University of Birjand

Journal homepage:
https://escs.birjand.ac.ir

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences

Vol. 17, No. 3, pp. 639-652 (Fall 2024)

https://doi.org/10.22077/ESCS.2024.6324.2206

Original article

The effect of different concentrations of cadmium on some biochemical, physiologic and functional characteristics of European borage (*Borago officinalis* L.)

A. Najarzadeh[1], H. Farahbakhsh[2*], M. Naseralavi[3], R. Moradi[4], M. Naghizadeh[5]

1. *Ph.D.student, Department of Agronomy and plant Breeding, Agricultural Faculty, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran*
2. *Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Faculty, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran*
3. *Assistance Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Faculty, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran*
4. *Associate Professor, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran*
5. *Assistance Professor, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran*

Received 19 April 2023; Accepted 10 June 2023

Extended abstract

Introduction

Soil contamination with heavy metals is one of the most important challenges related to the protection of water and soil resources. Heavy metals are metals that have a density of more than 5 grams per cubic centimeter. Among heavy metals, cadmium is of special importance due to its high solubility in water and quick and easy absorption by the plant root system. This element has been introduced as the fourth dangerous element for vascular plants (Kok et al., 2010). By accumulating in the root environment, cadmium can cause a decrease in growth, respiration, damage to the mechanisms involved in photosynthesis, and inhibit the activity of enzymes and the lack of nitrogen and phosphorus in the plant. Borage (*Borago officinalis* L.) is a valuable annual medicinal herb suitable for cultivation in many countries, including Iran. Borage (*Borago officinalis* L.) is considered as a native of both Europe and Asia. Several species around the globe fall under the denomination of "borage". The presence of the highest γ-linolenic acid content in the seeds of borage makes borage distinctively important mainly for the nutraceutical and pharmaceutical research. γ-Linolenic acid is an omega-6 polyunsaturated fatty acid which cannot be synthesized in the body and hence falls into the category of essential fatty acids (Evesh et al., 2019). The present study was carried out with the aim of investigating the physiologic and biochemical responses of the medicinal plant Borage (*Borago officinalis* L.) to cadmium stress.

Materials and methods

This experiment was conducted in the form of a completely random design in the greenhouse of Shahid Bahnar University, Bardsir College of Agriculture, Shahid Bahnar University, Kerman, at an average temperature of 25 degrees Celsius during the day and 20 degrees Celsius during the night, with a relative humidity of 60%. First, concentrations of cadmium (0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 120, 160 mg kg^{-1}) were prepared using cadmium chloride (Merck company) and the soil was uniformly contaminated with cadmium. The contaminated soil was incubated under constant humidity and temperature conditions

* Corresponding author: Hasan Farahbakhsh; E-Mail: hfarahbakhsh@uk.ac.ir

© 2024, The Author(s). Published by University of Birjand. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0).

for 30 days and then poured into pots with a capacity of 3 kg of soil. Plant seeds were disinfected with alcohol and 5% sodium hypochlorite solution and immediately washed several times with distilled water. Five seeds were planted in the pots containing the studied treatments and at a depth of 2 to 3 cm. Two months after planting, when the plant was in the 50% flowering stage, the growth and performance characteristics of the plant including the number of flowers, number of leaves, branch length, root length, shoot weight, root weight, flower weight were measured. Some biochemical characteristics (catalase, ascorbate peroxidase, guaiacyl peroxidase, protein, proline and photosynthetic pigments) were measured.

Results and discussion

The studied treatments significantly ($p \leq 0.01$) affected the biochemical, physiologic and performance characteristics of European borage. Increasing the concentration of cadmium had an inhibitory effect on the growth parameters of the plant, and this effect was clearly evident in pollution above 80 mg kg^{-1}. Number of flowers, number of leaves, flower weight, root weight, total weight, root length and branch length decreased significantly with increasing cadmium concentration. The flowering of the plant was 71% at the pollution level of 120 mg per kilogram. At this level of pollution, the root weight was reduced by 69.9%. The weight of aerial parts decreased by 59.7% at the pollution level of 160 mg kg^{-1}. The activity of ascorbate peroxidase enzyme increased up to 20 mg kg^{-1} treatment and after that the activity of ascorbate peroxidase enzyme decreased with the increase of cadmium concentration. Proline concentration increased with increasing cadmium contamination. Photosynthetic pigments also decreased in high concentrations of cadmium. The cause of the adverse effects of cadmium on plants in contaminated soils can be attributed to more absorption of cadmium by the plant and growth disturbance caused by cadmium toxicity in the plant, reduction of growth rate, reduction of water absorption and absorption of other ions affecting the activities plant growth (Veselov et al., 2003), the reduction of cytokinin hormone activity, which has a significant effect on cell proliferation and growth, or the negative effect of cadmium on energy production in mitochondria was attributed (Fotohi et al., 2011). Cadmium causes disturbances in the overall metabolism of cells. (Xie et al., 2021) Cadmium toxicity in plants can lead to negative effects on the photosynthesis process. This action takes place through damage to some photosynthetic enzymes, especially those involved in the Kelvin cycle and chlorophyll biosynthesis (Mishra et al., 2006).

Conclusion

The results showed that the yield of European borage was not affected by cadmium up to a concentration of 1.25 mg kg^{-1}. The activity of antioxidant enzymes increased up to the treatment of 20 mg kg^{-1} and then decreased with increasing cadmium concentration, which indicates oxidative stress. Photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence index decreased with increasing cadmium concentration. Considering the tolerance and resistance of some medicinal plants to the conditions in soils contaminated with heavy metals, it is possible to use the cultivation of some medicinal plants as a solution for the management and exploitation of lands that have medium contamination with heavy metals. Considering the number of flowers, flower durability and high yield, the European borage plant can be a suitable candidate for cultivation in polluted areas, of course, additional studies with the approach of reducing the adverse effects of stress and reducing the concentration of cadmium element in the soil are needed.

Keywords: Cadmium toxicity, Heavy metals, Medicinal plants, Oxidative stress

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد هفدهم، شماره سوم، پائیز ۱۴۰۳

https://doi.org/10.22077/ESCS.2024.6324.2206

مقاله پژوهشی

تأثیر سطوح مختلف کادمیم بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و عملکرد گیاه گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.)

اسماء نجارزاده[۱]، حسن فرحبخش[۲*]، سیدمهدی ناصرعلوی[۳]، روح‌اله مرادی[۴]، مهدی نقی‌زاده[۵]

۱. دانشجوی دکترا، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۳. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۴. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۵. استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
تنش اکسیداتیو
سمیت کادمیم
فلزات سنگین
گیاهان دارویی

تاریخ دریافت:
۱۴۰۲/۰۲/۰۹

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۲/۰۳/۲۰

تاریخ انتشار:
پائیز ۱۴۰۳

۱۷(۳): ۶۳۹-۶۵۲

چکیده

تنش کادمیم به‌عنوان یکی از مضرترین تنش‌های غیرزیستی با تأثیر شدید بر خصوصیات رشدی و فیزیولوژیک گیاهان منجر به کاهش عملکرد آن‌ها می‌شود. این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کادمیم (۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۶۰، ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و رشدی گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. تیمارهای موردبررسی به‌طور معنی‌داری ($p\leq0.01$) صفات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و عملکرد گاوزبان اروپایی را تحت تأثیر قرار دادند. افزایش غلظت کادمیم اثر بازدارنده‌ای بر پارامترهای رشدی گیاه داشت، این تأثیر در آلودگی بالای ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاملاً مشهود بود. تعداد گل، تعداد برگ، وزن گل، وزن ریشه، وزن اندام هوایی، طول ریشه و ارتفاع اندام هوایی به‌طور معنی‌داری با افزایش غلظت کادمیم کاهش یافتند. در سطح آلودگی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، گلدهی و وزن ریشه گیاه به ترتیب ۷۱ و ۶۹/۹ درصد کاهش داشت. وزن اندام هوایی در سطح آلودگی ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۵۹/۷ درصد کاهش یافت. فعالیت آنزیم آسکوربات-پراکسیداز تا تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت و بعدازآن با افزایش غلظت کادمیم فعالیت این آنزیم کاهش یافت. غلظت پرولین با افزایش آلودگی کادمیم افزایش یافت. رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز در غلظت‌های بالای کادمیم کاهش یافتند. با توجه به اینکه عملکرد گاوزبان اروپایی تا غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تحت تأثیر کادمیم قرار نگرفت، این گیاه امکان رشد به‌عنوان گیاه زینتی در مناطقی با آلودگی کمتر از ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم را دارد.

مقدمه

آلودگی خاک با فلزات سنگین یکی از چالش‌های مهم در ارتباط با حفاظت منابع آب و خاک است. فلزات سنگین فلزاتی هستند که دارای چگالی بیش از ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب می‌باشند. از فلزات سنگین می‌توان کادمیم، کروم، مس، جیوه، آرسنیک، سرب و روی را نام برد. سمیت عناصر سنگین به دلایل اکولوژیکی، تکاملی، تغذیه‌ای و محیطی مشکل بزرگی به شمار می‌رود (Xie et al., 2021). تجزیه-ناپذیر بودن فلزات سنگین به‌عنوان آلاینده‌های غیر آلی آن‌ها را به یکی از خطرناک‌ترین گروه آلاینده‌های زیست‌محیطی مبدل ساخته است (Xiaoli et al., 2021). در بین فلزات سنگین، کادمیم به دلیل حلالیت بالا در آب و جذب سریع و راحت توسط سیستم ریشه گیاه دارای اهمیت ویژه‌ای است.

* نگارنده پاسخگو: حسن فرحبخش. پست الکترونیک: hfarahbakhsh@uk.ac.ir

این عنصر به‌عنوان چهارمین عنصر خطرناک برای گیاهان آوندی معرفی شده است (Kok et al., 2010). کادمیم با تجمع در محیط ریشه می‌تواند از طریق اختلال در روابط آبی گیاه (جذب آب، کاهش انتقال آب و بر هم خوردن تعادل آب) و اختلال جذب عناصر معدنی، سبب کاهش رشد، تنفس، آسیب به مکانیسم‌های دخیل در فتوسنتز و مهار فعالیت آنزیم‌ها در گیاه شود. کادمیم به‌واسطه رقابت با عناصر غذایی ضروری و قرار گرفتن به‌جای آن‌ها می‌تواند به‌طور غیرمستقیم سبب مسمومیت گیاه شود (Zhang et al., 2009). اثرات سوء کادمیم شامل جلوگیری از رشد ریشه و اندام هوایی گیاه، کاهش شدید عملکرد محصول، تأثیر بر جذب عناصر غذایی و تعادل زیستی است (Versha et al., 2022)، غلظت بالای کادمیم در خاک منجر به کاهش فرایند متابولیکی و فتوسنتز شده و نهایتاً کاهش رشد و عملکرد را به دنبال دارد (Li et al., 2018). کادمیم جذب‌شده در ریشه از راه آوند چوبی و از مسیر آپوپلاست به اندام‌های هوایی منتقل می‌شود، کادمیم همچنین قابلیت حرکت در آوندهای آبکش را دارد (Tingting et al., 2022). کادمیم سبب ایجاد بسیاری از تغییرپذیری‌های ریخت شناختی (مورفولوژیکی)، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و ساختاری در گیاهان می‌شود که می‌توان به کاهش رشد به‌ویژه رشد ریشه، اختلال در جذب آب و در نتیجه تأثیر شدید بر وزن تر و خشک گیاهچه‌ها اشاره کرد (Mishra et al., 2006) وجود کادمیم سریعاً توسط گیاه حس می‌شود و جذب آن از طریق ناقلین آهن و روی رخ می‌دهد که دارای میل ترکیبی پایینی با کادمیم هستند (Khan, 2007).

وجود فلز کادمیم در خاک فرایندهای فتوسنتزی گیاه باقلا را تحت تأثیر قرار داده و باعث افزایش MDA در بافت‌های گیاه شد (Loi et al., 2012). اسیدآمینه‌های اساسی آلانین، گاما آمینوبوتیریک اسید و پرولین در مقاومت گیاه به فلز کادمیم نقش اساسی دارند (Loi et al., 2012). یکی از اثرات سمی کادمیم، تنش اکسیداتیو است. این تنش از طریق افزایش سطوح ROS حاصل می‌شود (Xie et al., 2021)، روند تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌واسطه تنش فلزات سنگین بر روی گیاهان مختلف بسیار متنوع است (Shi et al., 2010). درواقع تولید ROS تحت شرایط فلز سنگین بستگی به شدت تنش، مدت تنش، جنس، گونه، ژنوتیپ گیاهی و همچنین مرحله نموی گیاه دارد (Tiryakioglu et al., 2006). افزایش غلظت کادمیم باعث کاهش ذخیره کلروفیل در گیاهان همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) تاج‌خروس (*Amaranthus retroflexus* L.) و آفتابگردان زینتی (*Helianthus annuus* L.) شد (Marjani et al., 2020)، از دلایل کاهش شاخص کلروفیل با افزایش سطوح کادمیم خاک، برهمکنش منفی بین کادمیم و عناصری مثل آهن است (Nagajyoti et al., 2010).

کادمیم باعث کاهش تثبیت کربن و به‌تبع آن کاهش زیست‌توده تولیدی توسط گیاه تاج‌خروس شد. ناهنجاری‌های مورفولوژیکی، متابولیکی و فیزیولوژیک در گیاهان اعم از کلروز شاخساره تا پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین، پاسخ گیاهان برای مقابله با سمیت فلزات سنگین است (Versha et al., 2022).

در کل راهکار سازگاری در گیاهان با هدف اجتناب از تجمع بیش‌ازحد فلزات سنگین در سیتوسل و جلوگیری از شروع سمیت دنبال می‌شود. به نظر می‌رسد که احتمالاً سازوکارهای ویژه‌ای برای هر فلز و گونه خاص به کار گرفته می‌شود که شامل سازوکارهای کاهش جذب به داخل سیتوسول توسط محصور کردن در فضای آپوپلاستی، کلاته کردن فلزات در سیتوسول توسط دامنه‌ای از لیگاندها یا انتشار از خارج سیتوسول به داخل آپوپلاست واکوئل هستند. همچنین ممکن است بیش از یک سازوکار در کاهش سمیت فلزات خاص درگیر باشد (Fotohi et al., 2011). گیاهان در سطح سلولی دارای مکانیسم‌های بالقوه گوناگونی می‌باشند که به‌احتمال‌زیاد در سمیت‌زدایی و در نتیجه در ایجاد تحمل در برابر تنش فلزات سنگین مشارکت دارند، مانند کلات‌کردن (کلات‌کننده‌ها از طریق متعادل کردن غلظت فلز در سیتوسول به کاهش سمیت‌زدایی کمک می‌کنند)، مجزاسازی درون‌سلولی (همچنان که یون‌های فلز مازاد در درون سلول گیاه تجمع می‌یابد باید از سیتوسول خارج شود، این امر معمولاً از طریق جریان به بیرون انجام می‌شود)، بیش‌تجمع کننده‌ها (گیاهانی که قابلیت رشد در خاک‌های غنی از فلزات سنگین نظیر روی، مس، نیکل و کادمیم را دارند). (Schutzendubel and Polla, 2002).

گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) گیاهی علفی، یک‌ساله متعلق به تیره گاوزبان است. منشأ آن آسیای صغیر، جنوب اروپا و آفریقا گزارش شده است. ساقه این گیاه مستقیم، توخالی و پوشیده از کرک‌های بسیار زبر است. ارتفاع گیاه بین ۸۰ تا ۱۶۰ سانتی‌متر متغیر است. برگ‌ها نیز همانند ساقه، پوشیده از کرک‌های کم‌وبیش زبر هستند. برگ‌های

پایینی نسبت به برگ‌های بالایی از دمبرگ بلندتری برخوردارند. در طب سنتی بعضی کشورها از برگ‌ها و گل‌های خشک این گیاه برای معالجه یرقان، سرفه، تب، بعضی بیماری‌های پوستی و همچنین معالجه بیماری‌های مربوط به سنگ کلیه استفاده می‌کنند (Omidbeigi et al., 2000).

گاوزبان اروپایی دارای مواد آنتی‌اکسیدانی، کاهش‌دهنده کلسترول خون و تنظیم‌کننده گردش خون است. از روغن دانه این گیاه برای درمان اگزما و تصلب شرائین استفاده می‌شود. از مواد مؤثره آن (اسید گاما لینولئیک) نیز در صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. دانه‌های گیاه حاوی ۲۲-۳۳ درصد اسید گاما لینولئیک، ۴۰-۳۰ درصد اسید لینولئیک و ۱۵-۸ درصد اسید پالمتیک هستند. پیکر رویشی محتوی موسیلاژ، ساپونین تانن و عناصر معدنی است (Fernandes et al., 2019).

در سال‌های اخیر گسترش کارخانه‌های مختلف از جمله کارخانه‌های فولاد در منطقه موردمطالعه بسیار زیاد بوده است و منطقه با شدت زیادی به سمت صنعتی شدن پیش می‌رود، بنابراین، با توجه به افزایش آلودگی خاک در اثر گسترش فعالیت‌های صنعتی نیاز است تا گیاهان زراعی، دارویی و زینتی که مقاومت مناسبی نسبت به آلودگی عناصر سمی دارند شناسایی و به الگوی کشت منطقه معرفی گردند. گاو-زبان اروپایی با توجه به زیبایی گیاه، دوام گل و تولید بیومس بالا گزینه مناسبی برای بررسی میزان مقاومت به آلودگی است. تاکنون هیچ مطالعه‌ای اثر سمیت عنصر کادمیم را بر گیاه گاوزبان اروپایی بررسی نکرده است، هدف این پژوهش، مطالعه تأثیر سطوح مختلف غلظت کادمیم بر خصوصیات رشدی، مورفولوژیکی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه، تعیین سطح بحرانی کادمیم و امکان‌سنجی کشت این گیاه در مناطق آلوده به کادمیم است.

مواد و روش‌ها

آزمایش گلخانه‌ای

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان با میانگین دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روز و ۲۰ درجه سانتی‌گراد شب و با رطوبت نسبی ۶۰٪ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح مختلف عنصر کادمیم (۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۶۰، ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک) بود. ابتدا غلظت‌های موردنظر از کادمیم با استفاده از کلرید کادمیم (شرکت مرک) تهیه و خاک با غلظت‌های مذکور به‌طور یکنواخت با کادمیم آلوده شد. خاک آلوده‌شده به مدت ۳۰ روز تحت شرایط رطوبتی و دمایی ثابت انکوبه شد و سپس در گلدان‌هایی با ظرفیت ۳ کیلوگرم خاک ریخته شد. بذرهای (تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر با ۹۹ درصد جوانه‌زنی) گیاه گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) به‌وسیله الکل و محلول هیپوکلرید سدیم ۵ درصد ضدعفونی شده و بلافاصله چند مرتبه با آب مقطر شستشو شدند. پنج بذر در گلدان‌های سه کیلوگرمی که حاوی تیمارهای موردمطالعه بودند در عمق ۲ تا ۳ سانتی‌متری کشت شدند. دو ماه بعد از کاشت زمانی که گیاهان در مرحله ۵۰ درصد گلدهی بودند صفات رشدی و عملکردی گیاه شامل تعداد گل، تعداد برگ، ارتفاع اندام هوایی (از طوقه تا بالاترین ارتفاع بوته)، طول ریشه (اندام زیرزمینی)، وزن اندام هوایی، وزن ریشه و همچنین ارزیابی-های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی شامل سنجش فعالیت آنزیم-های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، گایاکل‌پراکسیداز و پروتئین، پرولین، رنگیزه‌های کلروفیل a و کلروفیل b و میزان فلورسانس کلروفیل گیاه صورت گرفت. آبیاری با روش وزنی و تا رساندن رطوبت گلدان‌ها به نقطه ظرفیت زراعی (FC) صورت گرفت، همچنین به‌منظور جلوگیری از شسته شدن فلزات سنگین و کاهش غلظت آن‌ها در محیط رشد ریشه در زیر هر گلدان یک عدد زیرگلدانی قرار گرفت تا در صورت خروج زه‌آب، محتوی زیرگلدانی به هر گلدان اضافه شود. لازم به ذکر است که مقدار پروتئین کل از روش برادفورد (Bradford, 1976) در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر، مقدار پرولین از روش بیتس (Bates et al., 1973) در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. فعالیت آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی برحسب پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به دست آمد. یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که ۱ میلی مول H_2O_2 را در یک دقیقه تجزیه می‌کند (Bradford, 1976).

سنجش فعالیت آنزیم گایاکل‌پراکسیداز با استفاده از گایاکل و اندازه‌گیری تغییرات جذب اکسیداسیون گایاکل در سه دقیقه با طول‌موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل موجود در ۲۰ میکرولیتر عصاره گزارش شد (Bradford, 1976). ارزیابی فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد.

یک واحد آنزیمی آسکوربات‌پراکسیداز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مول آسکوربات را در یک دقیقه اکسید می‌کند، فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۵۰ میکرولیتر عصاره گزارش شد.

برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیچنتایر (Lichtenthaler, 1987) استفاده شد. ۰/۱ گرم از برگ-های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و پس از صاف کردن، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

$$Chl.a=(12.25A_{663.2}–2.79A_{646.8}) \quad [۱]$$

$$Chl.b=(21.21A_{646.8}–5.1A_{663.2}) \quad [۲]$$

$$Chl.T = Chl.a + Chl.b \quad [۳]$$

در این فرمول Chl.a، Chl.b، Chl.T به‌ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل می‌باشند که برحسب mg ml^{-1} عصاره گیاهی تعیین گردید (Lichtenthaler, 1987). مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

میزان فلورسانس کلروفیل

پارامترهای فلورسانس کلروفیل (Fv/Fm) توسط دستگاه فلورسانس‌متر (PAM-2500, Hansatech) یک روز قبل از برداشت در مرحله گلدهی اندازه‌گیری شد. قبل از اندازه‌گیری سه برگ جوان و کاملاً توسعه‌یافته از هر گلدان به‌صورت تصادفی انتخاب شدند و با استفاده از گیره‌های مخصوص در شرایط تاریکی قرار داده شدند، پس از حدود بیست دقیقه پارامترهای فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری و ثبت شد.

نتایج حاصل به‌وسیله نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها برحسب آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. گیاه گاوزبان اروپایی در سطح آلودگی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قادر به رشد و جوانه‌زنی نبود.

تعداد گل

تیمارهای موردمطالعه تأثیر معنی‌دار ($p\leq0.01$) بر تعداد گل در گیاه گاوزبان اروپایی داشتند (جدول ۲). تعداد گل در تیمارهای ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی-داری با تیمار بدون آلودگی (۲۸ گل) نداشت. تیمار آلودگی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با ۲۳ گل منجر به کاهش ۱۷/۸ درصدی تعداد گل نسبت به تیمار بدون آلودگی شد. تعداد گل (۲۰ گل) در تیمار آلودگی ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۲۸/۵ درصد کاهش داشت. سطح آلودگی ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعداد گل (۱۸ گل) را ۳۵/۷ درصد کاهش داد. تیمار آلودگی ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با ۱۴ گل سبب کاهش ۵۰ درصدی گلدهی نسبت به تیمار بدون آلودگی شد. در سطح آلودگی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گلدهی ۷۱ درصد کاهش داشت. گیاه گاوزبان اروپایی در تیمار آلودگی ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وارد فاز گلدهی نشد (جدول ۳).

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی شیمیایی خاک

Table 1. Physicochemical characteristics of soil

بافت Texture	نیتروژن N	فسفر P	پتاسیم K	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC
	%	----- mg.kg^{-1} -----			µs m^{-1}
Sandy Loam	0.1	12.8	120	6.8	945

تعداد برگ

اثر تیمارهای موردمطالعه بر تعداد برگ گیاه گاوزبان اروپایی معنی‌دار بود ($p\leq0.01$) (جدول ۲). تعداد برگ در تیمار آلودگی ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون بیوچار (۳۲ برگ) نداشت. تعداد برگ (۲۷ برگ) در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم به میزان ۱۵/۶ درصد نسبت به تیمار بدون آلودگی کاهش داشت. تعداد برگ گیاه گاوزبان اروپایی در تیمار ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۲۳ برگ) ۲۸/۱ درصد کاهش داشت. در سطح آلودگی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعداد برگ (۲۲ برگ) ۳۱/۲ درصد کمتر از تیمار بدون آلودگی بود. در سطح آلودگی ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعداد برگ در گیاه گاوزبان اروپایی (۲۱ برگ) ۳۴/۳ درصد کمتر از تیمار عدم آلودگی بود. در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعداد برگ نسبت به تیمار بدون آلودگی ۴۶/۸ درصد کاهش داشت. غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم (۱۶ برگ)، میزان این شاخص را حدود ۵۰ درصد نسبت به شرایط عدم آلودگی کاهش داد. در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعداد برگ (۱۴ برگ) ۵۶/۲ درصد کمتر از تیمار بدون آلودگی بود. در بیشترین سطح آلودگی (۱۶۰ میلی‌گرم بر

کیلوگرم) تعداد برگ (۱۲ برگ) ۶۲/۵ درصد نسبت به تیمار بدون آلودگی کاهش داشت (جدول ۳).

وزن گل

وزن گل در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تیمارهای موردمطالعه قرار گرفت (جدول ۲). وزن گل در سطح آلودگی ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون آلودگی (۵/۶۳ گرم) نداشت. در تیمار آلودگی ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن گل (۴/۲۷ گرم) ۲۴/۱ درصد کاهش داشت. غلظت ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از آلودگی کادمیم، وزن گل (۴/۹۵ گرم) را به میزان ۱۲ درصد کمتر از شرایط عدم آلودگی کاهش داد. غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب باعث کاهش ۳۸/۵، ۴۱/۷، ۴۹/۲، ۸۰/۲، ۸۴/۵ درصدی وزن گل نسبت به تیمار عدم آلودگی شدند. گاوزبان اروپایی در تیمار ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وارد فاز گلدهی نشد (جدول ۳).

وزن ریشه

اثر تیمارهای موردمطالعه بر وزن ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). سطح آلودگی ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون آلودگی (۲۲/۸) نداشت. سطح آلودگی ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش ۱۷/۴ درصدی در وزن ریشه شد. وزن ریشه گاوزبان اروپایی در سطح آلودگی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۲۲/۱۱ درصد کاهش یافت. وزن ریشه گیاه در سطح آلودگی ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۲۵/۸ درصد کاهش داشت. غلظت‌های آلودگی ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از آلودگی وزن ریشه را به ترتیب ۳۹/۳، ۵۹ و ۶۹/۹ درصد کاهش دادند. کمترین وزن ریشه (۱/۱۸ گرم) در تیمار ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود، آلودگی ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ریشه را ۹۴/۸ درصد کاهش داد (جدول ۳).

وزن اندام هوایی

وزن اندام هوایی به‌طور معنی‌داری ($p\leq0.01$) تحت تأثیر تیمارهای موردمطالعه بود (جدول ۲). وزن اندام هوایی در تیمار ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد (فاقد آلودگی با کادمیم) (۶۵/۰۱) نداشت. در مقایسه با تیمار شاهد: سطح آلودگی ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با کادمیم وزن اندام هوایی را ۸/۵ درصد کاهش داد. سطح آلودگی ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب باعث کاهش وزن اندام هوایی به میزان ۱۶/۵ و ۱۶/۶ درصد شدند. وزن اندام هوایی گاوزبان اروپایی در سطح آلودگی ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۲۲/۱ درصد کاهش داشت. غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از آلودگی کادمیم باعث کاهش ۳۴/۷۹ و ۴۷/۳ درصدی در وزن اندام هوایی گاوزبان اروپایی شد. در تیمارهای ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن اندام هوایی ۵۹/۷ درصد و ۷۴/۲ درصد کاهش داشت (جدول ۳).

ارتفاع اندام هوایی

این شاخص در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر تیمارهای موردمطالعه بود (جدول ۲). آلودگی با کادمیم منجر به کاهش طول شاخه در گیاه گاوزبان اروپایی شد. طول شاخه در تیمارهای ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون آلودگی (۴۰ سانتی-متر) نداشت. طول شاخه (۳۳ سانتی‌متر) در سطح آلودگی ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم ۱۷/۵ درصد کاهش داشت. غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم طول شاخه را ۲۰ درصد نسبت به تیمار بدون آلودگی کاهش داد. در سطح آلودگی ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم طول شاخه (۲۷ سانتی‌متر) ۳۲/۵ درصد کمتر از تیمار بدون آلودگی بود. غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم طول شاخه (۲۴ سانتی‌متر) را ۴۰ درصد نسبت به تیمار بدون آلودگی کاهش داد. در تیمار ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیم طول شاخه ۱۸ سانتی‌متر محاسبه شد که ۵۵ درصد کمتر از تیمار بدون آلودگی بود. طول شاخه (۱۱ سانتی‌متر) در سطح آلودگی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۷۲/۵ درصد کمتر از تیمار بدون آلودگی بود. بیشترین کاهش طول شاخه مربوط به آلودگی ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با ۷ سانتی‌متر بود، در این تیمار طول شاخه ۸۲/۵ درصد کاهش داشت (جدول ۳).

طول ریشه

اثر تیمارهای موردمطالعه بر طول ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). طول ریشه در سطح آلودگی ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون آلودگی نداشت. طول ریشه در تیمار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۱۴/۲۸ درصد و در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۲۰/۶ درصد کاهش داشت. در سطح

آلودگی ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از آلودگی با کادمیم ۲۶/۹ درصد کاهش داشت. طول ریشه گیاه گاوزبان اروپایی در سطح آلودگی ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۳۹/۶ درصد و در سطح آلودگی ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۵۵/۵ درصد کاهش داشت. کمترین طول ریشه در تیمارهای ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی کادمیم بود که به ترتیب ۶۸/۲ و ۸۰/۹ درصد کاهش داشت.

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی ویژگی‌های رشدی و مورفولوژیکی گیاه گاوزبان اروپایی تحت تأثیر تنش کادمیم

Table 2. Variance analysis (Mean squares) of some growth and morphological characteristics of Borag officinalis as affected by Cd Stress

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	تعداد گل Number of Flower	تعداد برگ Number of Leaf	وزن گل Flower Weigh	وزن ریشه Root Weigh	وزن اندام هوایی Aerial weigh	ارتفاع اندام هوایی Arial length	طول ریشه Root length
تیمار Treatment	9	261.63**	137.46**	11.67**	155.77**	787.90**	391.46**	266.74**
خطا Error	20	1.54	1.40	0.23	1.67	8.76	4.94	6.51
ضریب تغییرات C.V (%)	-	*6.51*	*5.53*	*15.25*	*8.56*	*6.36*	*8.36*	*11.62*

*، ** و ns: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح پنج، یک درصد و عدم معنی‌داری

ns = Non-significant. * = Significant at 5% level. ** = Significant at 1% level

جدول ۳. مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های رشدی و مورفولوژیکی گیاه گاوزبان اروپایی تحت تأثیر تنش کادمیم

Table 3. Mean comparisons of some growth and morphological characteristics of the Borago officinalis plant as affected by Cd Stress

تیمار کادمیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) Treatment	تعداد گل Number of Flower	تعداد برگ Number of Leaf	وزن گل Flower weigh	وزن تر ریشه Root fresh weigh	وزن تر اندام هوایی Arial fresh weigh	ارتفاع اندام هوایی Arial length	طول ریشه Root length
mg.kg^{-1} soil			----------g----------			----------cm---------	
0	28^{a}	32^{a}	5.63^{a}	22.8^{a}	65.01^{a}	40^{a}	31.5^{a}
1.25	28^{a}	30^{a}	5.31^{a}	21.93^{a}	62.33^{ab}	37^{a}	33^{a}
2.5	26^{a}	27^{b}	4.27^{b}	20.88^{ab}	59.44^{b}	37^{a}	31^{ab}
5	26^{a}	23^{c}	4.95^{bc}	18.82^{bc}	54.26^{c}	33^{b}	27^{bc}
10	23^{b}	22^{c}	3.46^{c}	18.67^{c}	54.18^{c}	32^{b}	25^{c}
20	20^{c}	21^{c}	3.28^{c}	16.90^{c}	50.60^{c}	27^{c}	23^{dc}
40	18^{c}	17^{d}	2.83^{c}	13.82^{d}	42.39^{d}	24^{c}	19^{d}
80	14^{d}	16^{ed}	1.11^{d}	9.33^{e}	34.22^{e}	18^{d}	14^{e}
120	8^{e}	14^{ef}	0.87^{d}	6.85^{f}	26.16^{f}	11^{e}	10^{ef}
160	0^{f}	12^{f}	0^{e}	1.18^{g}	16.74^{g}	7^{f}	6^{f}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

Column means with the same letter are not significantly different by Duncan test (P< 0.05)

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

تیمارهای موردبررسی در سطح احتمال یک درصد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۴). در بین تیمارهای موردبررسی بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۹/۲۵ واحد بر گرم پروتئین) مربوط به تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم بود، بعد از آن تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم (۷/۳۱ واحد بر گرم پروتئین) و غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم (۷/۱۲ واحد بر گرم پروتئین) بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را داشتند. در بین تیمارهای موردمطالعه، کمترین میزان فعالیت آنزیم در تیمار بدون آلودگی (۳/۳۸ واحد بر گرم پروتئین) مشاهده شد (جدول ۵).

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی تحت تنش کادمیم

Table 4. Analysis of variance (Mean square) of some physiologic and biochemical characteristics of Borage officinalis as affected by Cd Steress

منابع تغییر S.O.V	df	کاتالاز CAT	آسکوربات پراکسیداز APX	گایاکل پراکسیداز GP	پروتئین Protein	پرولین prolin	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	Fv/Fm
تیمار Treatment	9	12.99**	3.01**	7.27**	1623.49**	15.27**	8.70**	1.30**	0.083**
خطا Error	20	0.21	0.21	0.126	7.29	0.054	0.43	0.02	0.001
ضریب تغییرات C.V. (%)	-	*8.73*	*6.14*	*6.19*	*7.68*	*6.14*	*8.21*	*5.81*	*5.73*

*، ** و ns: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح پنج، یک درصد و عدم معنی‌داری

ns = Non-significant. * = Significant at 5% level. ** = Significant at 1% level

جدول ۵. برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی تحت تأثیر تنش کادمیم

Table 5. Some physiologic and biochemical characteristics of European borage officinalis as affected by Cd Steress

تیمار کادمیم Treatment	کاتالاز CAT	آسکوربات پراکسیداز APX	گایاکل پراکسیداز GP	پروتئین Protein	پرولین prolin	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	Fv/Fm
$mg.g^{-1}$ soil	----------	$U.mg^{-1}prot$	----------	$mg.g^{-1}FW$	$\mu mol.g^{-1}$ FW	----------	$mg.g^{-1}FW$	----------
0	3.38^{e}	6.51^{d}	4.2^{f}	61.88^{a}	1.6^{f}	8.18^{a}	2.8^{cd}	0.77^{a}
1.25	4.45^{d}	6.6^{d}	6.25^{c}	61.56^{a}	1.6^{f}	8.51^{c}	2.63^{d}	0.69^{b}
2.5	7.12^{bc}	7.5^{bc}	5.66^{cd}	59.94^{a}	1.9^{ef}	8.17^{c}	2.68^{cd}	0.64^{b}
5	6.43^{c}	7.91^{b}	7.41^{b}	52.97^{b}	2.2^{e}	8.11^{c}	2.95^{c}	0.64^{b}
10	7.31^{b}	9.28^{a}	9.08^{a}	39.9^{c}	2.2^{e}	9.79^{ab}	3.58^{a}	0.64^{b}
20	9.25^{a}	9^{a}	4.38^{f}	31.6^{d}	3.2^{d}	10.27^{a}	3.66^{a}	0.66^{b}
40	4.12^{e}	7.5^{bc}	6.25^{c}	18.49^{e}	5.6^{c}	8.88^{bc}	3.22^{b}	0.58^{c}
80	3.75^{de}	7^{cd}	5.08^{de}	13.82^{f}	5.7^{c}	7.88^{c}	2.54^{d}	0.45^{d}
120	3.53^{de}	6.71^{d}	4.65^{ef}	8.16^{g}	7.6^{a}	5.53^{d}	2.12^{e}	0.32^{e}
160	3.45^{e}	6.6^{d}	4.51^{ef}	3.06^{h}	6.2^{b}	4.75^{d}	1.46^{f}	0.26^{f}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نیست.

Column means with the same letter are not significantly different by Duncan test ($p\leq 0.05$)

بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در سطح ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم (۹/۲۸ واحد بر گرم پروتئین) بود. تیمارهای ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز به ترتیب با ۹ و ۷/۵ واحد بر گرم پروتئین بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز را داشتند. آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در تیمار بدون آلودگی کمترین میزان فعالیت (۶/۵۱ واحد بر گرم پروتئین) را داشت (جدول ۵). بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکل‌پراکسیداز (۹/۰۸ واحد بر گرم پروتئین) در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم بود و بعد از آن بیشترین غلظت آنزیم را تیمار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم (۷/۴۱ واحد بر گرم پروتئین) داشت. کمترین میزان آنزیم گایاکل‌پراکسیداز (۴/۲ واحد بر گرم پروتئین) مربوط به تیمار بدون آلودگی بود (جدول ۵).

پروتئین

تأثیر تیمارهای موردبررسی بر میزان پروتئین برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بیشترین میزان پروتئین در تیمار بدون آلودگی با کادمیم (۶۱/۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد (جدول ۵). تیمارهای آلودگی ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با ۶۱/۵۶ و ۵۹/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر در رتبه‌های بعدی از نظر میزان پروتئین قرار داشتند. کمترین میزان پروتئین مربوط به غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم (۳/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۵).

پرولین

پرولین به‌طور معنی‌داری ($p\leq0.01$) تحت تأثیر تیمارهای موردمطالعه قرار گرفت (جدول ۴). در بین تیمارهای موردبررسی تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم بیشترین میزان پرولین (۷/۶ میکرومول بر گرم وزن تر) را داشت، بعد از آن تیمار ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم (۶/۲ میکرومول بر گرم وزن تر) و تیمار ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم (۵/۷ میکرومول بر گرم وزن تر) بیشترین میزان پرولین را دارا بود (جدول ۳). کمترین میزان پرولین مربوط به تیمار بدون آلودگی و ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱/۶ میکرومول بر گرم وزن تر) بود (جدول ۵).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج نشان داد تیمارهای موردبررسی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی داشتند (جدول ۴). بیشترین میزان کلروفیل a به ترتیب در تیمارهای ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱۰/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۹/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون آلودگی نداشت. کمترین میزان کلروفیل a (۴/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نیز مربوط به تیمار ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (جدول ۵). بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۳/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود، بعد از آن تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با ۳/۵۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و تیمار ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با ۳/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین میزان کلروفیل را داشتند. کمترین میزان کلروفیل b (۱/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نیز مربوط به تیمار ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم بود (جدول ۵).

فلورسانس کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک نشان‌دهنده اثر معنی‌دار تیمارهای آلودگی کادمیم بر میزان فلورسانس کلروفیل بود ($p\leq0.01$) (جدول ۴). با افزایش غلظت کادمیم نسبت Fy/Fm کاهش یافت، این کاهش در غلظت‌های ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون آلودگی نداشت. بیشترین میزان این شاخص (۰/۷۷) در تیمار بدون آلودگی و کمترین نسبت Fy/Fm (۰/۲۶) مربوط به تیمار ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلودگی با کادمیم بود (جدول ۵).

بحث

نتایج این مطالعه به‌طورکلی نشان داد که کاهش فاکتورهایی مانند وزن اندام هوایی، وزن ریشه، میزان کلروفیل، فلورسانس کلروفیل، پروتئین و افزایش پرولین از نشانه‌های سمیت کادمیم است. گزارش‌های مشابهی از تأثیر منفی کادمیم بر رشد برخی از گیاهان ارائه شده است (Xie et al., 2010; Ghorbani et al., 2016; Tiwari et al., 2018). علت اثرات نامطلوب کادمیم بر گیاه را در خاک‌های آلوده می‌توان به جذب بیشتر کادمیم توسط گیاه و اختلال رشد ناشی از سمیت کادمیم در گیاه، کاهش سرعت رشد، کاهش جذب آب و جذب سایر یون‌های مؤثر بر فعالیت‌های رشدی گیاه (Veselov et al., 2003)، کاهش فعالیت هورمون سیتوکنین که تأثیر بسزایی در تکثیر سلولی و رشد دارد یا تأثیر منفی کادمیم بر تولید انرژی در میتوکندری نسبت داد (Fotohi et al., 2011). کادمیم سبب اختلال در متابولیسم کلی سلول‌ها می‌شود (Xie et al., 2021). سمیت کادمیم در گیاهان می‌تواند به اثرات منفی بر فرایند فتوسنتز منجر شود. این عمل از طریق آسیب به برخی آنزیم‌های فتوسنتزی مخصوصاً آن‌هایی که در چرخه کلوین و بیوسنتز کلروفیل نقش دارند صورت می‌گیرد (Mishra et al., 2006). کادمیم به‌طور مستقیم در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا شرکت نمی‌کند ولی مواجهه‌ی با کادمیم منجر به خسارت اکسیداتیو نظیر پراکسیداسیون لیپیدها و کربونیلاسیون پروتئین‌ها می‌شود. کادمیم باعث تجمع H_2O_2 از طریق تحریک آنزیم‌های تشکیل‌دهنده H_2O_2 می‌شود.

کاتالاز آنزیمی است که باعث تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود. کاتالاز که به‌طور گسترده در موجوداتی که در حضور اکسیژن زندگی می‌کنند یافت می‌شود، از تجمع پراکسید در اندامک‌ها و بافت‌های سلولی و از آسیب‌های پراکسید که توسط واکنش‌های متابولیکی متعدد تولید می‌شود، محافظت می‌کند (Asada, 2006). آنزیم کاتالاز با افزایش غلظت کادمیم به میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش داشت و از آن به بعد با افزایش غلظت کادمیم فعالیت این آنزیم کاهش یافت. قرارگیری در معرض غلظت‌های زیاد فلزات فعال از نظر اکسیداسیون و احیا منجر به کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد، به نظر

می‌رسد قابلیت گیاهان برای افزایش محافظت آنتی-اکسیداسیونی برای مقابله با پیامدهای منفی تنش فلز سنگین محدود باشد (Schutzendubel and Polla, 2002).

آسکوربات‌پراکسیداز نقش حیاتی در مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو دارد. این آنزیم، پراکسید هیدروژن را در کلروپلاست، سیتوسول، میتوکندری و پراکسیزوم سلول‌های گیاهی از بین می‌برد (Asada, 2006). در بین آنزیم‌های موردمطالعه آسکوربات‌پراکسیداز بیشترین فعالیت را داشت. فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز نیز تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش و بعد از آن با افزایش غلظت کادمیم فعالیت آنزیم کاهش یافت.

آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در سیتوسول فعالیت داشته و از گلوتاتیون به‌عنوان کوفاکتور خود استفاده می‌کند. این آنزیم پراکسید هیدروژن را تجزیه و به آب تبدیل می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم به همراه سایر مکانیسم‌های دفاعی در سیتوسول به حفظ پایداری در این بخش کمک شایانی می-نماید (Esfandyari et al., 2009). غلظت این آنزیم روند ثابتی در بین تیمارهای مختلف نداشت.

افزایش فعالیت آنزیم در تنش آلودگی با شدت کمتر نسبت به تنش شدیدتر نشان‌دهنده وجود مکانیسم‌های جمع‌آوری‌کننده مؤثر برای از بین بردن ROS در سطوح تنش آلودگی پایین‌تر و کم‌شدن فعالیت آنزیم در سطوح بالاتر آلودگی می‌تواند به دلیل افزایش سطح H_2O_2 تولیدشده به‌واسطه حضور کادمیم باشد (Shi et al., 2010)، برخی دیگر از محققان معتقدند که کاهش یا عدم‌تغییر در فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی طی تنش شدید به دلیل وارد آمدن صدمات جدی به سلول تحت تنش بوده است (Tiryakioglu et al., 2006). در شرایط طبیعی تعادل اکسیداسیون و احیای سلول به‌طور عمده از طریق دامنه‌ی وسیعی از سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی حفظ می‌شود که این سازوکارها برای حذف ROS تکامل‌یافته‌اند. تنش‌های محیطی مختلف از جمله تنش فلز سنگین کادمیم تعادل اکسیداسیون و احیا را از طریق افزایش تولید ROS یا کاهش فعالیت آنتی-اکسیدانی به هم می‌زنند به‌طوری‌که تنش اکسیداتیو را به دنبال خواهد داشت (Schutzendubel and Polla., 2002).

پرولین با افزایش آلودگی کادمیم افزایش یافت و بیشترین مقدار را در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارا بود. افزایش و تجمع پرولین در برگ‌های تحت تنش به علت افزایش سنتز و کاهش اکسیداسیون است. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به‌عنوان محافظ در برابر تنش نیز عمل می‌کند و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی ماکرومولکول‌ها در شرایط تنش کمک می‌کند (Kok et al., 2010). در پژوهشی که دژبان و همکاران (Dezhban et al., 2020) بر روی گیاه *Robinia pseudoacacia* انجام دادند، محتوی پرولین در تمامی غلظت‌های کادمیم یعنی ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تغییر معنی‌داری را نشان نداد. درنهایت می-توان این‌گونه بیان کرد که پرولین، باوجوداینکه در گیاه به‌عنوان یک محافظ اسمزی و یک آنتی‌اکسیدانت و یک کلاته کننده فلز و تنظیم‌کننده در گیاه شناخته می‌شود، اما فعالیت آن در برابر هر عنصر و در هر گیاه در جهت رفع مسمومیت ناشی از حضور فلز، متفاوت است و می‌تواند به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی خاص برای گیاه محسوب شود.

رنگیزه‌های فتوسنتزی در غلظت‌های بالای کادمیم کاهش یافتند. کادمیم می‌تواند سبب احیای ناقص پروتوکلروفیل ردوکتاز شده و با مهار آنزیم سیگماآمینولوئیک‌اسید دهیدروژناز باعث کاهش مقدار کلروفیل شود (Liamas et al., 2000). کاهش محتوای کلروفیل a، b و کل به‌واسطه حضور کادمیم در گیاهان *Brassica junceae* (Mohamed et al., 2012)، *Carthamus tinctorious* (Shi et al., 2010) و *Triticum aestivum* (Arshad et al., 2016) گزارش شده است.

شاخص فلورسانس کلروفیل با افزایش غلظت کادمیم کاهش یافت. یکی از دلایلی که منجر به غیرفعال شدن یا کاهش Fv/Fm می‌شود، حرکت کند چرخشی انتقال الکترون، به دلیل آسیب به زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم دو است که به دلیل کاهش ظرفیت کوئینون آ اتفاق می‌افتد. Fv/Fm به‌عنوان شاخصی معتبر برای نشان دادن بروز تنش در مراکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری است زیرا که نشان‌دهنده‌ی ظرفیت انتقال الکترون در فتوسیستم دو است. در پژوهشی که بر روی گیاه گلرنگ انجام شد کاهش نسبت Fv/Fm با افزایش کادمیم از سطح یک میلی‌گرم به پنج و ده میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک گزارش شده است. پژوهشگران فوق برای ژنوتیپ‌های حساس کاهش بیشتری در نسبت Fv/Fm به ازای افزایش آلودگی کادمیم گزارش کرده‌اند (Pourghasemian and Ehsanzadeh, 2013). بااین‌حال در پژوهش دیگری بر عدم تأثیر غلظت کادمیم تا سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بر میزان

فلورسانس گیاه *Arundo donax* اشاره شده است (Mipapazoglou, 2009).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد، عملکرد گاوزبان اروپایی تا غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تحت تأثیر کادمیم قرار نگرفت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تا تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت و بعد از آن با افزایش غلظت کادمیم کاهش یافت که نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو است. رنگیزه‌های فتوسنتزی و شاخص فلورسانس کلروفیل با افزایش غلظت کادمیم کاهش یافت. با توجه به تحمل و مقاومت برخی گیاهان دارویی به شرایط موجود در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، می‌توان از کشت این گیاهان دارویی به‌عنوان راهکاری جهت مدیریت و بهره‌برداری از اراضی که آلودگی متوسط به فلزات سنگین دارند، بهره جست. گیاه گاوزبان اروپایی با توجه به تعداد گل، دوام گل و عملکرد بالا می‌تواند کاندیدای مناسبی جهت کشت در مناطق آلوده باشد، البته مطالعات تکمیلی با رویکرد کاهش اثرات سوء تنش و کاهش غلظت عنصر کادمیم در خاک موردنیاز است.

منابع

Arshad, M., Ali, S., Noman, A., Ali, Q., Rizwan, M., Farid, M., Irshad, M.K., 2016. Phosphorus amendment decreased cadmium (Cd) uptake and ameliorates chlorophyll contents, gas exchange attributes, antioxidants, and mineral nutrients in wheat (*Triticum aestivum* L) under Cd stress. Archives of Agronomy and Soil Science 62, 533-546. [In Persian with English summary]. https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1064903

Asada, k., 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. Plant Physiology. 141, 391-396. https://doi.org/10.1104/pp.106.082040

Bates, L.S., Waldren, R.P. Teare, I.D. 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39, 205–207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72, 248-254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999

Dezhban, A., Shirvany, A., Attarod, M., Delshad, M., 2015. Response of chlorophyll fluorescence and growth of *Celtis caucasica* and *Robinia pseudoacacia* seedlings to the cadmium stress. Forest Sustainable Development. 4, 351-363. [In Persian with English summary].

Esfandyari, A., Mahbob, S., Shekari, f., 2009. Principles of Plant Physiology. Umid Tabriz Publication. 204p. [In Persian with English summary].

Evesh, T., Sweta, B., Pooja, P., Archana, N., 2019. Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements. Academic Press. pp. 165-170. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00023-0

Fernandes, J.A., Pereira, J.A., Saraiva, E., Ramalhosa, S., 2019. Casal, phytochemical characterization of *Borago officinalis* L. and *Centaurea cyanus* L. during flower development. Food Research International. 123, 771-778. https://doi/org/10.1016/j.foodres.2019.05.014

Fotohi, R., Fatuhi Qazvini, R., Heydari, R., Hashempoor, A., 2011. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. University of Mashhad Publication. 550p. [In Persian with English summary].

Ghorbani, H., Heidari,M., 2016. Effect of salinity leveLs and lead and cadmium heavy metals on growth, photosynthetic pigments and potassium contect spinach. Journal of Soil and Plant Intractions. 35, 15-24. [In Persian with English summary]. https://doi.org/10.18869/acadpub.ejgcst.7.1.15

Khan, A., Singh, R., Nazar, P., Long, M., 2007. The Source-Sink relationship in mustard. Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology. 1, 10-18.

Kok, E., Slek, I., ustum, A., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*capsicum annum* L.), varieties. Gazi University Journal of Science. 23, 1-6.

Liamas, A., Ullrich, C., Sanz, A., 2000. Cadmium effects on transmembrane electrical potential difference, respiration and membrane

permeability of rice (*Oryza sativa*) roots. Plant and Soil. 219, 21-28. https://doi.org/10.1023/A:1004753521646

Li. H., Ru. W., Xianglin, Li., Bo, X., Tuanhui, X., Yunyun, L., Mingkuang, W., Yanhui, C., 2018. Cadmium phytoextraction potential of king grass (*Pennisetum sinese* Roxb.) and responses of rhizosphere bacterial communities to a cadmium pollution gradient. Environmental Science and Pollution Research. 25, 21671–21681.

Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 148, 350-382, https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1

Loi, N., Gubareva, S., Stepanchikova, S., Sanzharova, I., 2012. Effect of cadmium pollution of sod_podzolic soil on growth and development of broad beans. Russian Agricultural Sciences. 38, 374–376. https://doi.org/10.3103/S1068367412050114

Marjani, V., Golchin, A., abdollahi, S., 2020. Potential of marigold (*Calendula officinalis*), ornamental cabbage (*Brassica oleracea*) and amaranthus (*Amaranthus retroflexus*) for phytoextraction of cadmium from the soil. Journal of Soil Management and Sustainable Production. 10, 95-113. [In Persian with English summary]. https://doi.org/10.22069/EJSMS.2021.17369.1924

Mipapazoglou, M. 2009. Foresight and research priorities for service oriented computing. 5–6 May 2009. in: Proceedings of the 11th International Conference on Enterprise Information Systems, Milan, Italy.

Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, D., Govindarajan, R., Kuriakose, V., Prasad, V., 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. Plant Physiology and Biochemistry. 44, 25-37. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.01.007

Mohamed, A., Castagna, A., Ranieri, A., di Toppi, S., 2012. Cadmium tolerance in brassica juncea roots and shoots is affected by antioxidant status and phytochelatin biosynthesis. Plant Physiology and Biochemistry. 57, 15-22. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.05.002

Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., Sreekanth, T. V. M., 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. Environmental Chemistry Letters. 8, 199-216. https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8

Omidbeigi, R., 2000. Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Ghods Razavi Publications, Mashhad. 286p. [In Persian].

Pourghasemian, N., Ehsanzadeh, P., 2013. Evaluation of antioxidative responses to cadmium contamination of soil and its relationship with some physiological traits in safflower genotypes. Journal of Plant Process and Function. 2, 15-31. [In Persian with English summary].

Schutzendubel, A., Polla, A., 2002. Plantresponsive to abiotic stresse: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization.j. Journal of Experimental Botany. 372, 1351-1365.

Shi, G., Liu, C., Cai, Q., Liu, Q., Hou, C., 2010. Cadmium accumulation and tolerance of two safflower cultivars in relation to photosynthesis and antioxidative enzymes. Bulletin of Environmental Contamination of Toxicolgy. 85, 256–263. https://doi.org/10.1007/s00128-010-0067-0

Tingting, Y., Shunyuan, J., Kai, H., Hui, S., Honglan, W., 2022. Cadmium (Cd) accumulation in traditional Chinese medicine materials (TCMMs): A critical review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 242.113904. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv

Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S., Cakmk, I., 2006. Antioxidant defen.se system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 20, 181–189. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.12.004

Tiwari, S., Lata, C., 2018. Heavy metal stress, signaling, and tolerance due to plant-associated microbes: an overview. Frontiers in Plant Science. 9, 452.

Versha, P., Disha, M., Ranu, Y., Aman, S., Channayya, H., Birandra, K., Karuna, S., Anil, K., 2023. Phyto-exclusion of Pb and cd by different genotypes of andrographis paniculata (Burm. F.) nees: A novel approach for safe cultivation. Industrial Crops and Products. 191, Part A, 115977. https://doi.org/10.1016/j.indcrop

Veselov, D., Kuudoyarova, G., Syymonyan, M., Veselov, S. T., 2003. Effect of cadmium on ion

uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seadlings. Plant Physiology. 117, 353-359.

Xiaoli, P.W., Mengying, G., Jian, X., 2021. Trace heavy metals and harmful elements in roots and rhizomes of herbs: screening level analysis and health risk assessment. Chinese Herbal Medicines. 14, 622-626. https://doi.org/10.1016/j.chmed.2021.11.004

Xie, M., Chen, W., Dai, H., Wang, X., Yang, L., Kang, Y., Sun, H., Wang, L., 2021. Cadmium-induced hormesis effect in medicinal herbs improves the efficiency of safe utilization for low cadmium-contaminated farmland soil. Ecotoxicology and Environmental Safety. 225, 0147-6513. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112724

Zhang, F.Q., Zhang, H., Wang, L.X., Zhenguo,S., 2009. Cadmium-induced accumulation of hydrogen peroxide in the leaf apoplast of phaseolus aureus and vicia sativa and the roles of different antioxidant enzymes. Journal of Hazardous Materials. 168, 76-84.