بررسی اثر کادمیم بر تغییرات رنگدانه ای، فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی سه گونه دارویی *Mentha aquatica* L.، *Froriepia subpinnata* Ledeb. و *Eryngium caucasicum* Trautv.

رقیه حسن‌پور[۱]، فائزه زعفریان[۲*]، محمد رضوانی[۳]، بهی جلیلی[٤]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[۲]دانشیار، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[۳]دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

[٤]استادیار، گروه خاک‌شناسی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۰٦ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۲۵

چکیده

کادمیم یکی از خطرناکترین عناصر سنگین است که به‌طور طبیعی و یا با فعالیت‌های انسانی وارد خاک می‌شود و سبب تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود. لذا این مطالعه، جهت بررسی اثر کادمیم بر برخی از واکنش‌های فیزیولوژیک سه گیاه معطر شامل اوجی (*Mentha aquatica* L.)، زولنگ (*Eryngium caucasicum* Trautv.) و اناریجه (*Froriepia subpinnata* Ledeb.)، در سه آزمایش گلخانه‌ای با پنج غلظت کادمیم شامل ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹٦-۱۳۹۵ بررسی گردید. نشاء هر سه گیاه در گلدان‌های آلوده کشت شدند. قبل از مرحله گلدهی کلروفیل a، b، کاروتنوئید، فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدان اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شدند. کلروفیل a، b و کاروتنوئید با استفاده از عصاره متانولی برگ اندازه‌گیری شد. همچنین بعد از تهیه عصاره اندام‌های هوایی با استفاده از اتانول و آب، فنل کل به روش فولین-سیکالتو، فلاونوئید کل به روش کلرید آلومینیوم و فعالیت آنتی‌کسیدان با استفاده از DPPH اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد رنگدانه‌های برگ در هر سه گیاه با افزایش سطح کادمیم به صورت خطی کاهش یافت، اما میزان کاهش کاروتنوئید نسبت به کلروفیل a و b کمتر بود. در حالی که فنل، فلاونوئیدها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان با افزایش سطح کادمیم افزایش یافت. گیاه اوجی بیشترین میانگین فنل (٦۵/۸۹ میلی‌گرم در گرم) و فعالیت آنتی‌اکسیدان (۹۸/٤۹ درصد) و گیاه اناریجه بیشترین میانگین فلاونوئید (۱٦۵/٦۰ میلی‌گرم در گرم) را به خود اختصاص دادند. در مجموع نتایج نشان داد رنگدانه‌های گیاهی تحت تاثیر سمیت کادمیم قرار گرفتند و با توجه به این که گیاهان مورد نظر غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند؛ افزایش این ترکیبات در مواجه با تنش کادمیم نشان دهنده‌ی نوعی مکانسیم دفاعی سه گیاه برای مقابله با تنش می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، عناصر سنگین، فلاونوئید، فنل، کلروفیل، کادمیم، گیاهان معطر

*نویسنده مسئول: fa_zaefarian@yahoo.com

مقدمه

در بین عناصر سنگین، کادمیم یکی از مهمترین و خطرناک‌ترین عناصر سمی برای موجودات زنده است که می‌تواند از طریق زنجیره غذایی جذب شود (Huang et al., 2017; Shahid et al., 2017). حضور کادمیم در خاک ممکن است به طور طبیعی و یا به خاطر فعالیت‌های انسانی مانند صنایع فلزی، کودهای آلوده، علف‌کش‌ها یا حشره‌کش‌ها و آبیاری با آب‌های زیرزمینی آلوده رخ دهد (Duruibe et al., 2007). این عنصر می‌تواند با حرکت در فضای آزاد دیواره سلولی و یا انتقال در سراسر غشاء پلاسمایی سلول‌های ریشه از طریق سیتوپلاسم (مسیر سیمپلاستیک) وارد ریشه گیاهان شود (Girdhar et al., 2014). تنش عناصر سنگین در گیاهان یک سیستم بسیار پیچیده است (Kozminska et al., 2018). به گونه‌ای که کادمیم منجر به اختلال در فیزیولوژی، مورفولوژی و بیوشیمیایی گیاهان می‌شود (Jia et al., 2016) و با آسیب به دستگاه‌های فتوسنتزی، میزان آسیمیلاسیون کربوهیدرات را کاهش می‌دهد (Dias et al., 2013). همچنین کادمیم با ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال در مکان‌های مختلف انتقال الکترون (Prasad and Singh, 2011) بر رشد گیاهان اثر می‌گذارد (Prasad and Singh, 2011; Dias et al., 2013). در واقع رشد، وابسته به بسیاری از پارامترهای فیزیولوژیک همانند فتوسنتز و جذب عناصر غذایی است و همبستگی مثبت با رنگدانه‌های فتوسنتزی دارد این رنگدانه‌ها با تاثیر بر میزان فتوسنتز، در بهبود رشد گیاهان در شرایط متفاوت محیطی موثرند (Ghorbani et al., 2016).

تأثیر سوء عناصر سنگین بر رشد گیاهان بستگی به غلظت این عناصر در محیط ریشه، گونه گیاهی و مرحله رشدی آن‌ها دارد (Rizwan et al., 2017). مطالعات نشان داده است که گیاهان در برابر آلودگی ناشی از عناصر سنگین واکنش‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهند. برخی از گونه‌های گیاهی به مقادیر بالای عناصر سنگین حساس می‌باشند (Oliver and Naidu, 2003). در گونه‌های گیاهی غیرمقاوم، این عناصر فعالیت‌های سلولی گیاه شامل فتوسنتز، تنفس و در نهایت رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Majer et al., 2002). اما گیاهان مقاوم، مکانیسم‌های دفاعی زیادی را برای افزایش تحمل به کادمیم به کار می‌برند (Hashem et al., 2016; Rizwan et al., 2017). به‌عنوان مثال حضور کادمیم نیز مانند سایر عناصر سنگین میزان ترکیبات فنلی (فنل و فلاونوئید) را به عنوان متابولیت ثانویه در گیاهان تحت تاثیر قرار می‌دهد (Dudjak et al., 2004) و این ترکیبات سازگارکننده نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند (Good and Zaplachiniski et al., 1994). همچنین این ترکیبات می‌توانند گونه‌های فعال اکسیژن را با اهدای الکترون به گایکول پراکسیداز، برای سم‌زدایی پراکسید هیدروژن تولید شده تحت تنش را از بین ببرند (Emmaline et al., 2016). در واقع متابولیت‌های ثانویه نظیر ترکیبات فنل و فلاونوئید یکی از مهمترین عوامل سیستم دفاعی گیاه محسوب می‌شوند که عامل تنش‌زا، تولید آن را افزایش می‌دهد (Habibzadeh and Asghari, 2018).

گونه های اوجی (*Mentha aquatica* L.)، زولنگ (*Eryngium caucasicum* Trautv.) و اناریجه (*Froriepia subpinnata* Ledeb.) به عنوان گیاه معطر دارویی به شمار می‌روند و مصرف زیادی در غذاهای بومی دارند. اوجی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) (Kamal et al., 2004) و زولنگ و اناریجه از خانواده جعفریان (Apiaceae) هستند (Morteza-Semnani et al., 2009; Wang et al., 2012) و به دلیل غنی بودن از ترکیبات آنتی‌کسیدان برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Bonilla et al.,

2011). این قبیل گیاهان به‌دلیل وجود ترکیباتی به نام متابولیت‌های ثانویه، از گیاهان غیردارویی متمایز شده‌اند (Asgari Lajayer et al., 2014). در این راستا، سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان پارامتری مناسب جهت ارزیابی مواد غذایی و گیاهی به‌طور وسیعی استفاده می‌شود. همچنین به دلیل تاثیر عناصر سنگین بر بیوسنتز کلروفیل و ایجاد تنش اکسیداتیو، محتوای کلروفیل در برگ می‌تواند معیاری برای سنجش بروز سمیت محسوب شود. لذا با توجه به اهمیت این سه گیاه خوراکی و لزوم تحقیق درباره تنش ناشی از عنصر سنگین کادمیم بر گیاهان اوجی ، زولنگ و اناریجه، این پژوهش به بررسی اثر سطوح متفاوت کادمیم بر رنگدانه‌های گیاهی به عنوان یکی از عامل‌های موثر در فرایند فتوسنتز، مقادیر ترکیبات فنل و فلاونوئید به عنوان عامل موثره دارویی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این سه گیاه می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر کادمیم بر رنگدانه‌های گیاهی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان با نام محلی اوجی (*Mentha aquatica*)، زولنگ (*Eryngium caucasicum*) و اناریجه (*Froriepia subpinnata*) سه آزمایش جداگانه طراحی شد. آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تکرار به اجرا درآمد. در ابتدا بذر دو گیاه زولنگ و اناریجه از رویشگاه طبیعی جمع‌آوری و در بهمن ۱۳۹۵ در سینی نشاء کشت شدند و نشاءهای اوجی نیز به صورت آماده از بازار محلی تهیه شد. نشاءها در فروردین ۱۳۹٦ به گلدان‌های آلوده انتقال یافتند. نمونه‌های گیاهی در آزمایشگاه گیاه‌شناسی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری مورد شناسایی علمی قرار گرفتند. غلظت‌های کادمیم شامل ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بود که به صورت نیترات کادمیم ٪۹۹ (MERCK) $Cd(NO_3)_2$ به خاک اضافه شد. خاک مورد استفاده در این آزمایش از لایه ۲۵-۰ سانتی‌متری مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری جمع‌آوری شد. پس از خشک شدن خاک تیمارهای کادمیم با خاک مخلوط شدند. خاک‌های آلوده به مدت یک ماه در گلدان‌های ٤ کیلوگرمی نگه‌داری شدند تا به شرایط طبیعی نزدیک شود. پس از انتقال نشاءها به گلدان‌های آلوده تراکم گیاه اوجی و زولنگ ۵ عدد و برای اناریجه ۷ عدد در هر گلدان در نظر گرفته شد. در طول دوره رشد، آبیاری از طریق زیرگلدانی، صورت گرفت.

اندازه‌گیری رنگدانه‌های گیاهی: دو ماه پس از کاشت (در مرحله قبل گلدهی)، غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید در برگ با روش پورا (Porra, 2002) و به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر (Analytik Jena-SPEKOL 1300) اندازه‌گیری و با استفاده از روابط ۱ تا ۳ محاسبه شد. در این رابطه A665.2، A652.4 و A470 به ترتیب میزان نور جذبی محلول در طول موج‌های ٦٦٥/٢، ٦٥٢/٤ و ٤٧٠ نانومتر می‌باشند.

رابطه (۱)

$$\text{Chl a } (\mu g/mL) = 16.72\ A665.2 - 9.16\ A652.4$$

رابطه (۲)

$$\text{Chl b } (\mu g/mL) = 34.09\ A652.4 - 15.28\ A665.2$$

رابطه (۳)

$$\text{Car } (\mu g/mL) = \frac{(1000A470 - 1.63\text{Chl a} - 104.96\text{Chl b})}{221}$$

تهیه عصاره جهت اندازه‌گیری فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدان: یک هفته پس از اندازه‌گیری رنگدانه‌های گیاهی، گیاهان برداشت شدند و اندام هوایی گیاه در آون ۳۵ درجه به مدت ۷۲ ساعت خشک شد و نمونه‌های خشک شده پودر شدند تا برای اندازه‌گیری ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استفاده شوند. عصاره لازم جهت اندازه‌گیری فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدان با روش فرهوش و موسوی (Farhoosh

and Moosavi, 2006) با کمی تغییرات تهیه شد. نمونه پودر شده اندام هوایی به نسبت ۱/۲۰ وزن نمونه خشک، ۱۰ برابر اتانول و ۱۰ برابر آب مقطر اضافه شد و پس از ۲٤ ساعت نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی صاف شده و عصاره حاصل در ۳۰۰۰ دور در ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت آن در آون با دمای ۳۵ درجه خشک شد. ۱ گرم از این عصاره را وزن نموده با ۵ میلی‌لیتر متانول و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق نموده و از این محلول جهت اندازه‌گیری این صفات استفاده شد.

اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنل کل: مقدار ترکیبات فنل کل با معرف فولین-سیکالتو تعیین شد. به این منظور به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره ($1:10 g.ml^{-1}$)، ۵ میلی‌لیتر فولین-سیکالتو (۱:۱۰ رقیق شده با آب مقطر) و سپس Na_2CO_3 آبی (۱M) به مقدار ٤ میلی‌لیتر به آن اضافه شده و ۱۵ دقیقه بعد، جذب آن در طول موج ۷٦۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

سپس با رسم منحنی استاندارد توسط غلظت‌های مختلف اسید گالیک، رابطه (٤) به‌دست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x (غلظت فنل کل) بدست آمد و محتوی فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم ماده خشک گزارش شد (Singleton et al., 1999).

رابطه (٤) $Y = 0.017X + 0.1509$ $(R^2=0.9934)$

اندازه‌گیری مقدار فلاونوئیدهای کل: از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد. هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی (۰/۵ ml از $1:10 g.ml^{-1}$) به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰٪ متانول)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (۱M) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در طول موج ٤۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین رابطه (۵) بدست آمد. سپس جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای x قرار داده شد و غلظت y (غلظت فلاونوئید کل) محاسبه گردید و غلظت فلاونوئید کل بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم ماده خشک گزارش شده است (Chang et al., 2002).

رابطه (۵) $Y = 0.0046X + 0.0067$ $(R^2=0.9966)$

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی: جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش DPPH، ترکیب رادیکالی پایدار چربی‌دوست با جذب بیشینه ۵۱۷ نانومتر، استفاده شد. برای سنجش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با DPPH، ۳ میلی‌لیتر از عصاره متانولی به ۱ میلی‌لیتر DPPH ۰/۱ میلی‌مولار اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد و در نهایت با استفاده از رابطه (٦) میزان به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH اندازه‌گیری گردید (Sanchez-Moreno et al., 1999). Asample و Ablank در این فرمول به ترتیب میزان جذب نوری کنترل منفی (فاقد عصاره) و عصاره را بیان می‌کند و I% درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را نشان می‌دهد.

رابطه (٦) $I\ (\%) = \frac{Ablank - Asample}{Ablank} \times 100$

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

نتایج

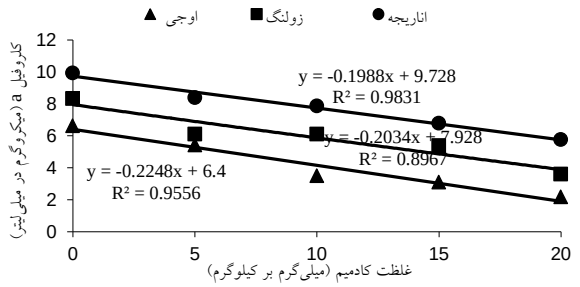
اثر غلظت مختلف کادمیم بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئید: بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول

۱)، کادمیم بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل aو کلروفیل b) و کاروتنوئیدها در هر سه گیاه اثر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت. در مطالعه حاضر در هر سه گیاه کاهش کلروفیل a، کلروفیل b با افزایش غلظت کادمیم به صورت خطی بود. همچنین کاهش کاروتنوئیدها در گیاه زولنگ و اناریجه با افزایش کادمیم روند خطی نشان داد، در حالی که در گیاه اوجی این روند پلی‌نومیال بود (شکل ۱، ۲ و ۳). و در هر سه گیاه کمترین میزان این شاخص‌ها با کاربرد بالاترین سطح کادمیم بدست آمد و کاهش کلروفیل a با افزایش سطوح کادمیم در هر سه گیاه روند تقریبا یکسانی داشت (شکل ۱). همچنین نتایج این مطالعه نشان داد کلروفیل b در گیاه زولنگ به افزایش سطوح کادمیم در خاک حساس‌تر از کلروفیل a است (شکل ۱ و ۲). کاهش کلروفیل b در گیاه اوجی (R^2= ۰/۹۲۸۸) با شیب ۰/۱۰۱۶-، در اناریجه (R^2= ۰/۹۷) با شیب ۰/۱۸- و در زولنگ (۰/۹۹۸۸ =R^2) با شیب ۰/۲۷۸۶- بود (شکل ۲). اما در این مطالعه شدت کاهش کاروتنوئید نسبت به کلروفیل a و b کمتر بود (شکل ۱، ۲ و ۳) و کاهش کاروتنوئید در تیمار ۲۰ میلی‌گرم کادمیم نسبت به شاهد (سطح صفر کادمیم)، در اوجی کمی (۶۶/۱۰ درصد) بیشتر از زولنگ (۵۱/۱۱ درصد) و اناریجه (۵۳/۱۹ درصد) بود (شکل ۳).

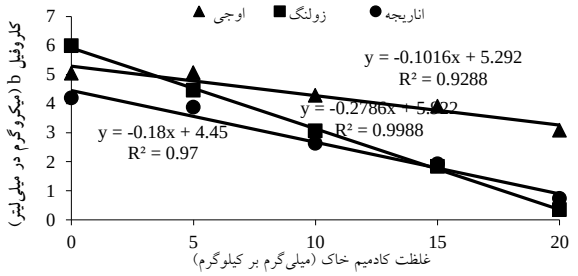
جدول ۱: میانگین مربعات اثر کادمیم بر صفات مورد مطالعه گیاه اوجی، زولنگ و اناریجه

گیاه	منبع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	فنل	فلاونوئید	فعالیت آنتی‌اکسیدان
اوجی	کادمیم	٤	۱۳/۲۲**	۲/۸۰**	۰/٦۳**	۱۷۲/۱۸*	۲٤٦۰/۹۹**	۲۱/۸۵*
	خطای آزمایش	۱۵	۰/۱۳	۰/۳۹	۰/۰۳	۳۵/٤۱	۳۰۷/٦۱	۵/۹۱
	ضریب تغییرات (٪)	-	۸/٦٤	۱٤/٦۳	۳۲/۸۸	۱۰/٤۰	۱٤/۸۱	۲/۵٤
زولنگ	کادمیم	٤	۱۱/۵۳**	۱۹/٤۲**	۰/۳۸**	٤۷/۲۹**	۸۰٦/۲٦**	۷۲/۲۱**
	خطای آزمایش	۱۵	۰/٤٦	۰/٤۹	۰/۰٦	٦/۷۰	۱۲۰/۳٤	۱٤/٤۸
	ضریب تغییرات (٪)	–	۱۱/۵٤	۲۲/۳٦	۲۵/۵٦	۵/۱۵	۱۸/٤٤	٤/۱۰
اناریجه	کادمیم	٤	۱۰/۰۷**	۸/۱۲**	۱/۱۲**	٤٦/۷۸**	۸٦۵۹/۷۵**	۲۰۱۲/۲۹**
	خطای آزمایش	۱۵	۰/۲٤	۰/٤۲	۰/۱۷	۲/٦۹	۵٤/۰۸	۱٤/۵۰
	ضریب تغییرات (٪)	–	٦/۳۲	۲٤/۳۵	۲۱/۵٦	۳/٦۲	٦/۸۳	۵/۰۸

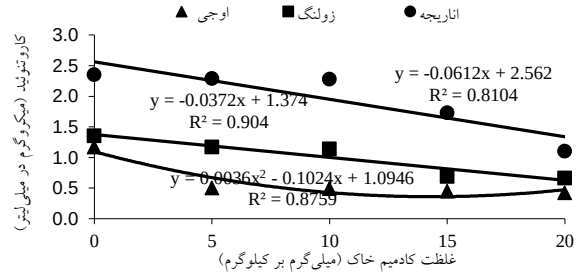
* و **: به ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد را نشان می‌دهند.



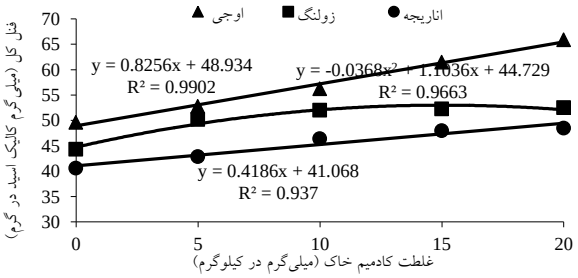
شکل ۱: رابطه بین غلظت کادمیم با کلروفیل a در اوجی، زولنگ و اناریجه



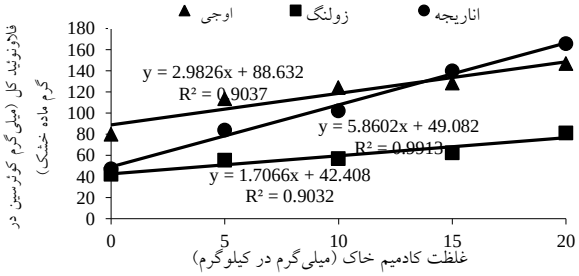
شکل ۲: رابطه بین غلظت کادمیم با کلروفیل b در اوجی، زولنگ و اناریجه



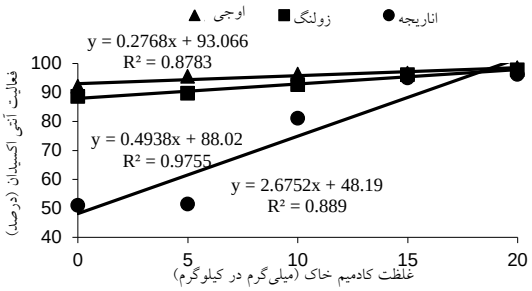
شکل ۳: رابطه بین غلظت کادمیم با کاروتنوئید در اوجی، زولنگ و اناریجه



شکل ٤: رابطه بین غلظت کادمیم با فنل کل در اوجی، زولنگ و اناریجه



شکل ۵: رابطه بین غلظت کادمیم با فلاونوئید کل در اوجی، زولنگ و اناریجه



شکل ٦: رابطه بین غلظت کادمیم با درصد فعالیت آنتی‌اکسیدان در اوجی، زولنگ و اناریجه

اثر غلظت مختلف کادمیم بر ترکیبات فنلی، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدان: اثر کادمیم بر میزان فنل و فلاونوئید در دو گیاه زولنگ و اناریجه در سطح احتمال یک درصد و در گیاه اوجی به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار شد (جدول ١) و با کاربرد کادمیم محتوای فنل کل در اوجی و اناریجه به صورت خطی و در گیاه زولنگ به صورت پلی‌نومیال افزایش یافت؛ که این افزایش فنل در تیمار ٢٠ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک نسبت به شاهد در گیاه اوجی (٣٢/٨٤ درصد) بیشتر از زولنگ (١٨/٤١ درصد) و اناریجه (١٩/٤٩ درصد) بود (شکل ٤). به عبارتی بیشترین مقدار فنل در هر سه گیاه در غلظت ٢٠ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم مشاهده شد. با این حال، در دیگر تیمارها افزایش کمی از فنل دیده شد (شکل ٤). در حالی که میزان فلاونوئید در گیاه اوجی (R^2= ٠/٩٠٣٧) با شیب ٢/٩٨٢٦، در اناریجه (٠/٩٩١٣ =R^2) با شیب ٥/٨٦٠٢ و در زولنگ (٠/٩٠٣٢ =R^2) با شیب ١/٧٠٦٦ واحد افزایش قابل توجهی به صورت خطی با افزایش سطوح کادمیم نشان داد (شکل ٥). در صورتی که تفاوت داده‌های مربوط به سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدان نشان داد اثر غلظت‌های مختلف کادمیم در گیاه اوجی در سطح پنج درصد و زولنگ و اناریجه در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ١). و اناریجه (٠/٨٨٩ =R^2) با شیب ٢/٦٧٥٢ بیشترین تغییرات افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در سطوح کادمیم نشان داد؛ در حالی که کمترین مقدار عددی آنتی‌اکسیدان را نسبت به زولنگ و اوجی داشت (شکل ٦). در این مطالعه گیاه اوجی بیشترین میانگین فنل (٦٥/٨٩ میلی‌گرم در گرم) و فعالیت آنتی‌اکسیدان (٩٨/٤٩ درصد) و گیاه اناریجه بیشترین میانگین فلاونوئید (١٦٥/٦٠ میلی‌گرم در گرم) را در تیمار ٢٠ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک را به خود اختصاص دادند (شکل ٤، ٥ و ٦). در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد روند افزایشی در میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدان با افزایش سطوح کادمیم در هر سه گیاه وجود دارد.

بحث

بررسی اثر کادمیم بر محتویات رنگدانه‌ها: بر اساس یافته‌ها، با افزایش سطوح کادمیم محتویات کلروفیل a و b کاهش یافت (شکل ١ و٢) که با نتایج دیاس و همکاران (Dias et al., 2013) در کاهو (*Lactuca sativa* L.) و زو و همکاران (Xue et al., 2013) در سویا (*Glycine max* L.) مطابقت دارد، که دریافتند در اثر افزایش سطوح کادمیم محتویات کلروفیل کاهش می‌یابد. مشابه نتایج این مطالعه، یعقوبیان و همکاران (Yaghoubian et al., 2016) کاهش خطی در میزان کلروفیل a و b را در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در اثر افزایش سطوح کادمیم گزارش کردند. کاهش کلروفیل می‌تواند به دلیل کاهش سنتز و

تخریب ساختار کلروفیل باشد. یکی از عواملی که باعث کاهش سنتز کلروفیل می‌شود را می‌توان به وجود کادمیمی که در منطقه ریشه مانع جذب عناصری مانند آهن و منگنز می‌شود؛ نسبت داد (Sharma and Dubey, 2005). از آن‌جایی که گلوتامات پیش ماده مشترک سنتز کلروفیل و پرولین است در شرایط تنش، پرولین بیشتری به عنوان تنظیم کننده اسمزی سنتز می‌گردد؛ بنابراین سنتز کلروفیل کاهش می‌یابد (Molazem et al., 2010; Mosavi et al., 2018). دلیل دیگر کاهش کلروفیل مصرف نیتروژن برای سنتز پرولین است (Mosavi et al., 2018). همچنین در گیاهان تحت شرایط تنش به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین کلروفیل در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا فعالیت آنزیم کلروفیلاز ممکن است باعث تخریب ساختار کلروفیل شود (Parvaiz and Satyawati, 2008). حتی جانشینی عناصر سنگین به جای منیزیم نیز باعث تخریب ساختار کلروفیل می‌شود که به دلیل کاهش دریافت نور، فتوسنتز نیز کاهش می‌یابد (Sharma and Dubey, 2005).

کاروتنوئیدها نقش حفاظت کلروفیل‌ها را دارند (Behera and Mishra, 2002)؛ لذا کاهش محتویات کلروفیل می‌تواند به دلیل کاهش در میزان کاروتنوئید باشد. در پژوهش حاضر نیز مشابه یعقوبیان و همکاران (Yaghoubian et al., 2016) با افزایش غلظت کادمیم میزان کاروتنوئید به صورت خطی کاهش یافت (شکل ۳)؛ کاهش محتوی کاروتنوئیدی می‌تواند به دلیل اکسیده شدن آن‌ها توسط گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب ساختار آن‌ها باشد (Khatib et al., 2008). احتمالا در این مطالعه کاهش کمتر کاروتنوئید نسبت به کلروفیل به دلیل حفاظت کلروفیل در شرایط تنش است. از طرفی دیگر فتوسیستم II یک جزء حساس فتوسنتز بوده که تحت تاثیر تنش‌های محیطی می‌باشد و چون کلروفیل b بیشتری در این فتوسیستم موجود است، مقدار تخریب کلروفیل b بیشتر است (Mauchamp and Methy, 2004) که این موضوع در این بررسی در گیاه زولنگ به خوبی مشاهده شد (شکل ۱ و ۲).

از آن‌جایی که میزان بالای کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I را نشان می‌دهد (Tabatabaei et al., 2013). لذا غلظت‌های بالای عناصر سنگین ممکن است روی دستگاه‌های فتوسنتزی، زنجیره انتقال الکترون و متابولیسم کلروفیل تاثیر بگذارد، و سبب ایجاد آسیب سلولی، اختلال در هوموستازی سلول و در نهایت مهار متابولیسم سلولی شود (Anjum et al., 2012). به‌طورکلی کادمیم به عنوان یک عامل اصلی محدود کننده فتوسنتز است که باعث کاهش کلروفیل و آسیب PSII می‌شود و در نهایت محدودیت رشد گیاه را به همراه دارد (Nalousi et al., 2014). احتمالا غلظت بالای عناصر سنگین در محیط منجر به بالا رفتن غلظت این عناصر در بافت‌های گیاه و کاهش محتوای کلروفیل در این گیاهان می‌شود (Amini and Amirjani, 2013).

بررسی اثر کادمیم بر محتویات فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدان: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدان در هر سه گیاه با افزایش سطوح کادمیم افزایش یافت (شکل ٤، ٥ و ٦). همچنین نتایج تحقیق سایر محققین نیز نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدان با میزان فنل و فلاونوئید همبستگی مثبتی وجود دارد (Firouzkoohi et al., 2018). در واقع یکی از سازوکارهای موثر در افزایش میزان تحمل عناصر سنگین تولید و انباشتگی ترکیبات فنلی است. افزایش ترکیبات فنلی در این مطالعه می‌تواند نشانه‌ای از

مکانیسم‌های مقاومت گیاهان در برابر تنش ناشی از کادمیم باشد (Barandeh and Kavousi, 2016). نتایج مطالعه مارکز گارسیا و همکاران (Marquez-García et al., 2012)، نشان داد که محتوای فنل و فلاونوئیدها و همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های بومی *Erica andevalensis* در خاک‌های آلوده به کادمیم افزایش یافت. در مطالعه دیگری نیز کاربرد کادمیم منجر به افزایش معنی‌دار و خطی در فنل‌های گیاه *Vaccinium corymbosum* L. در مقایسه با شاهد شد (Manquián-Cerda et al., 2016). ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند که با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن مانع اکسیداسیون مولکول‌های زیستی حیاتی سلول می‌شوند (Oh et al., 2009) و هم به عنوان ترکیبات کلاته کننده فلزات (Matsouka et al., 2011) نقش مهمی در ایجاد تحمل نسبت به تنش عناصر سنگین در گیاهان به عهده دارند و مانع تنش اکسیداتیو و یا کاهش اثرات آن در سلول‌های گیاه می‌شوند (Oh et al., 2009; Matsouka et al., 2011).

افزایش ترکیبات فنلی می‌تواند به دلایلی از قبیل افزایش فعالیت آنزیم‌هایی که در متابولیسم این ترکیبات وجود دارد (Michalak, 2006) و یا عملکرد محافظتی این ترکیب‌ها علیه تنش توسط به دام‌اندازی عناصر سنگین و حذف گونه‌های فعال اکسیژن باشد (Lavid et al., 2001). اما به نظر می‌رسد میزان افزایش کمتر محتوای فنل و فلاونوئید با افزایش غلظت کادمیم در زولنگ نسبت به اوجی و اناریجه (شکل ٤) احتمالاً به‌دلیل پایین بودن تنش اکسیداتیو در سلول‌های این گیاه باشد (Michalak, 2006).

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، با کاربرد رادیکال پایدار، توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیب‌های شیمیایی و عصاره‌های مختلف از روی میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش DPPH در متانول سنجیده می‌شود (Sanchez-Moreno et al., 1999). در پژوهش حاضر، رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌های موجود در گیاه واکنش داد و رنگ آن کمرنگ شد که نشان‌دهنده افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بود. در این مطالعه تغییر رنگ حاصله از این واکنش بسته به نوع گیاه و سطوح کادمیم متفاوت بود (Demirci et al., 2007). در همین راستا محققان زیادی نیز گزارش کردند پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی به نوع گیاه و غلظت عناصر سنگین بستگی دارد. چرا که گونه‌های مختلف گیاهی فنل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی دارند (Saberi et al., 2018). افزایش ترکیبات فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تمام سطوح نسبت به شاهد (شکل ٤، ٥ و ٦) ممکن است به‌دلیل تحریک سیستم دفاعی گیاهان در پاسخ به تنش ناشی از عناصر سنگین باشد (Khalid et al., 2018).

آسیب‌های وارده ناشی از تنش، زمانی اتفاق می‌افتد که فرایندهای مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مکانیسم‌های سم‌زدایی پایین‌تر از تولید رادیکال‌های آزاد در سلول باشد. بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها می‌باشد و شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از گیاهان را نشان می‌دهد (Ranjbar et al., 2017). به‌دلیل کاهش شاخص‌های مرتبط با رنگدانه می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که این گیاهان تحت تاثیر سمیت کادمیم قرار گرفتند. از آن‌جا که این گیاهان غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند و افزایش این ترکیبات در مواجه با تنش نشان‌دهنده‌ی نوعی مکانسیم دفاعی گیاهان برای مقابله با تنش می‌باشند؛ می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که هر سه گیاه برای مقابله با تنش، میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدان را افزایش داده‌اند. به عبارتی فنل و

فلاونوئید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر کادمیم نقش حفاظتی عمده‌ای در پاسخ به سمیت کادمیم ایفا می‌کنند.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور کلی از یافته‌های این تحقیق، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که این گیاهان مانند بیشتر گیاهان به تنش عناصر سنگین واکنش نشان داده‌اند و سمیت با کادمیم در هر سه گیاه منجر به القاء ترکیبات فنلی شد. از آن‌جا که این گیاهان معطر به عنوان سبزی نیز نقش زیادی در جیره غذایی به ویژه در مناطق شمالی ایران دارند؛ ممکن است علاوه بر عناصر ضروری حتی حاوی عناصر مضر در محدوده وسیعی از غلظت‌ها باشند و این قبیل گیاهان آلوده، یک تهدید برای سلامتی انسان به حساب می‌آیند. لذا لازم است میزان جذب این عناصر هم بررسی گردد و در صورت نتیجه مطلوب، به‌عنوان گیاهی با قابلیت تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عاری از عناصر سنگین توصیه شود.

References

1. Amini, F. and Amirjani, M.R. 2013. Effect of Ni and Pb on chlorophyll content and metals accumulation in *Medicago sativa*. Journal of Crop Production and Processing, 2(6): 11-20.
2. Anjum, N.A., Ahmad, I., Mohmood, I., Pacheco, M., Duarte, A.C., Pereira, E., Umar, S., Ahmad, A., Nafees A.K., Iqbal, M. and Prasad, M.N.V. 2012. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids- a review. Environmental and Experimental Botany, 75: 307-324.
3. Asgari Lajayer, H., Najafi, N. and Moghiseh, I. 2014. The effect of soil pollution to heavy metals on the production of medicinal plants. Journal of Land Management, 2(2): 111-122.
4. Barandeh, F. and Kavousi, H.R. 2016. Effect of cadmium on changes of some enzymatic and none-enzymatic antioxidant defense systems in lentil seedlings (*Lens culinaris* Medik.). Iranian Journal of Pulses Research, 7(2): 125-137.
5. Behera, R.K. and Mishra, P.C. 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.
6. Bonilla, J., Atarés, L., Chiralt, A., and Vargas, M. 2011. Recent patents on the use of antioxidant agents in food. Food, Nutrition and Agriculture, 3(2):123-132.
7. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in vegetables by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-82.
8. Demirci, B., Kosar, M., Demirci, F., Dinç, M. and Başer, K.H.C. 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. Kotschy. Food Chemistry, 105(4): 1512-1517.
9. Dias, M.C., Monteiro, C., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Goncalves, B. and Santos, C. 2013. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. Acta Physiologiae Plantarum, 35(4): 1281-1289.
10. Dudjak, J., Lachman, J., Miholova, D., Kolihova, D. and Pivec, V. 2004. Effect of cadmium on polyphenol content in young barley plants (*Hordeum vulgare* L.). Plant Soil Environment, 11(11): 471-477.
11. Duruibe, J.O., Oguwuegbu, M.O.C. and Egwurugwu, J.N. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. International Journal of Physical Sciences, 2(5): 112-118.
12. Emmaline, J.K.J., Sharmila, S. and Jeyanthi L.R. 2016. Effect of heavy metals and UV irradiation on the production of flavonoids in *Indigofera tinctoria*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 39(2): 104-107.

13. Farhoosh, R. and Moosavi, S.M.R. 2006. Determination of carbonyl value in rancid oils: a critical reconsideration. Journal of Food Lipids, 13(3): 298-305.
14. Firouzkoohi, F., Esmaeilzadeh Bahabadi, S., Mohkami, Z. and Yosefzaei, F. 2018. The effect of different solvents on total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of different organs of *Momordica charantia* L. cultured in Sistan region. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 5(4): 74-85.
15. Ghorbani, H., Heidari, M. and Ghafari, M. 2016. Effect of salinity levels and lead and cadmium heavy metals on growth, photosynthetic pigments and sodium and potassium content in spinach. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 7(1): 15-24.
16. Girdhar, M., Sharma, N.R., Rehman, H., Kumar, A. and Mohan, A. 2014. Comparative assessment for hyperaccumulatory and phytoremediation capability of three wild weeds. 3 Biotech, 4(6): 579-589.
17. Good, A. and Zaplachiniski, S. 1994. The effects of drought on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. Physiolgia Plantarum, 90(1): 9-14.
18. Habibzadeh, F. and Asghari, B. 2018. Study the effect of intercropping and chemical fertilizers on essential oil, phenolic and flavonoid contents and some biological properties of *Hyssopus officinalis* L. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 3(6): 96-110.
19. Hashem, A., Abd-Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Malik, J.A., Wirth, S. and Egamberdieva, D. 2016. Role of calcium in AMF-mediated alleviation of the adverse impacts of cadmium stress in *Bassia indica* [Wight] A.J. Scott. Saudi Journal of Biological Sciences, 10: 1-11.
20. Huang, Y., He, C., Shen, C., Guo, J., Mubeen, S., Yuan, J. and Yang, Z. 2017. Toxicity of cadmium and its health risks from leafy vegetable consumption. Food and Function, 8(4): 1373-1401.
21. Jia, W., Lv, S., Feng, J., Li, J., Li, Y. and Li, S. 2016. Morphophysiological characteristic analysis demonstrated the potential of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in the phytoremediation of cadmium-contaminated soils. Environmental Science and Pollution Research, 23(18): 18823-18831.
22. Kamal, M., Ghaly, A.E., Mahmoud, N., and Cote, R. 2004. Phytoaccumulation of heavy metals by aquatic plants. Environment International, 29(8): 1029-1039.
23. Khalid, N., Noman, A., Aqeel, M., Masood, A. and Tufail, A. 2018. Phytoremediation potential of *Xanthium strumarium* for heavy metals contaminated soils at roadsides. International Journal of Environmental Science and Technology, 15(97): 1-10.
24. Khatib, M., Rashed Mohasel, M., Ganjali, A. and Lahouti, M. 2008. The effects of different nickel concentrations on some morpho-physiological characteristics of parsley (*Petroselinum crispum*). Iranian Journal of Field Crops Research, 2: 295-302.
25. Kozminska, A., Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, E. and Muszynska, E. 2018. Recent strategies of increasing metal tolerance and phytoremediation potential using genetic transformation of plants. Plant Biotechnology Reports, 12(1): 1-14.
26. Lavid, N., Schwartz, A., Yarden, O. and Tel-Or, E. 2001. The involvement of polyphenols and peroxides activities in heavy metal accumulation by epidermal glands of waterlily (Nymphaeceaea). Planta, 212(3): 323-331.
27. Majer, B.J., Tscherko, D. and Paschke, A. 2002. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in Tradescantia and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. Mutation Research, 515: 111-124.
28. Manquián-Cerda, K., Escudey, M., Zuniga, G., Arancibia-Miranda, N., Molina, M. and Cruces, E. 2016. Effect of cadmium on phenolic compounds, antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) plantlets grown in

vitro. Ecotoxicology and Environmental Safety, 133: 316-326.
29. Marquez-García, B., Fernández-Recamales, M.A. and Córdoba, F. 2012. Effects of cadmium on phenolic composition and antioxidant activities of *Erica andevalensis*. Journal of Botany, 1-6.
30. Matsouka, I., Beri, D., Chinou, I., Haralampidis, K. and Spyropoulos, C.G. 2011. Metals and selenium induce medicarpin accumulation and excretion from the roots of fenugreek seedlings: a potential detoxification mechanism. Plant Soil Published online, 343(1-2): 235-245.
31. Mauchamp, A. and Methy, M. 2004. Submergence-induced damage of photosynthetic apparatus in *Phragmites australis*. Environmental and Experimental Botany, 51(3): 227-235.
32. Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies, 15(4): 523-530.
33. Molazem, D., Qurbanov, E.M. and Dunyamaliyev, S.A. 2010. Role of proline, Na and chlorophyll content in salt tolerance of corn (*Zea mays* L.). American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 9(3): 319-324.
34. Morteza-Semnani, K., Saeedi, M. and Akbarzadeh, M. 2009. The essential oil composition of *Froriepia subpinnata* (Ledeb.) Baill. Journal of Essential Oil Research, 21(2): 127-128.
35. Mosavi, N., Ebadi, M., Khorshidi, M., Masoudian, N. and Hokmabadi H. 2018. Study of some physiological characteristics of potato tissue under salinity stress. International Journal of Farming and Allied Sciences, 7(1): 1-5.
36. Nalousi, A., Hatamzadeh, A., Ghasemnezhad, M. and Alibiglouei, M. 2014. The study of physiological and biochemical responses of *Agrostis stolonifera* and *Festuca arundinacea* Schreb. Under drought stress. Iranian Journal of Plant Biology, 22: 105-116.
37. Oh, M.M., Trick, H.N. and Rajasheka, C.B. 2009. Secondary metabolism and antioxidant are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. Journal of Plant Physiology, 166(2): 180-191.
38. Oliver, D. and Naidu, R. 2003. Uptake of Cu, Pb, Cd, As and DDT by vegetables grown in urban environments. National Environmental protection and Heritage council, Proceedings of the Fifth National Workshop on the Assessment of Site Contamination, 150-161.
39. Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. Plant Soil Environment, 54: 89-99.
40. Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Research, 73(1-3): 149-156.
41. Prasad, S.M. and Singh, A. 2011. Metabolic responses of *Azolla pinnatato* cadmium stress: photosynthesis, antioxidative systemand phytoremediation. Chemistry and Ecology, 27(6): 543-555.
42. Ranjbar, M., Mohammadi, M. and Amjad, L. 2017. Lead and spermidine interact on physiological and biochemical indexes of plants *Salvia officinalis* L. Journal of Plant Process and Function Iranian Society of Plant Physiology, 6(21): 103-114.
43. Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Ibrahim, M., Tsang, D.C.W., Zia-ur-Rehman, M., Zahir, Z.A., Rinklebe, J., Tackf, F.M.G. and Ok, Y.S. 2017. A critical review on effects, tolerance mechanisms and management of cadmium in vegetables. Chemosphere, 182: 90-105.
44. Saberi, M., Niknahad, H., Heshmati, G.A, Barani, H. and Alireza Shahriari, A.R. 2018. Evaluation of the content and performance of some active ingredients extracts of *Citrullus colocynthis* organs from two habitats of Sistan and Balochestan province in different growth stages. Journal of Plant Ecosystem Conservation, 6(11): 49-63.
45. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura-Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity of selected red, rose and white wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 79: 1301-1304.

46. Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Niazi, N.K.and Antunes, P.M.C. 2017. Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 241: 73-137.
47. Sharma, P. and Dubey, R.S.H. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, 17(1): 35-52.
48. Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152-178.
49. Tabatabaei, S., Shakeri, E. and Shahedi, M. 2013. Investigation of yield, yield components changes and some physiological characteristics of barley genotypes under irrigation tension conditions. Crop Physiology Journal, 5(18): 101-114.
50. Wang, P., Su, Z., Yuan, W., Deng, G. and Li, S. 2012. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). Pharmaceutical Crops, 3: 99-120.
51. Xue, Z.C., Gao, H.Y., and Zhang, L.T. 2013. Effects of cadmium on growth, Photosynthetic rate, and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings. Biologia Plantarum, 57(3): 587-590.
52. Yaghoubian, Y., Siadat, S.A., Moradi Telavata, M.R. and Pirdashti, H. 2016. Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. Russian Journal of Plant Physiology, 63(1): 77-84.

Study the effect of cadmium on plant pigments and antioxidant compounds of *Mentha aquatica* L., *Eryngium caucasicum* Trautv. and *Froriepia subpinnata* Ledeb.

R. Hasanpour[1], F. Zafarian[2*], M. Rezvani[3] and B. Jalili[4]

[1]Ph.D Student., Dept. of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[2]Associate Prof., Dept. of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[3]Associate Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

[4]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Received: 2018-11-27 Accepted: 2019-5-15

Abstract

Cadmium is one of the most dangerous heavy metals that enter to soil naturally or by human activity and causes oxidative stress in plants. Therefore, this study was conducted to evaluate the effect of cadmium on some of the physiological responses of three aromatic plants including *Mentha aquatica* L., *Eryngium caucasicum* Trautv. and *Froriepia subpinnata* Ledeb. In three greenhouse experiments, five concentrations of cadmium containing 0, 5, 10, 15 and 20 mg/kg soil was investigate in a completely randomized design with four replications at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, in 2017. All three plants seedlings were transplanted in cadmium contaminated pots. In before flowering stage chlorophyll a, b, carotenoid, phenol, flavonoid and antioxidant capacity of shoots were measured. Chlorophyll a, b and carotenoid content were measured by using leaf methanolic extract. Total phenol, total flavonoid and antioxidant activity of shoots hydroethanolic extract, were respectively performed using the Folin-Ciocalteu reagent, $AlCl_3$ method and DPPH. The results were showed that leaf pigment in all three plants decreased linearly with increasing cadmium level, but the rate of carotenoid reduction was lower than chlorophyll a and b reduction. While flavonoid, phenol and antioxidant capacity of plants increased with increasing cadmium level. *M. aquatica* had the average highest phenol (65.89 mg/g) and antioxidant activity (98.49%) than other two plants. *F. subpinnata* had the average highest flavonoid (165.06 mg/g). Finally, the results showed that plant pigments were affected by cadmium toxicity, and since these plants are rich in antioxidant compounds, the increase of these compounds with increment of cadmium stress is a kind of defence mechanism of three plants for conflict with stress.

Keywords: Antioxidant, Aromatic plants, Chlorophyll, Flavonoid, Heavy metals, Phenol.

[*]Corresponding author; fa_zaefarian@yahoo.com