیوم (به ترتیب در هر شکل از راست به چپ: شاهد، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار)





شکل ۲- اثر سطوح مختلف کادمیوم بر وزن خشک اندام هوایی(A) و سطح برگ (B)گیاه ماریتیغال. مقایسه میانگین‌ها (میانگین۵تکرار) با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است.

جدول ۱- میانگین مربعات صفات مختلف مورد بررسی در چهار سطح تیمار کلریدکادمیوم در گیاه ماریتیغال

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی	سطح برگ	رنگیزه های فتوسنتزی			جذب برگ	جذب ریشه	مالون‌دالدئید
				کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید			
کلرید کادمیوم	۳	۰/۰۲۰**	۳۱۹/۲۸۶**	۵/۳۷*	۱۱/۷۱**	۰/۳۲^{ns}	۳۷۰۲/۵۲*	۱۵۴۵/۲۸^{ns}	۲۰۸۴/۲۶۹**
خطا	۱۶	۰/۰۰۲	۴۳/۰۴	۱/۱۳	۱/۶۱	۰/۲۳	۶۵۵/۵۳	۱۳۷۹/۰۹	۲۸۳/۲۰۸
ضریب تغییرات (٪)		۱۷/۶۹	۲۲/۴۰	۳۱/۷۰	۴۲/۵۶	۴۲/۶۶	۵۶/۵۹	۵۵/۱۶	۲۵/۵۱

*،** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و غیر معنی‌دار

ادامه جدول ۱- میانگین مربعات صفات مختلف مورد بررسی در چهار سطح تیمار کلریدکادمیوم در گیاه ماریتیغال

منابع تغییرات	درجه آزادی	آنتوسیانین	فلاوونوئید کل	فنل کل	پروتئین کل	فعالیت ویژه فنیل‌آلانین آمونیالیاز	فعالیت ویژه آسکوربات پراکسیداز	فعالیت ویژه گلوتاتیون ردوکتاز
کلرید کادمیوم	۳	۲۰۴/۹۲۸**	۰/۰۰۲**	۳۲/۴۹**	۰/۰۰۰۰۹**	۱۸۰۸/۰۲۵**	۰/۸۸۵۳**	۴/۲۷۷**
خطا	۱۶	۲۴/۱۰	۰/۰۰۰۲	۰/۲۱۱	۰/۰۰۰۰۰۶	۱۶۹/۳۸۵	۰/۱۴۸۹	۰/۷۶۸
ضریب تغییرات (٪)		۱۸/۱۰	۵۰/۲۶	۱۷/۵۵	۲۶/۲۲	۴۶/۴۰	۴۸/۷۴	۴۵/۲۴

*،** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و غیر معنی‌دار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات سطوح کلریدکادمیوم برای صفات مختلف مورد بررسی در گیاه ماریتیغال

تیمار	وزن خشک اندام هوایی (gr)	سطح برگ (cm^2)	رنگیزه های فتوسنتزی (mg/grFw)			جذب برگ	جذب ریشه	مالون دآلدئید (mg/grFw)
			کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	(mg/kgDw)		
کلرید کادمیوم (µM)								
۰	۰/۳۳٤^{a}	۳٦/۳۵۹^{a}	٤/۵۳^{a}	۵/۰٦^{a}	۰/٦۹^{a}	۰/۰۰^{b}	۰/۷۸^{a}	۲۳/۸۵^{b}
۳۰۰	۰/۲۵۲^{b}	۳۰/٦۲^{ab}	۳/۷۵^{a}	۳/۱۳^{b}	۱/۰٤^{a}	۳۲/۷٤^{b}	۵۳/۵۰^{a}	۲۰/۸۷^{b}
٦۰۰	۰/۲۵۱^{b}	۲۷/۱۳^{bc}	۳/۳۵^{ab}	۲/۲۰^{b}	۱/۱۱^{a}	۳۸/۱۱^{ab}	۲۸/۱۱^{a}	۲۰/۸۷^{b}
۹۰۰	۰/۱۷٦^{c}	۲۳/۰۰^{c}	۲/۰۵^{b}	۱/۵٤^{b}	۱/۲۹^{a}	۸۵/۲۸^{a}	۱۳/۱۰^{a}	٦۲/٦۰^{a}

در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نمی‌باشد.

ادامه جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات سطوح کلریدکادمیوم برای صفات مختلف مورد بررسی در گیاه ماریتیغال

تیمار	آنتوسیانین Mmol/gr (Fw)	فلاوونوئیدکل (mgrutin/100 gFw)	فنل کل	پروتئین کل	فعالیت ویژه فنیل‌آلانین آمونیالیاز	فعالیت ویژه آسکوربات‌پراکسیداز	فعالیت ویژه گلوتاتیون ردوکتاز
			(mg/grFw)		(Unit/mg protein)		
کلرید کادمیوم (µM)							
۰	۲۰/٦۰٦^{c}	۰/۰۰۲^{b}	۰/٤۱۳^{c}	۵/۰٦^{a}	۸/۷۲^{b}	۰/۲۲٤^{b}	۰/۲۹۸^{b}
۳۰۰	۲۳/٦۳^{bc}	۰/۰۰۵^{b}	۰/۸۵۰^{c}	۳/۱۳^{b}	۱٤/۲۹^{b}	۰/۳٦۸^{b}	۰/٦٤۷^{b}
٦۰۰	۲۹/۰۹^{ab}	۰/۰۲۲^{b}	۳/۲۷^{b}	۲/۲۰^{b}	۱۸/۲۹^{b}	۰/٦٦۹^{ab}	۰/۷٤٦^{b}
۹۰۰	۳۵/۱٤^{a}	۰/۰۵۳^{a}	۵/۹٤^{a}	۱/۵٤^{b}	۵۰/۹۸^{a}	۸۵/۲۸^{a}	۲/۳۷۳^{a}

در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نمی‌باشد.

نتایج نشان داد که جذب و تجمع کادمیوم در برگ در دو تیمار شاهد و ۳۰۰ میکرومولار تفاوت معنی‌داری ندارد، ولی در دو تیمار ٦۰۰و ۹۰۰ این تجمع در برگ اختلاف معنی‌داری نشان داد. نتایج آزمایش از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین کلیه سطوح تیمار از لحاظ جذب و تجمع در ریشه حکایت دارد. وجود میزان اندک کادمیوم در ریشه گیاه شاهد ناشی از خطای آزمایش بوده است. همانطور که در (شکل۸) مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کادمیوم، مقدار جذب و تجمع کادمیوم در برگ گیاه نیز افزایش می‌یابد (جدول ۱ و ۲).

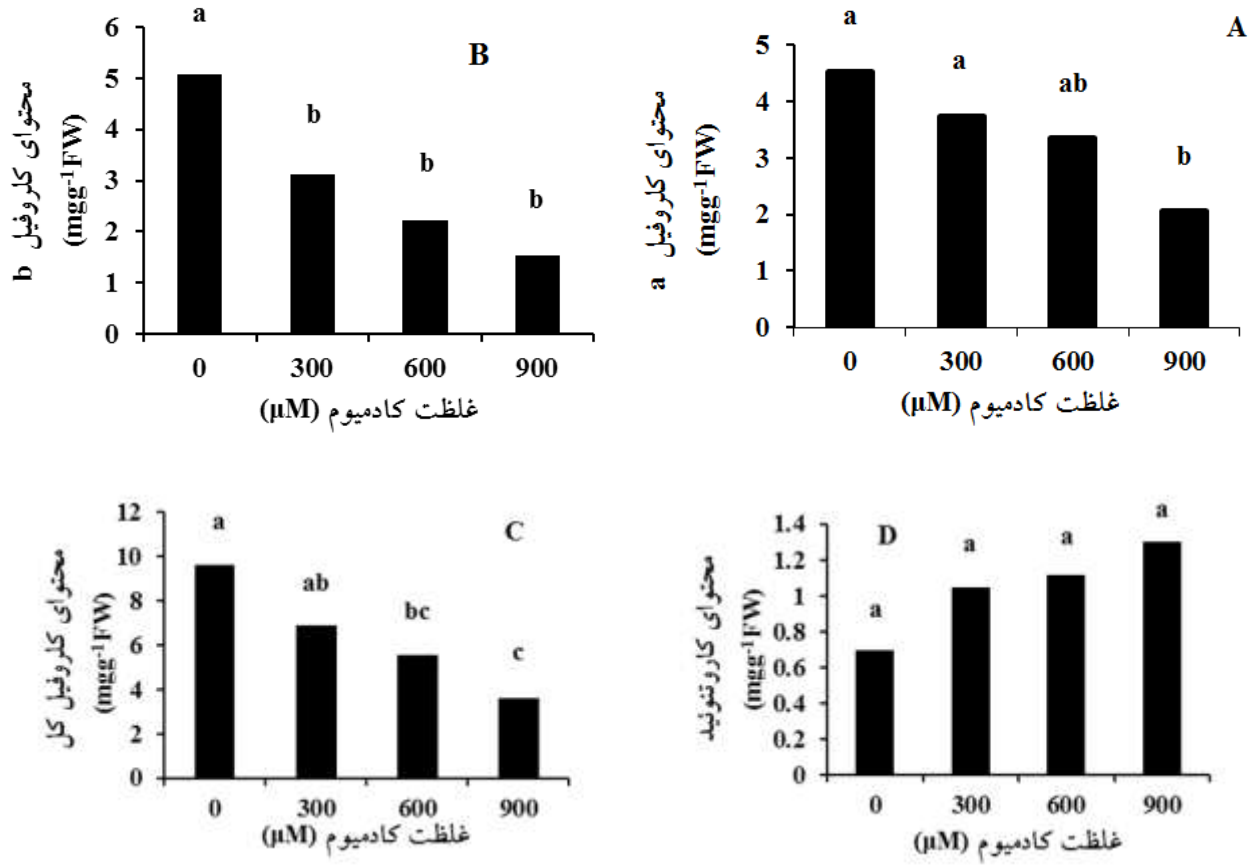
بحث

نتایج حاصل از این مطالعه، نشان‌دهنده بروز واکنش‌های متعدد در گیاه ماریتیغال بود. کلروز و کاهش رشد از مهم‌ترین آثار سمیت کادمیوم به ویژه در غلظت‌های بالا در مورد گیاه مورد مطالعه محسوب می‌شود. فلزات سنگین با کاهش شدید فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی و تقسیم سلولی، رشد گیاه را به شدت کاهش می‌دهند (Dalla *et al.*, 2005). انباشته شدن کادمیوم در بسیاری از گیاهان باعث کمبود آهن، منیزیم و کلسیم می‌شود و سنتز کلروفیل را متوقف می‌کند و سرعت رشد و فتوسنتز را به شدت کاهش می‌دهد (Mobin and Khan., 2007).

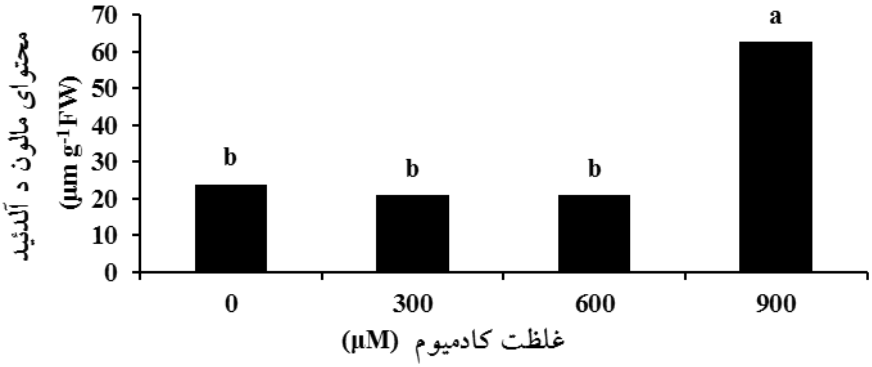
نشان داده شده که کادمیوم به غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست آسیب می‌زند و ظرفیت فتوسنتزی را به شدت کاهش داده و باعث توقف رشد و کاهش گسترش برگ نیز می‌شود (Vassilev and Yordanov., 1997). نتایج حاصل از این تحقیق نیز موید این موضوع است، زیرا در گیاهان تحت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]



شکل۳- اثر سطوح مختلف کادمیوم بر مقدار کلروفیل و کاروتنوئید برگ گیاه ماریتیغال، (A) کلروفیل a، (B) کلروفیل b ، (C) کلروفیل کل (D)کاروتنوئید. مقایسه میانگین‌ها (میانگین۵تکرار) با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است.

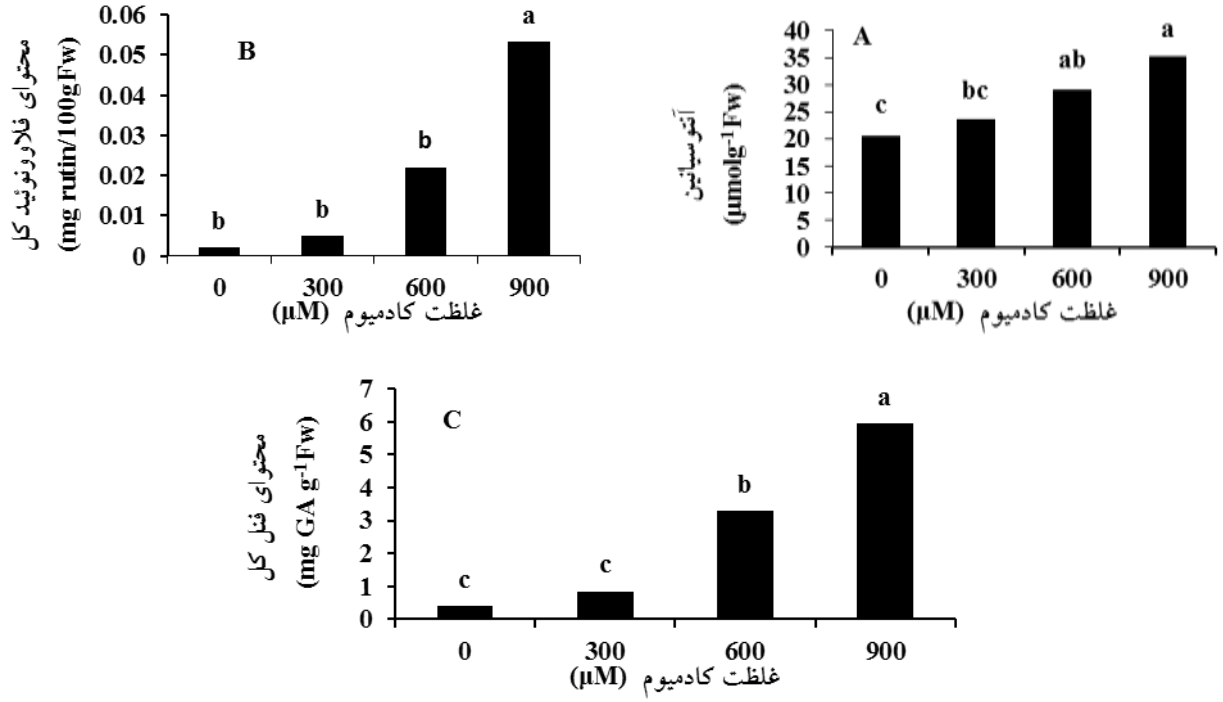


شکل ٤- اثر سطوح مختلف کادمیوم بر محتوای مالون دآلدئید برگ‌های ماریتیغال. مقایسه میانگین‌ها (میانگین۵تکرار) با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است.

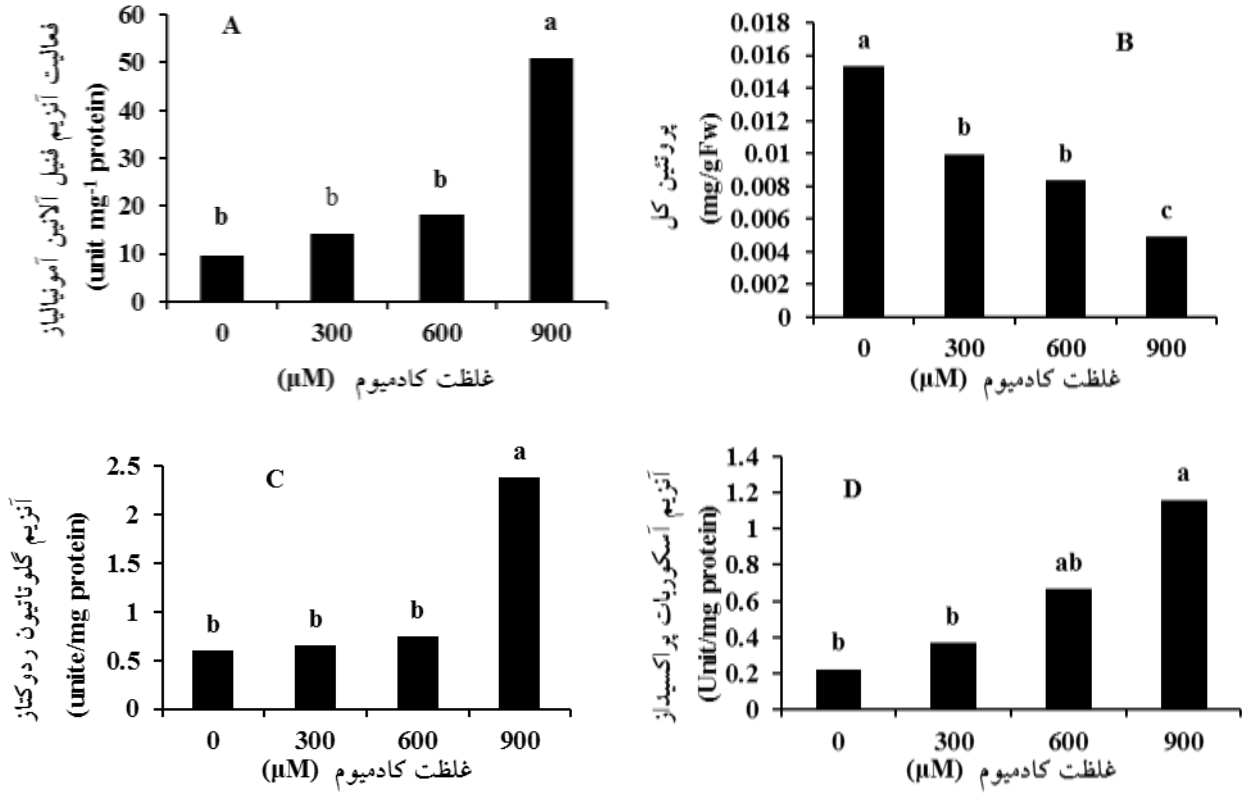
تنش سطح برگ نسبت به گیاه شاهد کاهش چشم‌گیری دارد و با نتایج گزارش سلطانی و همکاران (۱۳۸۵) در گیاه کلزا مطابقت دارد. کادمیوم تاثیرات منفی بر جذب آب دارد که نتیجه آن کاهش فشار تورگر است. این کاهش همراه با کاهش قابلیت ارتجاعی دیواره سلول باعث کوچک شدن سلول‌ها و کاهش فضای بین‌سلولی در گیاهان تحت تنش می‌شود (نورائی وکفیل‌زاده،۱۳۹۰). کاهش وزن اندام‌ها به علت اختلال در متابولیسم کلی سلول‌هاست (Jeliazkova *et al.*,2003) نتایج حاصل از مطالعه دانشمندان نشان داده است که میزان پراکسیداسیون چربی‌ها به علت افزایش مقدار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]



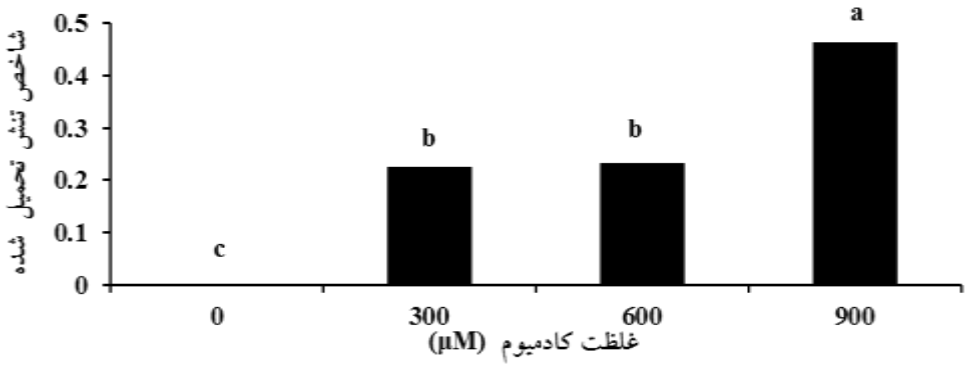
شکل۵- اثر سطوح مختلف کادمیوم بر ترکیبات آنتوسیانین، فلاوونوئید کل و محتوای فنل کل. مقایسه میانگین‌ها (میانگین۵تکرار) با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است.



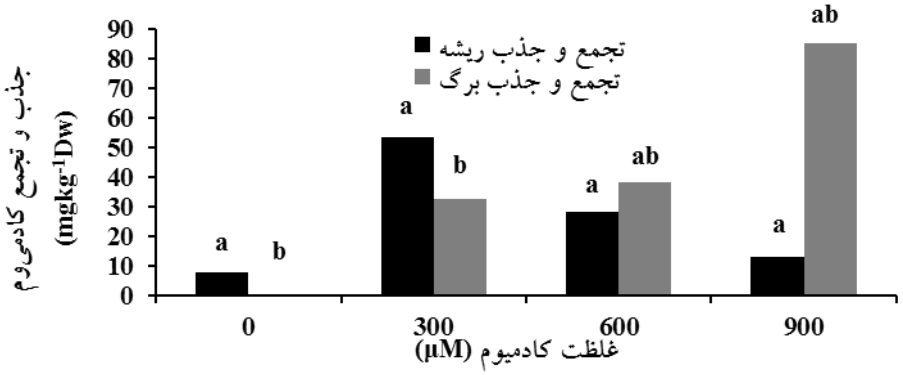
شکل ٦- اثر سطوح مختلف تیمار کادمیوم بر میزان فعالیت فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز(A)، محتوای پروتئین کل برگ(B)، میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌ردوکتاز(C) و فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (D). مقایسه میانگین‌ها (میانگین۵تکرار) با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]



شکل ۷- شاخص تنش تحمیل‌شده که در واقع شدت تنش وارد بر گیاه را نشان می‌دهد. مقایسه میانگین‌ها (میانگین۵تکرار) با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است.



شکل۸- میزان و روند جذب و تجمع کادمیوم در برگ و ریشه گیاه ماریتیغال. مقایسه میانگین‌ها (میانگین۵تکرار) با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است.

پراکسیدهیدروژن در سلول در حضور یون کادمیوم افزایش می‌یابد. این وضعیت باعث برهم خوردن تعادل آبی و تغذیه‌ای سلول شده که این یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش وزن گیاه می‌باشد (Sanita and Gabbrielli ,.1999). در این مطالعه کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه می‌تواند در اثر اختلال در فرآیند فتوسنتز و متابولیسم نیتروژن باشد و در اثر کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، تولید بیوماس و رشد در گیاه مورد مطالعه کاهش یافته است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلروفیل برگ‌ها با افزایش غلظت کادمیوم در محیط رشد کاهش یافت که در نهایت منجر به کاهش فتوسنتز و رشد شده و علایم کمبود به صورت کلروز در برگ‌ها بروز کرد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی درگیاهان تحت تیمار می‌تواند به دلیل آسیب‌های اکسیداتیو و بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل باشد (Hegedus *et al*.,2001). علاوه بر این به‌نظر می‌رسد سمیت کادمیوم و تولید انواع مختلف اکسیژن واکنش‌گر سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و محدود کردن جذب عناصر غذایی لازم برای ساخته شدن و تولید کلروفیل می‌شود و در نتیجه زردی برگ‌ها دیده می‌شود. علاوه بر این فلزات سنگین با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین‌های کمپلکس LHCII در سطح رونویسی تشکیل این کمپلکس را مختل می‌نمایند که باعث فتواکسید شدن کلروفیل تازه تشکیل شده می‌گردد (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۵). القای سنتز کاروتنوئیدها در شرایط تنش می‌تواند به دلیل نقش حفاظتی آن‌ها در تشکیلات فتوسنتز باشد زیرا این رنگیزه‌ها مسئول خاموش کردن اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و نهایتا تنش اکسیداتیو می‌باشند (Kayro, 2006). کادمیوم باعث تولید رادیکال هیدروکسیل شده و بدنبال آن پراکسیداسیون چربی که اولین علامت تنش اکسیداتیو است رخ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

می‌دهد، بنابراین با افزایش پراکسیداسیون چربی غشای سلول تخریب شده و نشت غشا اتفاق می افتد و میزان مالون‌دآلدهید بالا می‌رود. پراکسیداسیون القا شده توسط تنش نشان‌دهنده آسیب در سطح سلولی است و سطح مالون‌دآلدئید تولید شده در طی این فرایند به عنوان یک شاخص از آسیب اکسیداتیو اندازه‌گیری می‌شود (نادرنژاد، ۱۳۹۲). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد افزایش مالون‌دآلدئید در غلظت ۹۰۰ میکرومولار کادمیوم در برگ به‌طور قابل توجهی نسبت به شاهد بیشتر است که این افزایش احتمالاً با افزایش ایجاد رادیکالهای آزاد واکنش‌پذیر و پراکسیداسیون اسیدهای چرب مرتبط است و با گزارش افزایش سطوح مالون‌دآلدئید در برگ و ریشه گیاه جو مطابقت دارد (Hegedus *et al*., 2001). یکی از مکانیسم‌های مهم گیاهان در برابر تنش تجمع ترکیبات فنلی ، فلاوونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می باشد. مطالعات نشان می‌دهد ترکیبات فنلی در مهار و کاهش اتواکسیداسیون لیپیدها و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری برای دفاع علیه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) عمل می‌نمایند. نتایج بدست آمده از این تحقیق با نتایج بارنده و همکاران (۱۳۹۳) در گیاه عدس مطابقت دارد. افزایش فعالیت آنزیم PAL با تغییرات مقدار ترکیبات فنلی در شرایط تنش گیاه ماریتغال هم‌خوانی دارد. با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها در کاهش اثرات تنش به نظر می‌رسد که ماریتیغال با افزایش این پارامتر سعی در کاهش اثرات مخرب تنش کادمیوم دارد. تنش‌های غیر زیستی سنتز برخی پروئتین‌ها را مهار و تولید برخی دیگر را تحریک می‌کند، هر چند روند کلی در جهت کاهش میزان کل پروتئین‌ها می‌باشد (Ericson and Alfinito.,1984). تصور می‌شود کاهش در محتوای پروتئین محلول کل تحت تنش فلزات سنگین ممکن است به‌واسطه افزایش در فعالیت پروتئاز (Plasma *et al*., 2002)، تغییرات مختلف ساختمانی و کارکردی توسط واسرشت شدن و قطعه‌قطعه شدن پروتئین‌ها (John *et al*., 2009) و یا تعامل با باقی مانده‌های تیول پروتئین‌ها و جایگزینی آنها با عناصر سنگین در متالوپروتئین‌ها (Pal *et al*., 2006) باشد. گزارش شده است کادمیوم قادر است از طریق مهار جذب mg^{++} ، K^{+} و تحریک تغییرات پس از ترجمه (Romero *et al*., 2007) و جلوگیری از فعالیت روبیسکو به عنوان فراوان‌ترین پروتئین برگ (Muthuchelian *et al*., 2001) محتوای پروتئین کل را کاهش دهد. کاهش چشم‌گیر پروتئین کل در سطوح ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار کادمیوم در این تحقیق سبب می‌شود که نقش گونه‌های اکسیژن فعال در اکسیداسیون اسیدهای آمینه، آسیب رساندن به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها و کاهش محتوای پروتئین، نادیده گرفته نشود. نتایج مشابهی در لوبیا تحت تنش سرب و کادمیوم (Bhardwaj *et al*., 2009) و جو تحت تنش کادمیوم (Liu *et al*., 2005) گزارش شده است. پراکسیدازها گروه بزرگی از آنزیم‌های دفاعی هستند که در گیاهان در برابر تنش های زیستی و غیر زیستی تولید می‌شوند. اسکوربات‌پراکسیداز هم از این گروه نقش مهمی در تعدیل میزان ترکیبات ROS تولید شده طی تنش در سلول دارد و از آسکوربات به عنوان احیاکننده استفاده کرده و پراکسیدهیدروژن را از طریق چرخه آسکوربات–گلوتاتیون تجزیه می‌نماید. افزایش در فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های ماریتیغال قابل انتظار بود، چرا که بایستی در راستای حفظ وضعیت ردااکس سلولی و سمیت‌زدایی پراکسیدهیدروژن تولید شده توسط آنزیم‌هایی هم‌چون سوپراکسیددسموتاز وارد عمل شود. نتایج مطالعات پوراکبر و اشرفی (۱۳۹۰) نیز نشان داد که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در گیاه ذرت تحت تیمار کادمیوم افزایش پیدا می‌کند. گلوتاتیون‌ردوکتاز نیز یکی از آنزیم‌های بالقوه سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی است که حالت احیاکننده GSH را از طریق چرخه آسکوربات–گلوتاتیون حفظ کرده و یک نقش حیاتی در حفاظت از گروه سولفیدریل داشته و به عنوان سوبسترای گلوتاتیون–اس– ترانسفراز است. این آنزیم با سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل واکنش داده و باعث از بین رفتن رادیکال آزاد می‌شود که افزایش فعالیت این آنزیم نیز در این تحقیق تأیید کننده همین مطلب است و نتایج مشابه در مطالعات بارنده و همکاران (۱۳۹٤) روی گیاه عدس گزارش شده است. اندازه‌گیری شاخص تنش تحمیل‌شده، تنش وارده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

به گیاه را مطابق مطالعات شریعت و همکاران (۱۳۸۹) تائید و نتایج سنجش غلظت یون کادمیوم در بافت برگ و ریشه گیاهچه‌های ماریتیغال با استفاده از روش جذب اتمی نشان داد که غالب کادمیوم در برگ این گیاه تجمع و مقدار کمی در ریشه باقی می‌ماند این رویداد اگر چه بر خلاف تصور رایج از تجمع کادمیوم می‌باشد ولی در این گیاه برای اولین بار گزارش شده و با مطالعات انجام شده توسط کریمی و محسن‌زاده (۱۳۹۰) بر روی گیاه کاهو که از همین راسته و تیره می باشد مطابقت دارد که می‌تواند ماریتیغال را به عنوان گزینه مناسبی جهت مطالعات گیاه‌پالایی معرفی نماید.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی از نتایج به دست آمده چنین استنباط می‌شود که گیاه داروئی ماریتیغال دارای مکانیسم‌های متفاوت فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جهت کاهش خسارت ناشی از تنش فلز سنگین کادمیوم است وکاهش فاکتورهایی مانند میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و سطح برگ ه نشانه‌ای از آثار سمیت کادمیوم و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که آسیب‌هایی به دنبال دارد. این گیاه با تجمع کادمیوم در برگ می‌تواند کاندید مناسبی جهت مطالعات گیاه‌پالایی باشد.

منابع

امینی، ز. و حداد، ر. (۱۳۹۲) نقش رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقابل تنش اکسیداتیو. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی‌ایران). ۲۶: ۲۶۵-۲۵۱.

بارنده، ف.، کاوسی، ح. و پورسیدی، ش. (۱۳۹۳) فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز و میزان پرولین گیاهچه‌های عدس تحت تنش کلریدکادمیوم. اولین همایش الکترونیکی یافته‌های نوین در محیط زیست و اکوسیستم‌های کشاورزی. دانشگاه تهران. تهران. ایران.

پوراکبر، ل. و اشرفی، ر. (۱۳۹۰) اثر کادمیوم بر میزان تولید هیدروژن‌پراکسید و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه ذرت. نشریه علوم دانشگاه تربیت‌معلم. ۹: ٤٨٤- ٤٧٣.

شریعت، ا.، عصاره، م.، و قمری‌زارع، ع. (۱۳۸۹) اثر کادمیوم بر برخی پارامترهای فیزیولوژی در*Eucalyptus occidentalis* . مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک. ۵۳: ۱۵۳-۱٤٥.

سلطانی، ف.، قربانلی، م.، و منوچهری کلانتری، خ. (۱۳۸۵) اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندها و مالون‌دآلدئید در گیاه کلزا (*Brassica napus*) . مجله زیست‌شناسی ایران. (۲)۱۹:۱٤٥-۱۳٦.

صرامی، م.، زینلی، ح.، و بخشی خانیکی، غ. (۱۳۹۱) بررسی تنوع و روابط بین پارامترهای سیتوژنتیکی در گیاه ماریتیغال. ژنتیک نوین. (۱)۷: ۲٤-۱۷.

عسکری لجایر، ح.، نجفی، ن.، مقیسه، ا. (۱۳۹۳) اثر آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین بر تولید گیاهان دارویی. نشریه مدیریت اراضی. (۲)۲: ۱۲۲-۱۱۱.

کریمی، ا. (۱۳۹۰) تاثیر سمیت کادمیوم بر گیاه کاهو (*Lactuca sativa*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت‌مدرس. تهران. ایران.

میرزاده اهری، ا.، خسروشاهلی، م.، مطلبی آذر، ع.، و موافقی، ع. (۱۳۹۲) بررسی تنوع کاریولوژیکی چند اکوتیپ گیاه دارویی ماریتیغال در ایران. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی–مولکولی، (۱۳)۱٤: ٦٤-۵۷.

نادرنژاد، ن. (۱۳۹۲) بررسی میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز و تولید ترکیبات فنلی در گیاه پسته و اثر اکتومیکوریز در کاهش UV-B. رساله دکتری. دانشگاه شهیدباهنر، کرمان، ایران.

نبئی، م.، روشندل، پ.، و محمدخانی، ع. (۱۳۹۳) بررسی اثر تیمارهای مختلف شیمیایی و غیرشیمیایی بر شکست خواب بذر خارمریم (*Silybum marianum* L. Gaertner). نشریه زراعت. ٥٤-٤٩.

نورانی‌آزاد، ح.، و کفیل‌زاده، ف. (۱۳۹۰) تاثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌ها در گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.). مجله زیست‌شناسی ایران. (۱۰)۲٤: ۸٦۷ -۸۵۸ .

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

Bhardwaj, P., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2009) Cadmium toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology 17:21-34.

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- 254.

Dalla vecchia, F., La Rocca, N. and Moro, I. (2005) Morphogenetic, ultrastructural and physiological damages suffered by submerged leaves of Elodea Canadensis exposed to cadmium. Plant Science 168(2):329-338

Ericson, M. C. and Alfinito, A. E. (1984) Proteins produced during salt stress in tobacco cell cultures. Plant Physiology 74: 506-509

Ewaise, E.A. (1997) Effects of Cadmium, Nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weed. Biologica Plantarum 39(3): 403-410.

Foyer, C. H. and Halliwell, B. (1976) The presence of glutathione and glutathionereductase in chloroplast: a proposed role in ascorbic acid metabolism. Planta 133: 21-25.

Fusconi, A., Gallo, C. and Camusso W. (2007) Effect of cadmium on root apical meristems of (*Pisum sativum* L.): cell viability, cell proliferation and microtubule pattern as suitable makers for assessment of stress pollution. Mutat Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen 632: 9–19.

Gupa, V. (2003) Seed germination and dormancy breaking techniques for indigenous edicinal and aromatic plants. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science 25: 402- 407.

Hahlbrock, K. and Ragg, H. (1975) Light-induced changes of enzyme activities in parsley cell suspension cultures. Archive Biochemistry Biophysics 166: 41–46.

Hart, J., Welch, R. M., Wendell, A., Norvell, W. A., Sullivan, L. A., and Kochian, V. (1998) characterization of Zinc binding, uptake and translocation in intact seedling of Bread and Durum wheat cultivars. Plant Physiology 118: 219–226.

Heath, R. L., and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry 125:189-198.

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

Jeliazkova, E. A., Craker, L. E. and Xing, B. (2003) Seed germination of anise, caraway, and fennel in heavy metal contaminated solutions. Journal Herbs, Spices and Medicinal Plants 10(3): 83-93.

John, P., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S. (2009) Heavy metal toxicity: Effect oplant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. International Journal of Plant Production 3: 65-76.

Kayro, H. W. (2006) Effect of salinity on growth, Photosynthesis, water relatinns and solute composition of potential cash crop halophyte Plantago coronopus. Environmental and Experimental Botany 56: 136- 149.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Fallah, M., Grignon, c., and Abdelly, C. (2007) Salinity effects on polyphenol cotent and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. Plant Physiology and Biochemistry 45: 244-248.

Laiye, Q. U., Quoresh, A. M., Iwase, K., Tamai, Y., Funada, R., and Koike, T. (2003) In vitro ectomycorrhizal formation on two larch species of seedling with six different fungal species. Eurasian Journal of Forest Research 6(1): 65-73.

Lichenthaler, H. K. (1987) chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthesic biomembranes. Methods in Enzymol 148: 350-382.

Liu, W. L., Zhou, L., Sun, T. H. and Yang, Y. S. (2005) DNA changes in barley (*Hordeumvulgare)* seedlings induced by cadmium pollution using RAPD. Chemosphere 61: 158-167.

Mobin, M. and Khan, N.A. (2007) Photosynthetic activity pigment composition and antioxidative response of two mustard cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. Plant Physiology 164:601-610.

Muthuchelian, K., Bertamini, M., and Nedunchezhian, N. (2001) Triacontanol can protect *Erythrina variegate* from cadmium toxicity. Plant Physiology 158: 1487-1490.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22: 867–880.

Pal, M., Horvath, E., Janda, T., Paldi, E., and Szalai, G. (2006) Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. Plant Nutrition Soil Science 169: 239-246.

Palsma, J. M., Sandalio, L. M., Javier corpas, F., Romero-Puertas, M. C., Mccarthy, I., and Del Rio, L. A. (2002) Plant proteases protein degaradation and oxidative stress: role of peroxisomes. Plant Physiology and Biochemistry 40:512-530.

Ram, G., Bhan, M.K., Gupta, K.K., Brijesh Thaker, U., and Jamwal, S. P. (2005) Variability pattern and correlation studies in *Silybum marianum* Gaertn. Fitoterapia 76: 143-147.

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]

Rastgoo, L. and Alemzadeh, A. (2011) Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis)* to heavy metals stress. Australian Journal of Crop Science 5(4): 375-383.

Romero- Puertas, M. C., Corpas, F. J., Rodriguez-Serrano, M., Gomez, M., Del Rio, L. A., and Sandalio, L. M. (2007) Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. Plant Physiology 164: 1364-1357.

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

Singh, B. and Myhr, K. (1998) Cadmium uptake by barley as affected by Cd sources PH levels. Geoderma 84: 185–194.

Sonald, S. F. and Laima S. K. (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. Plant Agriculture 1:1-5

Tziveleka, L., Kaldis, A., Hegedus, A., Kissimon, J., Prombonal, A., Horvath, G., and Arjyroidi, J. (1999) The effect of Cd on chlorophyll and light – Harvesting complex II biosynthesis in greening plants. Natur forsch 54: 740–745.

Vassilev, A. and Yordanov, I. (1997) Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium treated plants. Review Plant Physiology 23: 114-133.

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole / extra vacuole distribution of neutral sugars free amino acids and anthocyanins in protoplast. Plant Physiology 64: 88-93.

Zhishen, J., Mengchegen, K., and Jianming, W. (1999) The determination of Flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food chemistry 64: 555-559.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.1.0]