ارزیابی میزان انباشتگی کادمیوم و جذب عناصر ریزمغذی در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* Linn) تحت تنش کلریدکادمیوم

رقیه حیدری[a]، الهام محجل کاظمی[b]، هوشنگ نصرتی[c]، مریم کلاهی[*d]، علی موافقی[c]

[a] دانشجوی دکتری گروه علوم گیاهی، سلولی مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[b] دانشیار گروه علوم گیاهی، سلولی مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[c] استاد گروه علوم گیاهی، سلولی مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[d] دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۷/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۳۰
DOI: 10.30495/jftn.2023.75567.11282

چکیده

مقدمه: کادمیوم به عنوان یک عنصر سنگین و بسیار سمی، به دلیل تحرک و حلالیت زیاد تهدید جدی برای سلامتی انسان و سایر موجودات به شمار می‌آید. فلز کادمیوم از طریق عدم ایجاد نشانه سمیت، در بافت‌های گیاهان انباشته شده و به زنجیره غذایی انسان راه می‌یابد. میزان انتقال کادمیوم از سبزیجات به رژیم غذایی انسان به انباشتگی آن در بخش‌های مختلف گیاه بستگی دارد. بر همین اساس به منظور بررسی میزان جذب فلزات سنگین توسط گیاه کاهو، این پژوهش با هدف ارزیابی میزان انباشتگی و آلودگی کادمیوم در اندام‌های مختلف گیاه کاهو انجام شد.

مواد و روش‌ها: بذر گیاهچه کاهو (*Lactuca sativa Linn*) پس از استریل شدن در گلدان حاوی پرلیت و کوکوپیت (با نسبت ۲ به ۱) اتوکلاو شده کشت داده شد. گلدان‌ها تحت شرایط گلخانه ای ۱±۲۵ (دمای روز) و ۱±۲۰ (دمای شب) و شرایط نوری روشنایی/تاریکی قرار داده شدند. حدود سه هفته پس از رسیدن گیاهان به مرحله سه برگی، گیاهچه ها با استفاده از کلریدکادمیوم در ۳ تکرار و ۴ غلظت (۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت) هر ۳ روز یکبار تیماردهی شدند. پس از انجام ۵ مرحله تیماردهی و ۲۸ روز پس از کشت، از برگ سوم گیاهان جهت مطالعات مورد نظراستفاده شد.

یافته‌ها: در حضور کادمیوم محتوی فنل کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهو نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. همچنین، با توجه به نتایج با افزایش غلظت کادمیوم در میزان پروتئین کل، قند محلول، آمینواسیدهای آزاد، پرولین، مالون دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن گیاه کاهو نسبت به نمونه شاهد افزایش مشاهده شد ($P<0/05$). با افزایش اعمال کادمیوم به گیاه کاهو تجمع کادمیوم در ریشه و اندام هوایی سیر صعوی نشان داد به‌طوری‌که، افزایش در ریشه به مراتب بیشتر از اندام هوایی کاهو بود.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که گیاه کاهو به عنوان یک گیاه انباشته کننده کادمیوم با قابلیت تجمع بالای فلزات سنگین در ریشه و اندام هوایی است. به همین منظور، لزوم مدیریت کشت سبزیجات در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین جهت حفظ سلامت مصرف‌کنندگان امری ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: *انباشتگی کادمیوم، سمیت کادمیوم، کاهو، محتوی پروتئین*

[*] نویسنده مسئول مکاتبات email: m.kolahi@scu.ac.ir

مقدمه

فلزات سنگین از مهمترین آلاینده‌های زیست محیطی به شمار می‌آیند که معمولا در بافت تازۀ گیاهان یافت می‌شوند. کادمیوم یکی از متحرک‌ترین و سمی‌ترین عناصر در محیط است که از طریق صنایع متالوژی، فاضلاب‌های صنعتی و استفاده بیش از حد از کودهای فسفاته وارد خاک و آب‌های زیرزمینی می‌شود. به دلیل توانایی آن برای تجمع در اندام‌های گیاهی بدون ایجاد سمیت، آلودگی کادمیوم در خاک‌های کشاورزی یک مشکل زیست محیطی جدی است (Kubier *et al*., 2019). وجود فلزات سنگینی مانند کادمیوم در خاک علاوه بر کاهش کیفیت و عملکرد محصولات، پایداری تولیدات کشاورزی و سلامت انسان‌ها را با خطرات جدی مواجه می‌کند. مصرف غذاهایی با منشأ گیاهی از قبیل میوه، سبزی، غلات و حبوبات حدودا نیمی از میانگین کادمیوم را به خود اختصاص می‌دهد. فعالیت‌های صنعتی و معادن به‌طور وسیعی در شهرهای کلان منجر به گسترش آلودگی خاک به فلزات سنگین شده است. ورود کادمیوم به بدن انسان‌ها از طریق روش‌های مختلفی از جمله استنشاق گرد وغبار و استفاده از گیاهان رشدیافته در مناطق آلوده به کادمیوم صورت می‌گیرد. فلزات سنگین به محض ورود به بدن، در بافت‌هایی مانند چربی، عضلات، استخوان‌ها و مفاصل رسوب کرده و تجمع پیدا می‌کنند، که این موضوع سبب ایجاد عوارض متعدد و جبران ناپذیری از جمله سرطان، فشار خون بالا و آمفیزوم می‌شود (Suhani *et al*., 2021). کادمیوم پس از جذب به سراسر بدن منتقل می‌شود و معمولاً با یک دسته پروتئین حاوی سولفیدریل مانند متالوتیونین واکنش می‌دهد. به طور معمول ۳۰ درصد کادمیوم ذخیره شده در کبد و کلیه با نیمه عمر بیولوژیکی ۱۰ تا ۳۰ سال، انباشته می شود و حدود ۷۰ درصد آن در سرتاسر بدن پخش می شود. طبق استانداردهای سازمان جهانی بهداشت (WHO)، مصرف مناسب هفتگی کادمیوم ۷ میلی‌گرم بر گرم وزن بدن است. مقدار قابل قبول کادمیوم در لجن کشاورزی ۸۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و حداکثر ۳۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور متوسط ماهانه است (Zulfiqar *et al*., 2022). مشخص شده است که در معرض کادمیوم قرار گرفتن گیاهان باعث تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و همچنین القای استرس اکسیداتیو به دلیل اختلال در هموستاز سلولی می‌شود. در نتیجه، اکسید شدن پروتئین‌ها، اختلال در سنتز کربوهیدرات‌ها، آسیب به اسیدهای نوکلئیک، مهار آنزیم‌ها و در نهایت مرگ برنامه ریزی شده سلول‌ها رخ می‌دهد (Genchi *et al*., 2020). بخش قابل توجهی از سمیت کادمیوم در گیاهان نتیجه تعامل و رقابت با سایر ریز مغذی‌ها و همچنین تداخل آن با توانایی غشاء در جذب ریزمغذی‌های ضروری مانند پتاسیم (K)، سدیم (Na)، کلسیم (Ca) است (Luo and Zhang, 2021).

سبزیجات برگی به جهت دارا بودن کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و عناصر معدنی یکی از مهمترین اجزای رژیم غذایی سالم برای مصرف‌کنندگان است. مطالعات پژوهشگران نشان از آن دارد که استفاده از سبزی سالم و بهداشتی می‌تواند، از بروز بیماری‌های قلبی و برخی از انواع سرطان‌ها به خصوص سرطان گوارش جلوگیری کند. کاهو (*Lactuca sativa* Linn.) گیاهی یکساله از خانواده Asteraceae است که حاوی ویتامین‌های A، B، K و مواد معدنی ضروری مانند کلسیم، فسفر، آهن، پتاسیم، سدیم و همچنین مقدار کمی منیزیم و گوگرد است (Abdalla *et al*., 2021). وجود متابولیت های ثانویه مانند ترپنوئیدها و فلاونوئیدها نشان دهنده خواص دارویی کاهو است. تسکین درد، تسکین درد معده و بهبود عفونت‌های ادراری از مهمترین خواص دارویی کاهو است. بر اساس آمار سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) تولید انواع کاهو طی دو دهه گذشته در جهان رشد ۱۱۸ درصدی داشته است و به این ترتیب این محصول از نظر افزایش سطح زیر کشت پس از ذرت، برنج، سیب زمینی و گوجه فرنگی در رتبه پنجم جهان قرار گرفته است (Roa, 2023).

در سال‌های اخیر با توجه به افزایش آگاهی مردم از ارزش غذایی بالای سبزیجات برگی، در بین جوامع شهری استفاده از سبزیجات رو به افزایش است. سبزیجاتی مانند کاهو از یک سو مهمترین سبزی پهن برگ و پرمصرف، با داشتن انواع ویتامین‌ها، مواد معدنی، پروتئینی، سلولزی، آهن و کلسیم، بیشترین مصرف‌کنندگان را به خود اختصاص داده‌اند و جز محصولات پراهمیت و اساسی در سلامتی انسان نقش بسزایی ایفا می‌کنند از سویی دیگر، یکی از مهمترین منابع روزانه انتقال آلودگی، فلزات سنگین

به انسان‌ها می‌باشد. طبق مطالعات انجام شده کادمیوم یکی از محصولات جانبی کارخانجات و صنایع به شمار می‌رود که علاوه بر آلودگی محیط زیست، خطر آلودگی منابع غذایی از جمله سبزی کاهو را به همراه دارد. با توجه به اهمیت مصرف سبزیجات آلوده به کادمیوم و ورود فلزات سنگین به چرخه غذایی انسان‌ها در کشورهای در حال توسعه، و همچنین، با توجه به اینکه کاهو به‌عنوان گونه‌ای مناسب جهت بررسی غلظت تجمع یافته عناصر بالقوه سمی در بافت‌های این گونه، می‌تواند برای حفظ سلامتی مصرف کنندگان حائز اهمیت باشد، بنابراین، این مطالعه با هدف ارزیابی میزان ورود و انباشتگی فلز سنگین کادمیوم در بخش زیرزمینی و انتقال آن به بخش خوراکی گیاه پرمصرف کاهو و تاثیر آن بر سیستم تغذایه‌ای گیاه (رقابت کادمیوم با جذب سایر عناصر ریزمغذی) انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بصورت طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه سیتوشیمی دانشگاه تبریز در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۰ انجام گردید. بذر گیاهچه کاهو (*Lactuca sativa* Linn.) در دانشگاه تبریز تهیه شده سپس عمل استریل بذرهای گیاه کاهو انجام شد. بذرها به تعداد ۱۰ عدد در گلدان‌های (قطر ۱۲ و ارتفاع ۱۵ سانتی متر) حاوی پرلیت و کوکوپیت (با نسبت ۲ به ۱) اتوکلاو شده کشت داده شدند. در ادامه، گلدان‌ها تحت شرایط گلخانه‌ای ۱±۲۵ (دمای روز) و ۱±۲۰ (دمای شب) و شرایط نوری روشنایی/تاریکی ۸/۱۶ قرار داده شدند. پس از جوانه‌زنی بذرها، دانه رست‌ها با استفاده از محلول هوگلند ۲۵ ٪ (pH=۵/۸-۶) و سپس محلول هوگلند ۵۰ ٪ و در انتها با هوگلند کامل، هفته ای دو مرتبه آبیاری شدند. حدود سه هفته پس از رسیدن گیاهان به مرحله سه برگی، گیاهچه‌ها با استفاده از کلریدکادمیوم در ۳ تکرار و ۴ غلظت (۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت) هر ۳ روز یکبار تیماردهی شدند. قبل از هر بار تیماردهی گلدان‌ها با آب مقطر شستشو داده شدند تا کادمیوم موجود در پرلیت به‌طور کامل حذف شود. پس از انجام ۵ مرحله تیماردهی و ۲۸ روز پس از کشت، از برگ سوم گیاهان جهت مطالعات مورد نظراستفاده شد. به‌طوری‌که، جهت مطالعات بیوشیمیایی از نمونه‌های تازه استفاده شد و برای سنجش عناصر معدنی مغذی نمونه‌های ریشه و برگ به آون جهت خشک شدن انتقال داده شدند.

- **سنجش محتوی فنل**

از معرف فولین سیوکالچو محتوی فنل کل عصاره‌ها استفاده شد (Meda *et al*., 2005). از محلول گالیک اسید به عنوان استاندارد در این سنجش استفاده شد و در ادامه با استفاده از منحنی معادله، محتوی فنل کل تعیین شد. محلول‌های کربنات سدیم ۲٪ (Na_2CO_3)، معرف فولین سیوکالچو ۵۰٪ (V/V) و محلول گالیک اسید با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر در اندازه‌گیری فنل کل مورد استفاده قرار گرفتند.

سنجش مقدار فنل کل: مقدار ۰/۱ گرم از بافت برگی در ۲ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد ساییده شد و بعد در لوله‌های آزمایش مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی ریخته شد. به هرکدام از لوله‌ها به ترتیب مقادیر ۲/۸ میلی لیتر آب دیونیزه، ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۲ ٪ و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالچو افزوده شد. مخلوط بدست آمده ورتکس شده و در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد و جذب محلول‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به نمونه‌ی شاهد قرائت شد. در انتها، داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر گیاه بیان شدند.

- **سنجش محتوی فلاونوئید**

از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم‌کلراید، همراه با تغییراتی جهت سنجش فلاونوئید کل انجام شد (Chang *et al*., 2002). برای تعیین مقدار فلاونوئید کل در هریک از نمونه‌ها از منحنی استاندارد کوئرستین استفاده شد. در این سنجش محلول‌هایی شامل متانول ۸۰ ٪، استات پتاسیم ۱ مولار و محلول کلریدآلومینیوم ۶ آبه ۱۰ ٪ مورد استفاده قرار گرفتند.

سنجش مقدار فلاونوئید کل عصاره‌های گیاهی: مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی در لوله‌های آزمایش حاوی متانول ۸۰ ٪ ریخته شد و سپس به هر یک از لوله‌ها به ترتیب، مقادیر ۱/۵ میلی لیتر متانول ۸۰ ٪، ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیم کلراید ۱۰ ٪، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط حاصل ورتکس شده و در دمای اتاق به مدت ۴۰

دقیقه قرار گرفت. جذب محلول‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به نمونه‌ی شاهد اندازه‌گیری شد. مقدار فلاونوئید کل عصاره‌ها با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد قرائت شد. در انتها، مقدار فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر گیاه بیان شد.

- **سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH**

به منظور سنجش DPPH مقدار ۰/۱ گرم بافت برگ در ۵ میلی‌لیتر متانول مخلوط شد و در دور g ۱۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس، ۱۰۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت با استفاده از متانول به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شده و در ادامه ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴ DPPH% به آن افزوده شد. مخلوط بدست آمده به خوبی ورتکس شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی، در طول موج ۵۱۷ نانومتر نسبت به شاهد جذب نمونه‌ها خوانده شد. در انتها درصد مهار رادیکال آزاد براساس فرمول زیر محاسبه شد (Miliauskas *et al.*, 2004).

$$\%I = (A\ control - A\ sample) / A\ control \times 100$$

A control: جذب محلول کنترل در طول موج ۷۶۹ نانومتر

A Sample: جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۹

- **سنجش محتوی قند محلول**

از روش فنل–اسیدسولفوریک جهت اندازه‌گیری قندهای محلول استفاده شد (Kochert, 1978). به این ترتیب که، ۰/۰۵ گرم از پودر بافت خشک شده گیاهی را در لوله آزمایش ریخته و سپس ۵ میلی‌لیتر الکل اتانول ۷۰ ٪ اضافه گردید و به مدت یک هفته در نگهداری شد. پس از گذشت زمان مورد نیاز، نمونه‌ها را با استفاده از کاغذ صافی، صاف شده و عمل جداسازی بخش‌های محلول و رسوب از هم انجام پذیرفت. بخش محلول، برای اندازه‌گیری قند محلول مورد استفاده قرار گرفت. به منظور سنجش قند محلول، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول با استفاده از ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ و ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ ٪ مخلوط شده و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر بررسی شد.

- **سنجش محتوی پروتئین کل**

جهت انجام محاسبات نهایی آنزیم‌ها، سنجش مقدار کمی پروتئین‌ها ضروری است. برای این عمل از روش برادفورد (Bradford *et al.*, 1976) استفاده شد که در مقایسه با سایر روش‌ها از سرعت عمل و سهولت بیشتری برخوردار است و با آن روش می‌توان مقدار پروتئین‌ها را تا حد میکروگرم اندازه‌گیری کرد. جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین‌ها از عصاره‌های تهیه شده برای سنجش آنزیم‌ها استفاده شد، به این ترتیب که، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به همراه ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر به میکروتیوب جدید انتقال داده شد در ادامه، به تیوب‌ها ۱ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه شده و پس از عمل ورتکس، به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری شدند و در انتها جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. واحد پروتئین بر حسب میلی گرم برگرم وزن تر (mg/g FW) گزارش گردید.

- **سنجش محتوی آمینواسیدهای آزاد**

اندازه‌گیری آمینواسیدهای آزاد با استفاده از معرف نین هیدرین انجام شد (Hwang and Ederer, 1975). جهت آماده سازی معرف نین هیدرین مقدار ۰/۵۵ گرم نین‌هیدرین در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول مخلوط و حل شده و نسبت ۱ به ۵ از عصاره و معرف نین‌هیدرین به عنوان محلول سنجش مورد ارزیابی قرار گرفت. محلول حاصل در بن ماری با دمای ۸۰–۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴–۷ دقیقه قرار داده شد. پس از سرد شدن لوله‌های آزمایش، جذب محلول‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. جهت تهیه منحنی استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۱ میلی‌مولار گلایسین استفاده شد.

- **سنجش محتوی پرولین**

سنجش پرولین آزاد براساس روش Bates و همکاران (۱۹۱۳) انجام شد. در ابتدا به وسیله هاون ۰/۲ گرم از نمونه تر (برگ) در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیک ۳ درصد ساییده شد و عصاره بدست آمده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه، به لوله‌های درب‌دار ۲میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده انتقال داده شد همچنین، مقدار ۲

میلی‌لیتر اسیداستیک‌گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین اضافه گردید. سپس، درب لوله‌ها را بسته و به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در داخل حمام بن‌ماری قرار گرفتند. پس از سرد شدن، مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هریک از لوله‌ها اضافه شد. محلول استاندارد پرولین (۰–۵ میکرومولار) تهیه شد. جذب نمونه‌ها و محلول‌های استاندارد در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار پرولین نمونه‌ها بر حسب میکرومول برگرم وزن تر بیان گردید.

- سنجش محتوی مالون دی‌آلدهید

به منظور بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها، سنجش مالون دی‌آلدهید براساس روش بومیناتان و دوران (Boominathan and Doran, 2002) انجام شد. به این ترتیب که، در حمام یخ عصاره گیاهی در محلول ۰/۱ درصد از تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) استخراج و با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار۵۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت عصاره بدست آمده با محلول TCA 20 درصد به میزان ۲ میلی‌لیتر حاوی TBA (تری باربیتوریک اسید) ۰/۵ درصد در لوله آزمایش مخلوط شدند و در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. در ادامه، عمل سرد شدن لوله‌ها در داخل یخ انجام شد. بعد از سرد شدن رنگ محلول‌ها به رنگ صورتی کمرنگ تغییر یافت. در انتها محلول‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در نهایت مقدار MDA نمونه‌ها برحسب میکرومول بر گرم بافت تر گیاه محاسبه شد.

- سنجش محتوی پراکسید هیدروژن

غلظت پراکسید هیدروژن طبق روش Harinasut و همکاران (۲۰۰۳) اندازه‌گیری شد. در ابتدا عصاره گیاهی در محلول ۰/۱ درصد از تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) استخراج و ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. در ادامه کار، ۰/۵ میلی‌لیتر از سوپرناتانت با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=7) و ۱ میلی‌لیتر محلول یدیدپتاسیم ۱ مولار مخلوط شده و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد. میزان پراکسیدهیدروژن نمونه‌ها براساس واحد میکرومول بر گرم وزن تر گیاه محاسبه گردید جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومترنسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. غلظت پراکسید هیدروژن نمونه‌ها براساس منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف پراکسید هیدروژن (۰–۱۲۰ میکرومول) محاسبه شد و به صورت میکرومول بر گرم وزن تر بیان گردید.

- سنجش غلظت کادمیوم

پودر نمونه‌های خشک شده در آون (۶۰ درجه سانتی گراد، ۷۲ ساعت) به مدت ۸ ساعت در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ در جه سانتی گراد قرار گرفت. سپس ۱ میلی لیتر N HCL ۱ و ۱ میلی لیتر HNO_3 اضافه شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در زیر هود بخار با استفاده از آب مقطر حجم نهایی نمونه‌ها به ۲۰ میلی لیتر رسانده شد. محتوی کادمیوم نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف سنجی جذب اتمی (مدل Shimadzu AA630) اندازه گیری شد (Payehghadr *et al*.,2013).

فاکتور انتقال (TF)، فاکتور تجمع زیستی (BAF) و ضریب انتقال (TC) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Eid and Shaltout, 2016).

TF= Cd shoot/ Cd root
BAF= Cd root/ Cd medium
TC= Cd shoot/ Cd medium
TF = (Translocation factor), BAF = (Bioaccumulation factor), TC = (Translocation coefficient)

- سنجش عناصر غذایی

به پودر نمونه‌های خشک شده (۰/۵ گرم) اسید نیتریک (۱۰ میلی لیتر، ۶۵ درصد) جهت هضم اسیدی اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در زیر هود بخار قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در دمای۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. پس از سرد شدن، به نمونه‌های هضم شدهH_2O_2 (۱ میلی‌لیتر، ۳۰ درصد) اضافه و حرارت داده شد. سپس با استفاده از آب مقطر حجم نهایی نمونه‌ها به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت عناصر معدنی نمونه‌ها با استفاده از طیف سنجی جذب اتمی مدل (Shimadzu AA630) اندازه‌گیری شد و به صورت میلی‌گرم در گرم وزن خشک بیان گردید (Bichi and Ibrahim, 2018).

- **تجزیه و تحلیل آماری**

این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل تمام داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس داده‌ها و بسته نرم افزاری SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, Ⅱ, USA) انجام شد. میانگین ± انحراف معیار برای ارائه تمام داده‌های تجربی به کار گرفته شد و برای تمامی آزمون‌ها از $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری استفاده شد. رسم نمودارها توسط نرم افزار Microsoft Excel 2013 انجام گردید.

یافته‌ها

- **بررسی محتوی فنل و فلاونوئید گیاه کاهو تحت تاثیر کلریدکادمیوم**

همانطور که در نتایج آماری حاصل از جدول ۱ مشاهده می‌شود محتوی فنل و فلاونوئید در خاک آلوده به کادمیوم تحت تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار کلریدکادمیوم قرار گرفت. با مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف کلریدکادمیوم بر میزان فنل و فلاونوئید مشاهده شد که بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت. درگیاهان تحت تاثیر با غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم نسبت به نمونه‌ی شاهد میزان فنل و فلاونوئید به طور معنی‌داری افزایش یافت. تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم با دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم اختلاف معنی‌داری را در میزان فنل کل نشان دادند ولی بین تیمارهای ۳۰ و ۶۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. به‌طوری‌که، میزان فنل و فلاونوئید به ترتیب در تیمار ۳۰ میکروگرم بر گرم پرلیت ۲۲/۷۵ و ۱۳/۱۵ درصد، در تیمار ۶۰ میکروگرم بر گرم پرلیت به ترتیب ۲۳/۴۴ و ۳۴/۲۱ درصد و در تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت ۶۲/۷۵ و ۵۲/۶۳ درصد نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش نشان داد. با توجه به شکل ۱، کمترین محتوی فنل و فلاونوئید مربوط به نمونه‌ی شاهد به ترتیب با مقدار ۱/۴۵mg/g FW و ۰/۳۸ بود و بیشترین مقدار فنل و فلاونوئید در تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم به ترتیب با میزان ۲/۳۶mg/g FW و ۰/۵۸ مشاهده شد ($p < 0.05$) (شکل ۱ a-b).

- **بررسی میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم**

مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد هنگامی که گیاه کاهو تحت تاثیر سطوح مختلف کلریدکادمیوم قرار گرفت تغییرات قابل توجهی مشاهده شد. به‌طوری‌که، فعالیت مهار رادیکال DPPH با افزایش غلظت کلریدکادمیوم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهو نسبت به نمونه‌ی شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بین تیمارهای مختلف کلریدکادمیوم اختلاف معنی‌داری از لحاظ میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. با بررسی نتایج مشخص شد که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت ۳۶/۰۴ درصد نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش نشان داد. به‌طوری‌که، بیشترین و کمترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را به ترتیب تیمارهای ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم و نمونه‌ی شاهد با مقدار ۷۸/۷۳ و ۵۷/۸۷ درصد داشتند ($p < 0.05$) (شکل ۲).

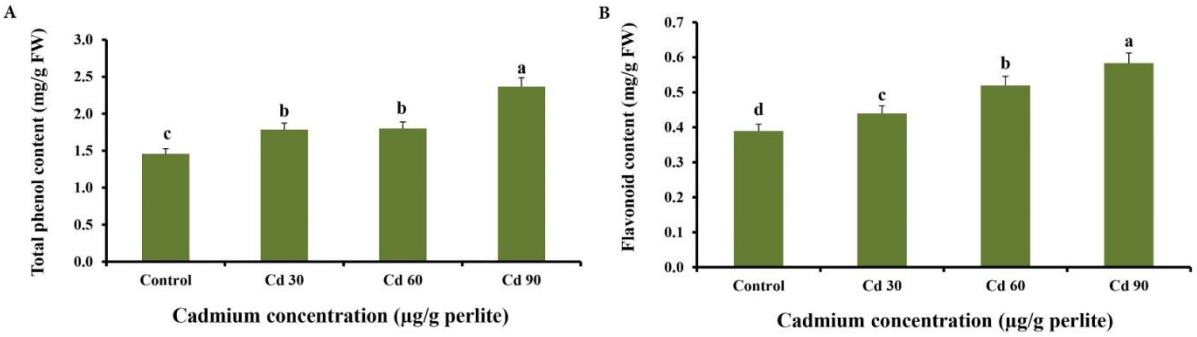

Figure 1- Effects of different concentrations of cadmium chloride on A) Total phenolic content, B) Total flavonoid content

شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر روی A) محتوی فنل کل، B) محتوی فلاونوئید کل.

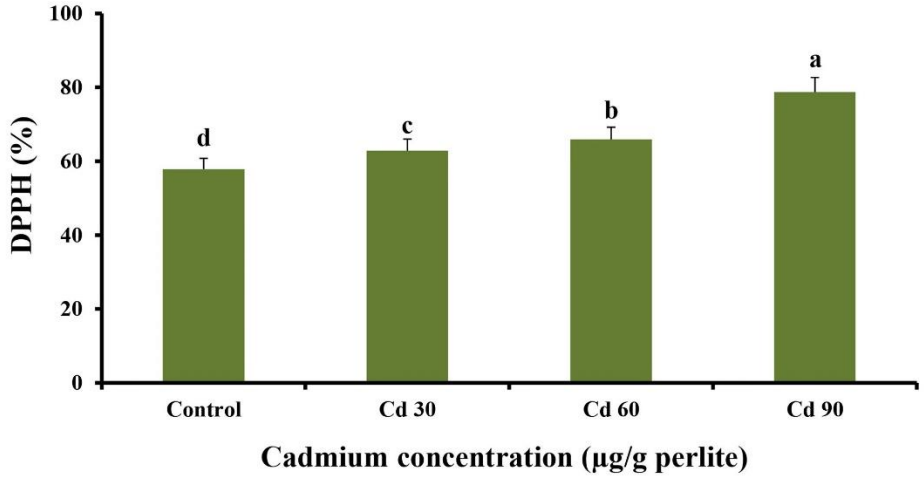

Figure 2- Effects of different concentrations of cadmium chloride on DPPH radical scavenging activity

شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

- بررسی محتوی قند محلول گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

اثر تیماردهی کلریدکادمیوم در سطوح مختلف، محتوی قندمحلول گیاه کاهو را تحت تاثیر قرار داد. نتایج مقایسه‌ی میانگین نشان داد که با افزایش غلظت کلریدکادمیوم میزان قند محلول گیاه کاهو نسبت به نمونه‌ی شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. گیاه کاهو تحت تیمار با ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم بیشترین میزان قند محلول با مقدار۴/۹۹mg/g D.W را نشان داد. در محتوی قند محلول گیاهان تحت تیمار با غلظت ۳۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری کاهش مشاهده شد. به‌طوری‌که، محتوی قندمحلول در گیاهان تحت تیمار با غلظت ۳۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم ۱/۷۸ mg/g DW بود ($p < 0.05$) (شکل ۳).

- بررسی محتوی پروتئین محلول گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

نتایج حاصل از شکل ۴ بیانگر تغییر محتوی پروتئین محلول تحت تیماردهی با کلریدکادمیوم است. مطابق با نتایج حاصل از مقایسه میانگین، با افزایش غلظت کلریدکادمیوم میزان پروتئین کل در گیاه کاهو نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش نشان داد. بین تیمارهای مختلف کلریدکادمیوم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بیشترین و کمترین مقدار پروتئین کل به ترتیب مربوط به تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم و نمونه‌ی شاهد با مقدار ۱۸/۰ mg/g FW و ۷/۰۱ بود ($p < 0.05$) (شکل ۴).

- بررسی محتوی آمینوسیدهای آزاد گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱)، با افزایش غلظت کلریدکادمیوم محتوی آمینواسیدهای آزاد در گیاه کاهو نسبت به نمونه‌ی شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. هر چند که تیمار ۳۰ میکروگرم در گرم پرلیت کادمیوم نسبت به نمونه‌ی شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. به‌طوی‌که، بیشترین محتوی آمینواسیدهای آزاد در تیمارهای ۶۰ میکروگرم برگرم پرلیت کادمیوم با مقدار ۰/۱۵۲ mg/g FW مشاهده شد و کمترین میزان را نمونه‌ی شاهد (۰/۱۰۵ mg/g FW) به خود اختصاص داد ($p < 0.05$) (شکل ۵).

- -بررسی محتوی پرولین گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که بین تیمارهای مختلف نسبت به نمونه‌ی شاهد از لحاظ میزان پرولین در گیاه کاهو تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. با افزایش غلظت کلرید کادمیوم میزان پرولین نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. بیشترین و کمترین میزان پرولین را به ترتیب تیمارهای ۶ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم و نمونه‌ی شاهد با مقدار mg/g FW ۰/۱۴۴ و ۰/۰۷۵ داشتند ($p < 0.05$) (شکل a ۶).

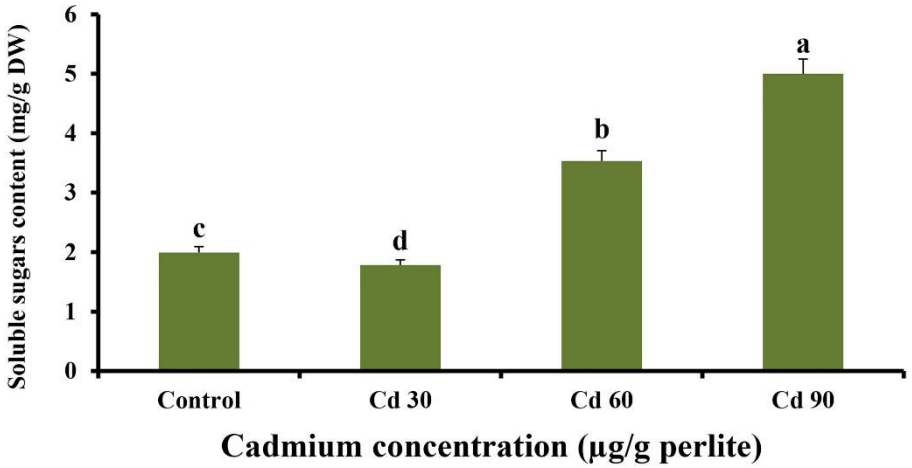

Figure 3- Effects of different concentrations of cadmium chloride on soluble sugar content

شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر روی محتوی قند محلول

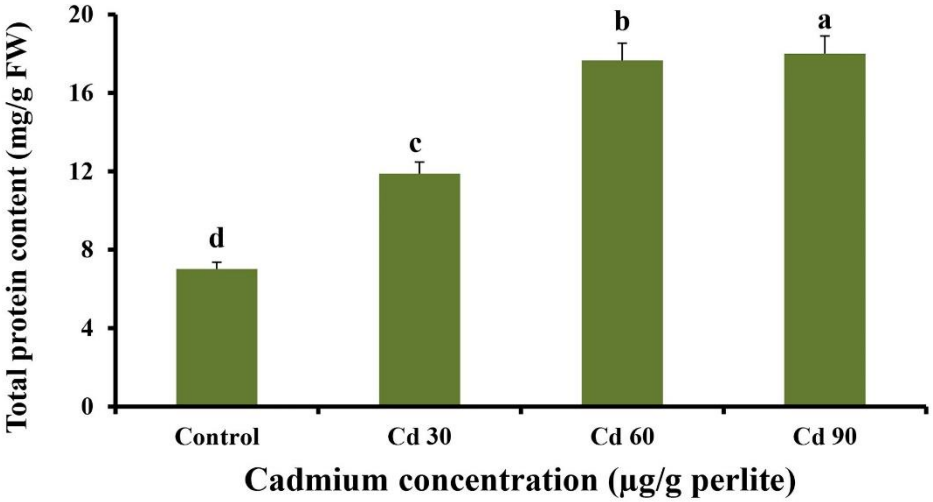

Figure 4- Effects of different concentrations of cadmium chloride on total protein content

شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر روی محتوی پروتئین کل

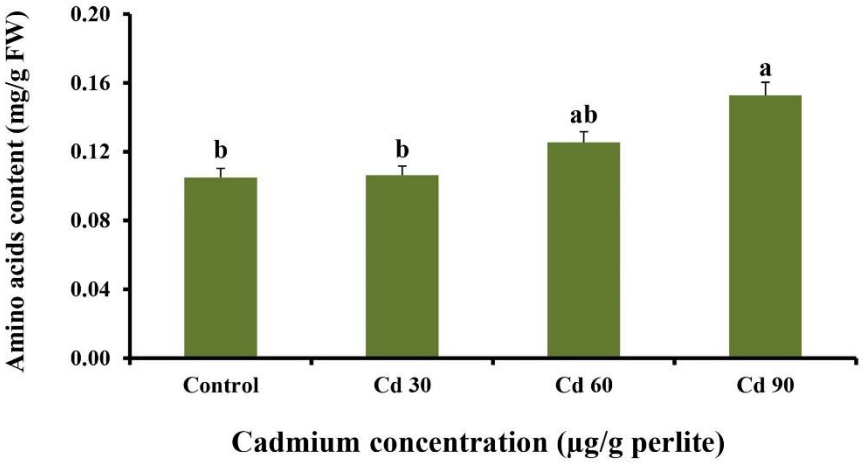

Figure 5- Effects of different concentrations of cadmium chloride on free amino acids content

شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر روی محتوی آمینواسیدهای آزاد

- بررسی محتوی پرولین گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که بین تیمارهای مختلف نسبت به نمونه‌ی شاهد از لحاظ میزان پرولین در گیاه کاهو تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. با افزایش غلظت کلرید کادمیوم میزان پرولین نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. بیشترین و کمترین میزان پرولین را به ترتیب تیمارهای ۶ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم و نمونه‌ی شاهد با مقدار mg/g FW ۰/۱۴۴ و ۰/۰۷۵ داشتند ($p < 0.05$) (شکل ۶ a).

- بررسی محتوی مالون دی‌آلدهید گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

اثر تیماردهی کلریدکادمیوم محتوی مالون دی‌آلدهید گیاه کاهو را تحت تاثیر قرار داد و بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بطوری‌که، با افزایش غلظت کلریدکادمیوم محتوی مالون دی آلدهید گیاه کاهو نسبت به نمونه‌ی شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. بیشترین میزان مالون دی آلدهید را تیمار ۶ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم با مقدار µmol/g FW ۴/۳۹ به خود اختصاص داد ($p < 0.05$) (شکل ۶b).

- بررسی محتوی پراکسید هیدروژن گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

نتایج مقایسه‌ی میانگین محتوی پراکسید هیدروژن نشان داد، زمانی‌که گیاه کاهو تحت تاثیر غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم قرار گرفت محتوی پراکسید هیدروژن نسبت به نمونه‌ی شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. با وجود اختلاف کمی که بین تیمارها وجود داشت ولی این اختلاف معنیداری بود. به‌طوری‌که، بیشترین و کمترین میزان پراکسید هیدروژن را به ترتیب تیمار ۶ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم و نمونه‌ی شاهد با مقدار µmol/g FW ۰/۴۵۵ و ۰/۳۸۵ به خود اختصاص داد ($p < 0.05$) (شکل ۶c).

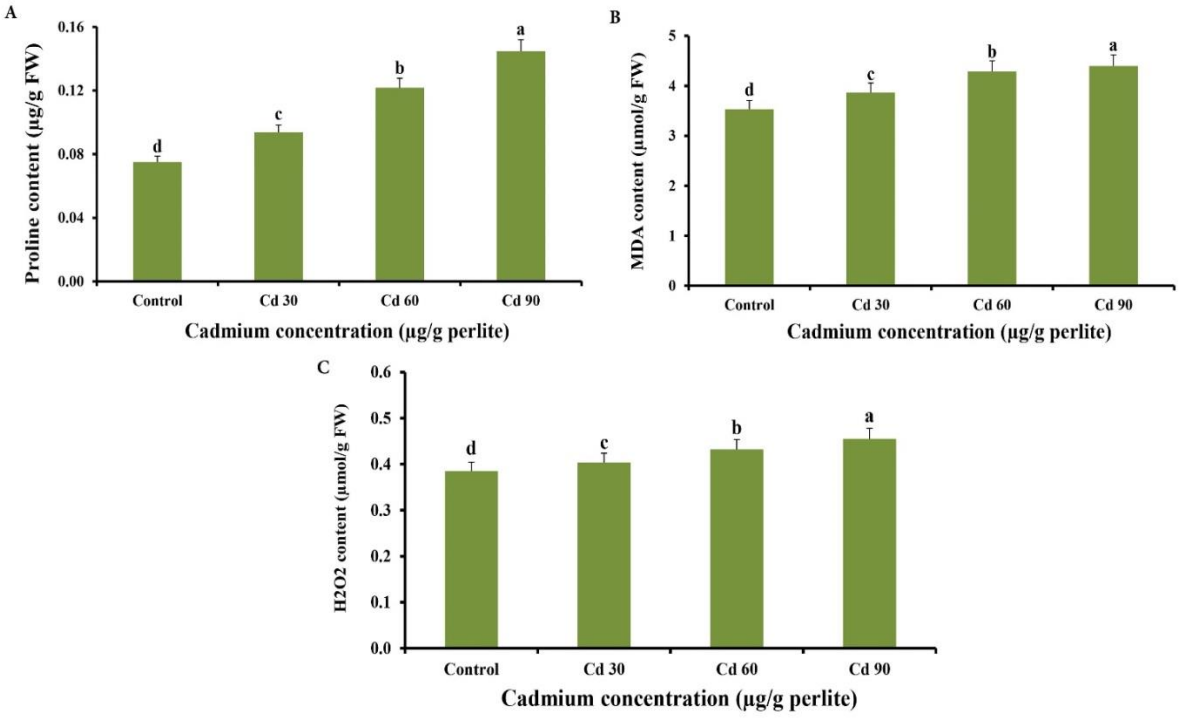

Figure 6- Effects of different concentrations of cadmium chloride on A) Proline content, B) MDA content, C) H_2O_2 content

شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر روی A) محتوی پرولین، B) محتوی مالون دی‌آلدهید، C) محتوی پراکسید هیدروژن

- بررسی میزان فاکتور انتقال، فاکتورهای تجمع زیستی و ضریب انتقال کادمیوم در گیاه کاهو تحت تاثیر کلریدکادمیوم

نتایج مقایسه‌ی میانگین نشان داد که با افزایش غلظت کلریدکادمیوم در محیط ریشه، غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی گیاه کاهو نسبت به نمونه‌ی شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که، افزایش غلظت کادمیوم در ریشه بیشتر از اندام هوایی مشاهده شد. از آنجایی‌که، کاهو به عنوان سبزی برگی توانایی بالایی در جذب و نگداشت کادمیوم دارد در این مطالعه نیز چنین نتایجی یافت شد و رابطه مستقیمی بین افزایش سطوح کادمیوم و میزان بالای تجمع نشان داده شد. بیشترین غلظت کادمیوم در ریشه و اندام هوایی مربوط به تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم به ترتیب mg/g DW ۱/۶۴۱ و ۰/۹۹۸ با مقادیر بود (شکل ۵a-b). همچنین، فاکتور انتقال کادمیوم به دنبال افزایش غلظت کلریدکادمیوم افزایش نشان داد و میزان $TF > 1$ نشان‌دهنده‌ی افزایش انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی گیاه کاهو بود. با لحاظ نمودن این نتایج می‌توان کاهو را جز گیاهان بیش انباشته‌گر در نظر گرفت. بالاترین مقدار TF در تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم با مقدار ۰/۶۰٪ مشاهده شد. به‌طوری‌که، در تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت نسبت به تیمار ۳۰ میکروگرم بر گرم پرلیت ۲۰ درصد از کادمیوم از ریشه به اندام هوایی انتقال یافته است (شکل ۵c). علاوه براین، مقدار فاکتور تجمع زیستی در گیاه کاهو نیز $BAF > 1$ بود که نشان‌دهنده‌ی توانایی بالای ریشه کاهو در جذب و تجمع کادمیوم از محیط ریشه می‌باشد (شکل ۵d). ضریب انتقال کادمیوم $TC > 1$ نیز نشان‌دهنده پتانسیل گیاه در افزایش انتقال کادمیوم از محیط به اندام هوایی گیاه کاهو بود. بنابراین، نتایج بدست آمده گویای این موضوع است که، غلظت کادمیوم در اندام‌های مختلف کاهو، بیشتر از محدوده مجاز اعلام شده توسط سازمان بهداشت جهانی (۰/۶۶ تا ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم (براساس وزن خشک)) بوده و نتایج نشان از انتقال ساده عناصر سنگین از خاک آلوده به گیاه است ($p < 0.05$) (شکل ۷e) (جدول ۲).

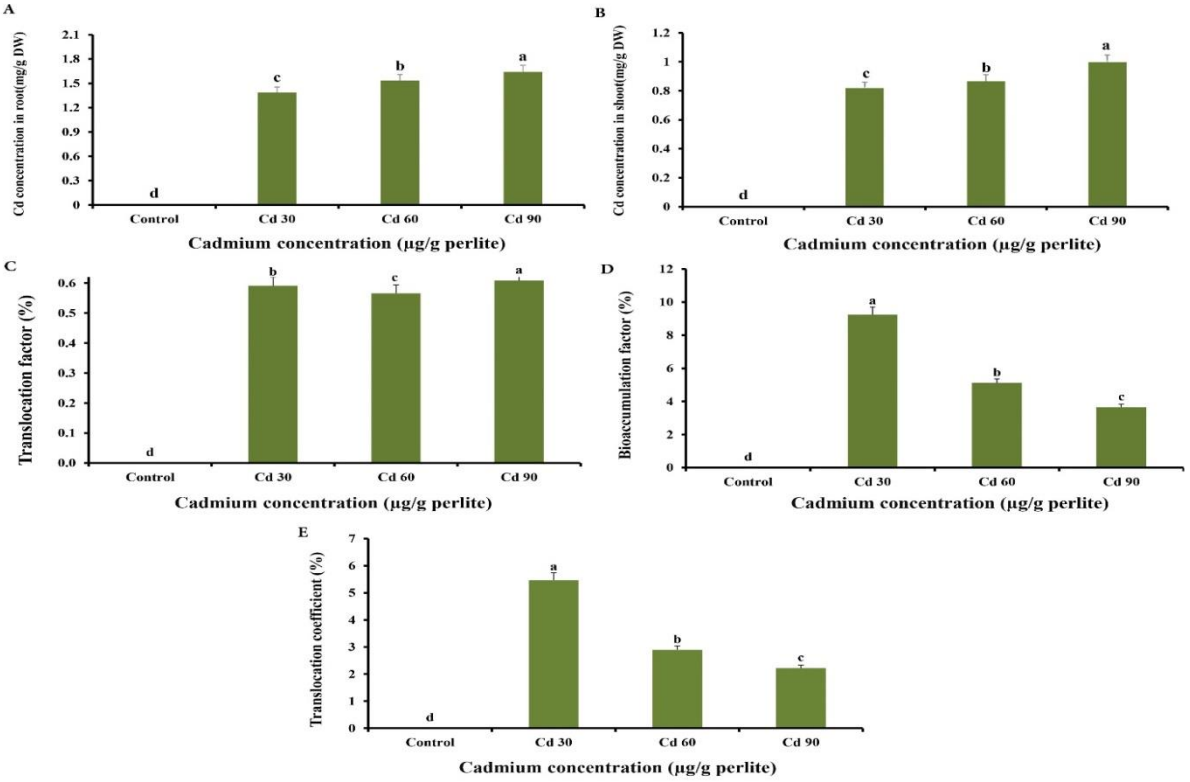

Figure 7- Effects of different concentrations of cadmium chloride on A) Cd concentration in root, B) Cd concentration in shoot, C) Translocation factor (TF), D) Biological Accumulation Factor (BAF), E) Translocation Coefficient (TC)

شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر روی A) غلظت کادمیوم در ریشه، B) غلظت کادمیوم در اندام هوایی، C) فاکتور انتقال کادمیوم، D) فاکتور تجمع زیستی، E) ضریب انتقال

- بررسی غلظت عناصر آهن، روی، پتاسیم، کلسیم و فسفر در گیاه کاهو تحت تاثیر کلریدکادمیوم

بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که با افزایش غلظت کلریدکادمیوم غلظت عناصری همچون روی، پتاسیم وکلسیم در ریشه کاهش و در اندام هوایی گیاه کاهو به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش نشان دادند (شکلA-H ۸). به علاوه، غلظت آهن و فسفر در ریشه و اندام هوایی گیاه کاهو نسبت به نمونه‌ی شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکلF-E ,I-J ۸). بیشترین غلظت عناصر آهن ۰/۰۹۶ mg/g DW، روی ۰/۱۰۶ mg/g DW، کلسیم ۳/۵۶۷ mg/g DW پتاسیم ۰/۹۷ mg/g DW و فسفر ۴/۳۶۷ mg/g DW در ریشه گیاه کاهو مربوط به نمونه‌ی شاهد بود. همچنین، بیشترین غلظت پتاسیم ۶/۰۸۷ mg/g DW، کلسیم ۶/۹۵۲ mg/g DW و روی ۰/۱۷۴ mg/g DW در اندام هوایی گیاه کاهو را تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت کادمیوم به خود اختصاص داد. همچنین، با توجه به نتایج بیشترین غلظت آهن ۰/۱۷۷ mg/g DW و فسفر ۳/۸۲۱ mg/g DW در نمونه‌ی شاهد بدست آمد. می‌توان این‌گونه نتایج را تفسیر کرد که افزایش غلظت کادمیوم در جذب عناصر کلسیم، روی و پتاسیم توسط ریشه اثر مثبت داشته در حالی‌که، مانع از انتقال مثبت این عناصر به اند ام هوایی شده است. جذب عنصر سدیم توسط ریشه گیاه کاهو تحت تاثیر غلظت بالای کادمیوم کاهش یافته است. بیشترین تاثیر منفی تیماردهی سطوح بالای کادمیوم متوجه دو عنصر آهن و فسفر شده است بطوری‌که، جذب و انتقال این دو عنصر کاهش نشان داد ($p < 0.05$) (شکلJ-A ۸).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

Table 1- Variance analysis of biochemical traits of lettuce under the influence of cadmium chloride

		Mean Square								
Source of variation	df	Phenol mg/g FW	Flavonoid mg/g FW	Soluble sugars mg/g DW	Total protein mg/g FW	Amino acid mg/g FW	DPPH %	Proline mg/g FW	MDA mg/g FW	H_2O_2 mg/g FW
Cadmium chloride	3	0.483**	0.003**	6.758**	82.168**	0.001*	237/750**	0.003**	0.483**	0.003**
Error	8	0.002	0.00001	0.004	0.021	0.0002	0.456	0.00001	0.002	0.00007
C.V (%)		1.11	3.70	2.06	1.06	11.59	1.01	3.70	1.11	2

ns: not significant, *p < 0.05, **p < 0.01

جدول ۲- تجزیه واریانس میزان کادمیوم و عناصر معدنی در ریشه و اندام هوایی گیاه کاهو تحت تاثیر کلرید کادمیوم

Table 2- Variance analysis of cadmium and mineral elements in roots and shoots of lettuce under the influence of cadmium chloride

		Mean Square															
Source of variation	df	Cd root **mg/g DW**	Cd stem **mg/g DW**	TF %	BAF %	TC %	Ca root **mg/g DW**	Ca stem **mg/g DW**	Zn root **mg/g DW**	Zn stem **mg/g DW**	Fe root **mg/g DW**	Fe stem **mg/g DW**	K root **mg/g DW**	K stem **mg/g DW**	P root **mg/g DW**	**P stem** mg/g DW
Cadmium chloride	3	1.766**	0.617**	0.260**	44.133**	15.179**	1.530**	0.515**	0.005**	0.004**	0.008**	0.007**	0.062**	0.728**	2.034**	0.853**
Error	8	0.0004	0.00005	0.00007	0.003	0.003	0.013	0.0002	0.00002	0.000009	0.00003	0.00003	0.0002	0.005	0.01	0.01
C.V (%)		1.75	1.05	1.89	1.21	2.07	3.29	0.69	4.14	2.14	5.95	4.93	1.76	1.27	3.12	3.19

ns: not significant, *p < 0.05, **p < 0.01

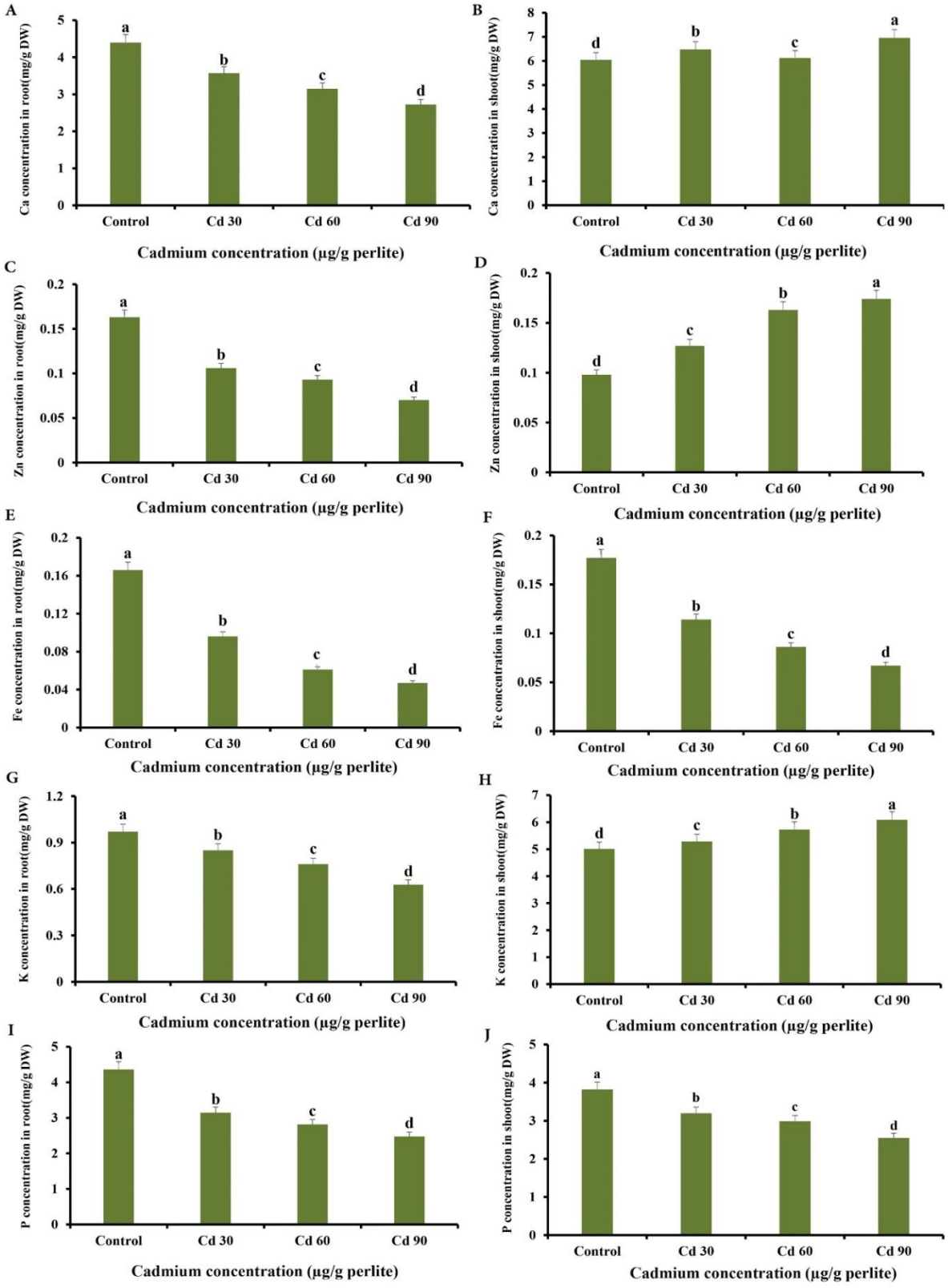

Figure 8- Effects of different concentrations of cadmium chloride A) Ca concentration in root, B) Ca concentration in shoot, C) Zn concentration in root, D) Zn concentration in shoot, E) Fe concentration in root, F) Fe concentration in shoot, G) K concentration in root, H) K concentration in shoot, I) P concentration in root, J) P concentration in shoot

شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر روی A) غلظت کلسیم در ریشه، B) کلسیم در اندام هوایی، C) روی در ریشه، D) روی در اندام هوایی، E) آهن در ریشه، F) آهن در اندام هوایی، G) پتاسیم در ریشه، H) پتاسیم در اندام هوایی، I) فسفر در ریشه، J) فسفر در اندام هوایی

بحث

تحت تنش فلزات سنگین ترکیبات فنلی با مکانیسم‌های متعدد مثل ربایش رادیکال‌های آزاد، خاموش کردن اکسیژن یکتایی، کلاته کردن یون‌های فلزی و یا قرارگرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز، نقش آنتی‌اکسیدانی دارند. این ترکیبات همچنین با انتقال سریع هیدروژن به رادیکال‌های لیپید، از ادامه زنجیره پراکسیداسیون لیپیدها ممانعت می‌کنند (Vollmannova *et al*., 2014). پژوهش‌های مختلف بیان داشتند که قرارگیری گیاهان تحت شرایط استرس در میزان تولید ترکیبات فنلی در میوه‌ها، سبزیجات و گیاهان زارعی تاثیرگذار است. نتایج تحقیقات بر روی گونه‌های بومی *Erica andevalensis* و *Vaccinium corymbosum* L. نشان داد که محتوی فنل و فلاونوئید تحت تیمار با کلرید کادمیوم به طور معنی‌داری نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش یافت (Marquez Garcia *et al*., 2012; Manquian-Cerda *et al*., 2018). تنش کادمیوم از طریق تغییر نفوذپذیری غشای سلولی و افزایش فعالیت آنزیم‌های درون سلول منجر به تجمع ترکیبات واسطه سمی در گیاهان شده که به دنبال آن کالکون سنتتاز و PAL که آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتزی فنل و فلاونوئیدها است افزایش بیان نشان می‌دهند و از آسیب‌های غشایی ناشی از استرس اکسیداتیو و مرگ سلول‌ها ممانعت می‌کنند. افزایش مقدار فنل‌های محلول به ویژه پیش‌سازهای بیوسنتز لیگنین با افزایش ضخامت دیواره سلولی و ایجاد مانع زیستی جهت ورود فلزات سنگین به یاخته‌ها تحمل آن‌ها را در برابر تنش فلزات افزایش می‌دهد (Sakihama *et al*., 2002).

DPPH به عنوان شاخص مهمی جهت اندازه‌گیری پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی می‌باشد. در مسیرهای متابولیسم، متابولیت‌های پیچیده‌ای توسط گیاهان تولید می‌شود که برخی از آن‌ها توانایی سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد را دارند. داسیلوا و همکاران در سال ۲۰۰۷ افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه توت‌فرنگی را با افزایش میزان ویتامین ث، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی مرتبط دانستند (de Silva *et al*., 2012). همچنین، نتایج مطالعات مختلف بر روی گونه‌های بومی *Erica andevalensis* و *Vaccinium corymbosum* L. نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تحت تنش کادمیوم به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش یافت (Manquian-Cerda *et al*., 2018; Marquez Garcia *et al*., 2012) که تاییدی بر نتایج پژوهش حاضر است. همانطور که در شکل ۲ مشاهده شد گیاه کاهو ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در سطوح بالای کادمیوم نسبت به سطوح پایین و نمونه‌ی شاهد داشت. اکثر گیاهان برای کاستن آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن دارای سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی هستند که شامل اجزای غیرآنزیمی مانند آسکوربات، گلوتامین، فلاونوئیدها و آنزیم‌های مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز می‌باشد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی در اثر پایداری شیمیایی ابر الکترون‌های آروماتیک آن‌ها می‌باشد که یک الکترون رادیکال می‌تواند تغییر مکان یابد (Yousuf *et al*., 2016). مطالعات قبلی نشان دادند که میزان ترکیبات فنلی با پتانسیل مهار رادیکال‌های آزاد گیاهان ارتباط مستقیمی دارد که در بسیاری از پژوهش‌ها نیز به این موضوع پرداخته شده است. علاوه بر این، مطالعات مانکوئیان سردان بیان داشت که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان بسته به نوع و غلظت فلزات مختلف متفاوت خواهد بود (Manquian-Cerda *et al*., 2018).

نتایج اندازه‌گیری محتوی قندمحلول تحت تنش کادمیوم نشان داد که در تیمار ۹۰ میکروگرم بر گرم پرلیت بیشترین کربوهیدارت در گیاه کاهو مشاهده شد که طبق مطالعات مختلف با افزایش تنش اکسیداتیو، گیاهان جهت مقابله با سمیت ناشی از کادمیوم از طریق افزایش محتوی قندهای محلول به عنوان مولکول پیام‌رسان منجر به ضخیم تر شدن دیواره سلولی و کاهش اثرات منفی کادمیوم می‌شوند (Krzesłowska, 2011). بسیاری از فلزهای سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب را در گیاه دستخوش تغییرات اساسی می‌کنند. به علاوه، افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (Verma and Dubey, 2001). در پژوهشی Verma و Dubey (۲۰۰۱) نشان دادند که با افزایش غلظت کادمیوم میزان قندهای محلول

در گیاه برنج نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. همچنین، Haghighi و همکاران (۲۰۱۰) بیان داشتند که تحت تنش کادمیوم انتقال آب در گیاهان کاهش یافته و این امر منجر به به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله متابولیسم قندها شده و میزان قندها افزایش می‌یابد تا از این طریق گیاه بتواند با حفظ شرایط اسمزی حداکثر توان خود را جهت حفظ مقادیر کمی آبی گیاه انجام دهد. علت احتمالی افزایش قندهای محلول طی افزایش تنش اکسیداتیو می‌تواند به دلیل تجزیه نشاسته و کاهش انتقال قندها از برگ به منابع مصرف به منظور تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس، پایداری غشاءها و حفظ پروتئین باشد (Sanjari *et al*., 2015).

گیاهان در پاسخ به شرایط تنش اکسیداتیو از مکانیسم‌های مقاومتی مختلفی استفاده می‌کنند. این مکانیسم‌های پاسخ دهنده به تنش، برای برقراری مجدد هومئوستازی، حفاظت و ترمیم پروتئین‌ها و غشاهای آسیب دیده فعال می‌شوند (Wang *et al*., 2003). یکی از این مکانیسم‌ها کاهش جذب و انتقال فلز، القاء انتقال دهنده‌های ویژه فلزات سنگین، محدود کردن انباشته‌سازی در بافت حساس یا کده‌بندی در اندامک‌های تحمل‌کننده همانند واکوئل‌ها، تحریک فرآیندهای کنترل کننده اثرات سمی ROS (آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی)، تولید پروتئین‌های تنشی می‌باشند. این مکانیسم‌ها به گیاهان کمک می‌کند تا آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو را کاهش دهند و سلول‌ها حالت احیا خود را حفظ کنند (Shahid *et al*., 2017). افزایش میزان پروتئین‌های محلول در شرایط تنش می‌تواند از طریق کاهش پتانسیل اسمزی داخل سلول‌ها و کاهش رادیکال‌های آزاد و تخریب کمتر غشا از گیاهان در برابر سمیت فلزات سنگین محافظت کند. در پژوهشی بر روی *Populus nigra* و Sassafras مشخص شد که کادمیوم موجب افزایش پروتئین‌های محلول نسبت به نمونه‌ی شاهد شد (Muneer *et al*., 2012). در مطالعه‌ی حاضر نیز، با افزایش غلظت کادمیوم محتوی پروتئین افزایش نشان داد که احتمالا این افزایش همانطور کهFeduic و Erdei بیان داشتند می‌تواند به علت افزایش مقدار بعضی آنزیم‌ها از جمله آنزیم‌های تجزیه کننده قندها و یا به دلیل افزایش سنتز mRNA پروتئین‌های تنشی از خانواده چاپرون‌ها و نیز سنتز فیتوکلاتین‌ها در برابر کادمیوم باشد (Kumar *et al*., 2022).

مطالعات بر روی *Spinacia oleracea* L. نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان آمینواسیدها نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش یافتند (Emanuil *et al*., 2020). سمیت کادمیوم منجر به اختلال در مسیر بیوسنتزی آمینواسیدها شده و تغییرات سطح آمینواسیدها نقش مهمی در مکانیسم‌های سازگاری گیاهان با شرایط تنش دارد. به طور کلی، افزایش میزان آمینواسیدها به عنوان یک مکانیسم دفاعی برای مقابله در برابر تنش فلزات سنگین در گیاهان می‌باشد. هموستاز آمینواسیدها که از طریق سنتز یا تجزیه‌ی پروتئین‌ها، بیوسنتز آمینواسیدهای جدید و جذب و جابه جایی صورت می‌گیرد برای مقابله گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین مهم می‌باشد (He *et al*., 2013). افزایش برخی آمینواسیدها تحت تنش کادمیوم، می‌تواند مربوط به پروتئولیز فعال گلیکوپروتئین‌های دیواره سلولی گیاهان باشد. به‌طورکلی، آمینواسیدها به‌طور مستقیم و یا از طریق سنتز پپتیدهای کلیت‌کننده موجب سم‌زدایی فلزات سنگین می‌شوند (Mohamed, 2021).

تحت شرایط تنش اکسیداتیو، پرولین به عنوان یک اسمولیت حذف کننده رادیکال‌ها و به عنوان تثبیت‌کننده پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌ها، کلاته‌کننده فلزات، مولکول دفاعی آنتی‌اکسیدان، مولکول پیام رسان شناخته می‌شود (El-Beltagi *et al*., 2020). بسیاری از محققان تجمع پرولین را در شرایط استرس به دلیل تشکیل کمپلکس پرولین–کادمیوم در جهت سمیت‌زدایی کامیوم معرفی کردند (Sharma *et al*., 1998). نتایج تحقیقات بر روی *Pisum sativum* L. نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان پرولین نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش یافت مشابه نتایجی که در تحقیق حاضر رخ داده است (Glowacka *et al*., 2022). تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش اکسیداتیو، با کاهش خسارت در غشای سلولی و پروتئین‌ها مرتبط است و از پراکسیداسیون لیپیدها و گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری می‌کند. محققان بیان داشتند که یک رابطه‌ی جزئی بین تجمع پرولین و کمبود آب ناشی از فلزات سنگین وجود دارد، در هر صورت، انباشت پرولین شاخص مناسبی برای تنش فلزات سنگین

درگیاهان تحت شرایط استرس است (Schat *et al*., 1997). ایجاد تنش توسط فلزات سنگینی همچون کادمیوم، موجب کاهش فعالیت سیستم انتقال الکترون و در نهایت تجمع NADH می‌شود، بنابراین سنتز پرولین می‌تواند از طریق مسیر گلوتامات منجر به کاهش انباشتگی NADH تحت شرایط تنش کادمیوم شود. میزان پرولین گیاهان در پاسخ به سمیت کادمیوم در شاخساره‌ها افزایش می‌یابد که این امر در گیاهانی نظیر *Brassica juncea*، *Triticum aestivum* و *Vigna radiate* نیز بیان شده است (Dhir *et al*., 2004). تحت شرایط تنش اکسیداتیو، میزان پرولین به دلیل افزایش فعالیت اورنیتین آمینوترانسفراز و پیرولین ۵- –کربوکسیلات ردوکتاز و مهار پرولین اکسیداز، پرولین دهیدروژناز و پرولین کربوکسیلاز افزایش می‌یابد (Weisany *et al*., 2012).

گونه‌های فعال اکسیژن از طریق تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع تحت فعالیت پراکسیدی موجب ایجاد صدمات اکسیداتیو به غشای پلاسمایی شده و در نهایت مالون دی‌آلدهید آزاد می‌شود که آسیب به غشا و مرگ سلول را در پی دارد. مطالعه حاضر نشان داد که افزایش غلظت کادمیوم از طریق تحریک ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن موجب آسیب به بافت‌های گیاهی و تنش اکسیداتیو شد که چنین نتایجی در مطالعه بر روی خیار و توت فرنگی نیز مشاهده شده است (Sun *et al*., 2015). افزایش محتویات مالون دی آلدهید تحت تنش فلزات سنگین، نشان‌دهنده‌ی آسیب اکسیداتیو به غشای سلولی است، همچنین فعالیت‌های پراکسیداز و کیتیناز وابسته به گایاکول می‌تواند به عنوان نشانگرهای استرس عمل کنند. تحت شرایط تنش اکسیداتیو، هنگامی‌که تولید ROS بیشتر از توانایی مکانیسم آنتی‌اکسیدانی گیاهان جهت محافظت از سلول‌های گیاهی باشد احتمال آسیب نیز افزایش می‌یابد (Zhang *et al*., 2002). هیدروژن پراکسید به عنوان مولکول سیگنال در تنش‌های غیر زیستی عمل می‌کند و در نتیجه فعالیت کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز از بین می‌رود (Tawfik *et al*., 2021). از تبعات مهم افزایش فلزات سنگین در گیاه، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که موجب افزایش فعالیت رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل، هیدروژن پراکسید و افزایش اکسیداسیون NADPH می‌شود. رادیکال‌های تولیدشده موجب هیدرولیز ماکرومولکول‌هایی مانند DNA و آسیب به غشای سلولی و نشت یونی می‌شود. ROS تولید شده توسط کادمیوم، مانند H_2O_2، مربوط به اثر فیتوتوکسیک کادمیوم می‌باشد، همچنین ROS به عنوان مولکول‌های سیگنال در تحریک ژن‌های دفاعی در برابر سمیت کادمیوم عمل می‌کند (Ali *et al*., 2015). بیانی و همکاران اشاره کردند که تحت تنش کادمیوم گیاهان می‌توانند گونه‌های فعال اکسیژن را به اشکال H_2O_2 و TBARS تبدیل کنند که چنین مشاهداتی تحت شرایط تنشی مختلف در چندین مطالعات دیگر نیز بیان شده است (Biyani *et al*., 2019).

براساس داده‌های این پژوهش، بیشترین غلظت کادمیوم در نمونه‌های کاهوی تحت تیمار با سطوح بالای کادمیوم مشاهده شد. پتانسیل سمیت فلزات سنگین، بستگی به غلظت آنها در محیط ریشه دارد به طوری‌که، هرچه غلظت فلز در اطراف ریشه بیشتر باشد جذب آن توسط گیاه افزایش خواهد داشت (Fuentes *et al*., 2007). مطالعات بیان داشتند که انباشتگی کادمیوم در ریشه‌ی کاهو می‌تواند یک استراتژی مثبت به شمار آید زیرا از انتقال زیاد کادمیوم به بخش‌های هوایی گیاه که جنبه‌ی تغذیه‌ای دارند جلوگیری کرده و مانع از آسیب به بخش‌های هوایی می‌شود در حالی‌که در مطالعه حاضر، با افزایش سطوح کادمیوم ارائه شده به کاهو انباشتگی آن با گذشت زمان در اندام‌های هوایی نیز بیشتر شد. تجمع بیشتر کادمیوم در ریشه‌ی گیاهان، ناشی از ورود آن‌ها به فضای آپوپلاستی ریشه است که به آسانی توسط محلول غذایی و بدون برخورد با حلقه‌ی کاسپارین در عمق ریشه‌ی گیاه تا نزدیکی لایه‌ی آندودرم نفوذ می‌کند (Ramos *et al*., 2002). در مطالعه حاضر، فاکتور انتقال کادمیوم درگیاه کاهو نشان داد که در سطوح پایین کادمیوم، کاهش انتقال از ریشه به اندام‌های هوایی به دلیل افزایش تولید فیتوکلاتین‌ها و پیش سازهای آن‌ها می‌باشد که به کادمیوم متصل شده و مانع از تحرک زیاد کادمیوم می‌شود (Akhter, 2012). همچنین، قابلیت ریشه در تجمع کادمیوم جذب شده را می‌توان از طریق مکانیسم‌های متعددی از جمله غیرمتحرک شدن کادمیوم در داخل سلول به واسطه تشکیل کمپلکس با اسیدهای آلی مانند مالات و اگزالات، پروتئین‌های ناقل به نام Metallothioneins، تجمع در داخل واکوئل و مسدود شدن به وسیله سلول‌های

اپیدرمی توجیه کرد (Barcelo *et al*., 1988). در حالی‌که، با افزایش غلظت کادمیوم در خاک انتقال کادمیوم از ریشه به بخش‌های هوایی افزایش می‌یابد که در مطالعه‌ی حاضر نیز با افزایش غلظت تیمار کادمیوم (۹۰ میکروگرم در گرم پرلیت)، میزان فاکتور انتقال کادمیوم افزایش نشان داد بدین صورت که انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی در گیاه کاهوی تحت تیمار با غلظت‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میکروگرم در گرم پرلیت به ترتیب ۰,۵۷، ۰,۵۵ و ۰,۶۰ درصد افزایش یافت که این امر نشان‌دهنده‌ی این است که کاهو به عنوان یک گیاه Cd-hyperaccumulator شناخته شده است (Fontes *et al*., 2014). همچنین، مطالعات مختلف بر روی گیاه کاهو و *Impatiens Glandulifera* نشان داد که با افزایش غلظت کلرید کادمیوم میزان فاکتور انتقال (TF) افزایش یافت همچنین فاکتورهای تجمع زیستی (BAF) و ضریب انتقال (TC) کادمیوم با افزایش غلظت کادمیوم بالاتر از ۱ بود که با نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد (Yazdi *et al*., 2019; Coakley *et al*., 2019). با توجه به نتایج پژوهش حاضر، ظرفیت بالای کاهو در انباشتگی کادمیوم در بخش‌های مختلف منجر به افزایش نگرانی‌ها در ارتباط با ورود آلودگی‌های فلزات سنگین به زنجیره‌ی غذایی و مسمومیت انسانی می‌شود. براساس آمار موسسه استاندارد ایران به شماره ۱۲۹۶۸ میزان مجاز کادمیوم در گیاه کاهو ۰,۰۰۰۲۶ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد، همچنین مطابق توصیه FAO-WHO حداکثر مقدار مجاز کادمیوم نباید از ۰,۱ میلی گرم در کیلوگرم خاک تجاوز کند (Berg, 2003). در حالی‌که، نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد غلظت کادمیوم انباشته شده در ریشه گیاه کاهوی تحت تیمار با غلظت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میکروگرم در گرم پرلیت به ترتیب برابر با ۱,۳۸۶، ۱,۵۳۳ و ۱,۶۴۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاه بدست آمد و در اندام هوایی گیاه کاهو به ترتیب ۰,۸۱۶، ۰,۸۶۴ و ۰,۹۹۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاه حاصل شد که بالاتر از حد مجاز اعلام شده بود. این یافته‌ها نشان از این موضوع دارد که کاهو توانایی بسیار بالای برای تجمع کادمیوم دارد و کنترل کشت سبزیجاتی مانند کاهو در خاک‌های عاری از آلودگی جهت حفظ سلامت انسان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در همین راستا صالحی‌پور باورساد و همکاران در تحقیقی نشان دادند که غلظت کادمیوم موجود در سبزیجات بالاتر از حد استاندارد سازمان بهداشت جهانی بوده و ورود این عناصر به زنجیره‌ی غذایی خطر بسیار جدی را برای مصرف‌کنندگان به دنبال دارد (Baversad *et al*., 2014). نتایج فاکتور تجمع زیستی نیز نشاندهنده‌ی ظرفیت بالای گیاه کاهو جهت انباشتگی عناصر سنگین در بافت‌های خود است، در این پژوهش نیز BAF کمتر از ۱، بیانگر بالا بودن غلظت فلز کادمیوم در کاهو نسبت به خاک می‌باشد. تجمع کادمیوم در بافت‌های کاهو زنگ خطری برای سلامت انسان در زمان استفاده از قسمت‌های خوراکی این گیاه است. با اینکه انتقال فلزات سنگین توسط گیاهان و ورود آنها به زنجیره‌ی غذایی انسان‌ها در کوتاه مدت خطر جدی به شمار نمی‌آید ولی در درازمدت می‌تواند منجر به بروز مسمومیت و حتی برای سلامتی کشنده باشد (Dala-Paula *et al*., 2018).

در ارتباط با تغییر غلظت عناصر معدنی تحت تاثیر کادمیوم، جذب سه عنصر کلسیم، پتاسیم و روی توسط ریشه گیاه کاهو در سطوح بالای تیمار کادمیوم نسبت به نمونه‌ی شاهد کاهش یافت که به نظر می‌رسد میزان بالای کادمیوم در خاک بر میزان جذب عناصر معدنی و میزان این عناصر در بافت‌های گیاه کاهو تاثیرگذار است. مطالعات Tester و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که جذب پتاسیم توسط ریشه گیاه ذرت تحت تاثیر کادمیوم کاهش یافت تحرک بالای کادمیوم یکی از مهمترین دلایل جهت کاهش جذب عناصر ضروری در گیاهان می‌باشد (Tester and Davenport, 2003). همچنین، نتایج پژوهش‌های Sufian و همکاران (۲۰۱۹) بر روی گیاه عدسک آبی نشان داد که سطوح بالای کادمیوم (۸۰ میلی گرم بر لیتر) منجر به کاهش میزان کلسیم و پتاسیم شد که تاییدی بر نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (Sufian *et al*., 2019). به علاوه، میزان عناصر معدنی در گیاهان تحت تیمار نسبت به حد استاندارد ملی اعلام شده برای انواع سبزیجات برگی (۰/۰۱۳ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن) کمتر بود. با توجه به این موضوع بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که غلظت عناصر پرمصرف گیاه در حضور کادمیوم بشدت کاهش می‌یابد، بطوری‌که محتوی کاتیون‌های چند ظرفیتی می‌تواند در حضور کادمیوم از طریق رقابت بر سر جایگاه‌های پیوندی یا توسط ناقلین تحت تأثیر قرار گیرد و هموستاز یونی تحت

تنش کادمیوم مختل شود (Sandalio *et al*., 2001).

نتایج مطالعات متعدد بر روی گیاه تربچه حاکی از آن بود که غلظت‌های بالای فلز کادمیوم در ریشه مانع از انتقال عناصر ریزمغذی مانند آهن به اندام‌های هوایی شده و در نتیجه برگ تربچه مقدار آهن کمتری دریافت می‌کند و به این ترتیب مصرف برگ این گیاهان قابلیت تامین مواد مورد نیاز بدن انسان را نخواهد داشت (Sinisha and Puthur, 2018). روی عنصر ریزمغذی ضروری برای رشد و توسعه‌ی گیاه و به عنوان ترکیب مهم در ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌های تنظیم کننده رونویسی می‌باشد. در پژوهشی گزارش شد که در گیاهان ذرت و گوجه فرنگی تحت تنش کادمیوم میزان عنصر روی کاهش نشان داد و این موضوع احتمالا ناشی از وجود ناقل‌های پروتئینی مشترک جهت ورود این دو عنصر به داخل سلول و شباهت شیمیایی این دو عنصر موجب رقابت و اثر آنتاگونیستی آن‌ها شده است (Tkalec *et al*., 2014). شاه و دوبی (۱۹۹۸) اظهار داشتند که غلظت ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم در محلول‌های غذایی سبب کاهش معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و اسیدی می‌شود و در نتیجه کاهش ۶۸ تا ۷۷ درصدی جذب فسفات در شاخساره دو رقم برنج را به دنبال داشت. براساس گزارش آن‌ها، کاهش فعالیت آنزیمی در خاک‌های آلوده به کادمیوم سبب مختل شدن چرخه عناصر غذایی به ویژه فسفر می‌شود (Shah and Dubey, 1997).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، اثر کلریدکادمیوم بر میزان جذب و انباشتگی کادمیوم در بافت‌های مختلف کاهو مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج بدست آمده با افزایش سطوح کلریدکادمیوم در خاک میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کاهو نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش معنی‌داری داشت. این پژوهش نشاندهنده‌ی این موضوع بود که رشد گیاهان در خاک‌های آلوده به کادمیوم حتی در غلظت‌های کم نیز منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های ثانویه آن‌ها می‌شود. همچنین، میزان پروتئین کل، قند محلول، محتوی آمینواسیدهای آزاد و شاخص‌های تنش اکسیداتیو (پرولین، مالون دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن) گیاه کاهو تحت تنش کادمیوم افزایش نشان داد. در شرایط آلودگی ناشی از کادمیوم، میزان فاکتور تجمع زیستی (BAF) گیاه کاهو بالای ۱ بود که این امر نشان می‌دهد کاهو به عنوان گیاه تجمع‌کننده کادمیوم می‌باشد. به‌طوری‌که، میزان تجمع یون کادمیوم در ریشه بیشتر از اندام هوایی گیاه کاهو بود. به علاوه، در این مطالعه افزایش میزان فاکتور انتقال (TF) با افزایش سطوح کادمیوم نشان می‌دهد که انتقال کادمیوم از ریشه به اندام هوایی افزایش یافته است که این امر نشان می‌دهد سبزیجات برگی مانند کاهو، از جمله مهمترین جذب کننده‌های فلزات سنگین هستند که از طریق تعرق زیاد، قسمت عمده فلزات سنگین، در اندام‌های هوایی این گیاهان تجمع می‌یابد. براساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، در گیاه کاهوی مورد ارزیابی میانگین غلظت کادمیوم انباشته شده در ریشه و اندام هوایی به ترتیب برابر با ۱/۶۴۱ و ۰/۹۹۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاه بود که این میزان بالاتر از حد مجاز گزارش شده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) است. باتوجه به اینکه گیاهان نقش بسزایی در انتقال فلزات سنگین در خاک‌های کشت شده بر عهده دارند و راهی برای ورود سموم و آلاینده‌ها به چرخه غذایی می‌باشند بنابراین، مدیریت کشت سبزیجات برگی در مناطق آلوده به فلزات سنگین به عنوان یکی از مهمترین منابع غذایی جوامع بشری بسیار حائز اهمیت است. به طور کلی، این پژوهش درک بهتری را از نقش گیاه کاهو به عنوان گیاه بیش انباشته‌گر در خاک‌های آلوده به کادمیوم نشان می‌دهد. با این وجود، با توجه به اینکه گیاه کاهو قادر به تجمع زیاد کادمیوم در ریشه خود می‌باشد بنابراین، در هنگام کشت گیاه کاهو اندازه‌گیری و آنالیز خاک‌های آلوده به فلزات سنگین جهت حفظ سلامت مصرف‌کنندگان ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه‌های تبریز و شهید چمران برای تأمین هزینه‌های این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abdalla, M. A., Li, F., Wenzel-Storjohann, A., Sulieman, S., Tasdemir, D. & Mühling, K. H. (2021). Comparative metabolite profile, biological activity and overall quality of three lettuce (*Lactuca sativa* L., Asteraceae) cultivars in response to sulfur nutrition. *Pharmaceutics*, *13*(5), 713. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050713.

Akhter, F. (2012). Cadmium accumulation and distribution in lettuce and barley. The University of Western Ontario (Canada).

Ali, B., Deng, X., Hu, X., Gill, R. A., Ali, S., Wang, S. & Zhou, W. (2015). Deteriorative Effects of Cadmium Stress on Antioxidant System and Cellular Structure in Germinating Seeds of *Brassica napus* L. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *17*(1), 63-74. 20.1001.1.16807073.2015.17.1.2.3.

Barcelo, J., Vazquez, M. D. & Poschenrieder, C. H. (1988). Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *New phytologist*, *108*(1), 37-49. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1988.tb00202.x.

Bates, L. S., Waldren, R. A. & 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.

Baversad, M. S., Ghorbani, H., Afyuni, M. & KheirAbadi, H. (2014). The potential risk assessment of heavy metals on human health in some agricultural products in Isfahan province. *JWSS-Isfahan University of Technology*, *18*(67), 71-81 [In Persian].

Berg, T. (2003). How to establish international limits for mycotoxins in food and feed. *Food Control*, *14*(4), 219-224. https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00021-X.

Bichi, A. M. & Ibrahim, S. R. (2018). Plant diversity and profile distribution of some available Micronutrients in selected soils of Kano State, Nigeria. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, *11*(2), 20-31. 10.4314/bajopas.v11i2.4.

Biyani, K., Tripathi, D. K., Lee, J. H. & Muneer, S. (2019). Dynamic role of iron supply in amelioration of cadmium stress by modulating antioxidative pathways and peroxidase enzymes in mungbean. *AoB Plants*, *11*(2), plz005. https://doi.org/10.1093/aobpla/plz005.

Boominathan, R. & Doran, P. M. (2002). Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, Alyssum bertolonii. *New phytologist*, *156*(2), 205-215. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00506.x.

Bradford, M. 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*(1-2), 248-254.https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, *10*(3). https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748.

Coakley, S., Cahill, G., Enright, A. M., O'Rourke, B. & Petti, C. (2019). Cadmium hyperaccumulation and translocation in *Impatiens glandulifera*: from foe to friend. *Sustainability*, *11*(18), 5018. https://doi.org/10.3390/su11185018.

Dala-Paula, B. M., Custódio, F. B., Knupp, E. A., Palmieri, H. E., Silva, J. B. B. & Glória, M. B. A. (2018). Cadmium, copper and lead levels in different cultivars of lettuce and soil from urban agriculture. *Environmental pollution*, 242, 383-389. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.101.

de Silva, N. D. G., Cholewa, E. & Ryser, P. (2012). Effects of combined drought and heavy metal stresses on xylem structure and hydraulic conductivity in red maple (*Acer rubrum* L.). *Journal of experimental botany*, *63*(16), 5957-5966. https://doi.org/10.1093/jxb/ers241.

Dhir, B., Sharmila, P. & Saradhi, P. P. (2004). Hydrophytes lack potential to exhibit cadmium stress induced enhancement in lipid peroxidation and accumulation of proline. *Aquatic toxicology*, *66*(2), 141-147. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.08.005.

Eid, E. M. & Shaltout, K. H. (2016). Bioaccumulation and translocation of heavy metals by nine native plant species grown at a sewage sludge dump site. *International Journal of Phytoremediation*, *18*(11), 1075-1085. https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1183578.

El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I. & Sofy, M. R. (2020). Role of ascorbic acid, glutathione and proline applied as singly or in sequence combination in improving chickpea plant through physiological change and antioxidant defense under different levels of irrigation intervals. *Molecules*, *25*(7), 1702. 10.3390/molecules25071702.

Emanuil, N., Akram, M. S., Ali, S., El-Esawi, M. A., Iqbal, M., & Alyemeni, M. N. (2020). Peptone-induced physio-biochemical modulations reduce cadmium toxicity and accumulation in spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Plants*, *9*(12), 1806. https://doi.org/ 10.3390/plants9121806.

Fontes, R. L., Pereira, J., & Neves, J. C. (2014). Uptake and translocation of Cd and Zn in two lettuce cultivars. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, 907-922. https://doi.org/10.1590/0001-37652014117912.

Fuentes, D., Disante, K. B., Valdecantos, A., Cortina, J., & Vallejo, V. R. (2007). Response of *Pinus halepensis Mill*. seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three Mediterranean forest soils. *Environmental Pollution*, *145*(1), 316-323. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.03.005.

Genchi, G., Sinicropi, M. S., Lauria, G., Carocci, A. & Catalano, A. (2020). The effects of cadmium toxicity. *International journal of environmental research and public health*, *17*(11), 3782. https://doi.org/10.3390/ijerph17113782.

Głowacka, K., Olszewski, J., Sowiński, P., Kalisz, B. & Najdzion, J. (2022). Developmental and physiological responses of *Pisum sativum* L. after

short-and long-time cadmium exposure. *Agriculture*, *12*(5), 637. https://doi.org/10.3390/agriculture12050637.

Haghighi, M., Kafi, M., Taghavi, T. S., Kashi, A. K. & Savabeghi, G. (2010). Effect of Humic Acid on N, P and Stress Indicators of Lettuce Polluted by Cadmium. *Water and Soil Science*, *20*(1), 87-98 [In Persian].

Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. & Charoensataporn, R. (2003). Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Science Asia*, *29*(2), 109-113.

He, Y., Dai, S., Dufresne, C. P., Zhu, N., Pang, Q. & Chen, S. (2013). Integrated proteomics and metabolomics of *Arabidopsis* acclimation to gene-dosage dependent perturbation of isopropylmalate dehydrogenases. *PLoS One*, *8*(3), e57118. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057118.

Hwang, M. N. & Ederer, G. M. (1975). Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. *Journal of Clinical Microbiology*, *1*(1), 114-115. https://doi.org/10.1128/jcm.1.1.114-115.1975.

Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. Handbook of phycological methods, *Physiological and biochemical methods*., 95.

Krzesłowska, M. (2011). The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. *Acta physiologiae plantarum*, 33, 35-51. https://doi.org/10.1007/s11738-010-0581-z.

Kubier, A., Wilkin, R. T. & Pichler, T. (2019). Cadmium in soils and groundwater: a review. *Applied Geochemistry*, 108, 104388. https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.104388.

Kumar, S., Shah, S. H., Vimala, Y., Jatav, H. S., Ahmad, P., Chen, Y. & Siddique, K. H. (2022). Abscisic acid: Metabolism, transport, crosstalk with other plant growth regulators, and its role in heavy metal stress mitigation. *Frontiers in Plant Science*, 13, 972856. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.972856.

Luo, J. S. & Zhang, Z. (2021). Mechanisms of cadmium phytoremediation and detoxification in plants. *The Crop Journal*, *9*(3), 521-529. https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.02.001.

Manquián-Cerda, K., Cruces, E., Escudey, M., Zúñiga, G. & Calderón, R. (2018). Interactive effects of aluminum and cadmium on phenolic compounds, antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) plantlets cultivated in vitro. *Ecotoxicology and environmental safety*, 150, 320-326. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.050.

Márquez-García, B., Fernández-Recamales, M. & Córdoba, F. (2012). Effects of cadmium on phenolic composition and antioxidant activities of *Erica andevalensis*. *Journal of Botany*, 2012. 10.1155/2012/936950.

Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, *91*(3), 571-577. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006.

Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, *85*(2), 231-237. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007.

Mohamed, R. E. (2021). *Investigating the Role of Porcupine and WNTless: Components of WNT Signalling Pathway in Response to Endoplasmic Reticulum, Oxidative, Hypoxia and Environmental Toxins Stesses* (Doctoral dissertation, Carleton University).
https://doi.org/https://doi.org/10.22215/etd/2021-14744.

Muneer, S., Kim, T. H. & Qureshi, M. I. (2012). Fe modulates Cd-induced oxidative stress and the expression of stress responsive proteins in the nodules of *Vigna radiata*. *Plant Growth Regulation*, 68, 421-433. https://doi.org/10.1007/s10725-012-9731-1.

Payehghadr, M., Esmaeilpour, S., Kazem Rofouei, M. & Adlnasab, L. (2013). Determination of trace amount of cadmium by atomic absorption spectrometry in table salt after solid phase preconcentration using octadecyl silica membrane disk modified by a new derivative of pyridine. *Journal of Chemistry*, 2013. https://doi.org/10.1155/2013/417085.

Ramos, I., Esteban, E., Lucena, J. J. & Gárate, A. (2002). Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of Lactuca sp. Cd–Mn interaction. *Plant science*, *162*(5), 761-767. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00017-1.

Roa, J. (2023). Informal Food Markets in Quezon City and Pasay City, Philippines: A Rapid Assessment. *Resilient Cities Initiative Research Report*. https://doi.org/10.4160/9789290606642.

Sandalio, L. M., Dalurzo, H. C., Gomez, M., Romero-Puertas, M. C. & Del Rio, L. A. (2001). Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of experimental botany*, *52*(364), 2115-2126. https://doi.org/10.1093/jexbot/52.364.2115.

Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C. & Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, *177*(1), 67-80. https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00196-8.

Sanjari, M., Siroosmehr, A. & Fakheri, B. (2015). The effects of drought stress and humic acid on some

physiological characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of Crops Improvement, 17*(2) [In Persian].

Schat, H., Sharma, S. S. & Vooijs, R. (1997). Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of Silene vulgaris. *Physiologia plantarum*, *101*(3), 477-482. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb01026.x.

Shah, K. & Dubey, R. S. (1997). Effect of cadmium on proline accumulation and ribonuclease activity in rice seedlings: role of proline as a possible enzyme protectant. *Biologia Plantarum*, 40, 121-130. https://doi.org/10.1023/A:1000956803911.

Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Niazi, N. K. & Antunes, P. M. (2017). Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 241*, 73-137. https://doi.org/10.1007/398_2016_8.

Sharma, S. S., Schat, H. & Vooijs, R. (1998). In vitro alleviation of heavy metal-induced enzyme inhibition by proline. *Phytochemistry*, *49*(6), 1531-1535. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00282-9.

Sinisha, A. K. & Puthur, J. T. (2018). Comparative study on the zinc and cadmium tolerance potential of twelve prominent rice cultivars. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 21, 201-210. https://doi.org/10.1007/s12892-018-0042-0.

Sufian, J., Golchin, A., Moradi, S., Jahanban, L. & Gheiratie Arani, L. (2019). growth and nutrients concentration of duckweed (*Lemna minor* L.) as affected by cadmium and salinity application of aqueous solutions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 32*(3), 610-622 [In Persian].

Suhani, I., Sahab, S., Srivastava, V. & Singh, R. P. (2021). Impact of cadmium pollution on food safety and human health. *Current Opinion in Toxicology*, 27, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.cotox.2021.04.004.

Sun, S., Li, M., Zuo, J., Jiang, W. & Liu, D. (2015). Cadmium effects on mineral accumulation, antioxidant defence system and gas exchange in cucumber. *Zemdirbyste-Agriculture*, *102*(2), 193-200. 10.13080/z-a.2015.102.025.

Tester, M. & Davenport, R. (2003). Na+ tolerance and Na+ transport in higher plants. *Annals of botany*, *91*(5), 503-527. https://doi.org/10.1093/aob/mcg058.

Tkalec, M., Štefanić, P. P., Cvjetko, P., Šikić, S., Pavlica, M. & Balen, B. (2014). The effects of cadmium-zinc interactions on biochemical responses in tobacco seedlings and adult plants. *Plos one*, *9*(1), e87582. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087582.

Tawfik, M. M., Mohamed, M. H., Sadak, M. S. & Thalooth, A. T. (2021). Iron oxide nanoparticles effect on growth, physiological traits and nutritional contents of *Moringa oleifera* grown in saline environment. *Bulletin of the National Research Centre*, *45*(1), 1-9. https://doi.org/10.1186/s42269-021-00624-9.

Verma, S. & Dubey, R. S. (2001). Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia plantarum*, 44, 117-123. https://doi.org/10.1023/A:1017938809311.

Vollmannova, A., Musilova, J., Toth, T., Arvay, J., Bystricka, J., Medvecky, M. & Daniel, J. (2014). Phenolic compounds, antioxidant activity and Cu, Zn, Cd and Pb content in wild and cultivated cranberries and blueberries. *International journal of environmental analytical chemistry*, *94*(14-15), 1445-1451. https://doi.org/10.1080/03067319.2014.974588.

Wang, W., Vinocur, B. & Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218, 1-14. https://doi.org/10.1007/s00425-003-1105-5.

Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, A. & Ghassemi-Golezani, K. (2012). Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean ('*Glycine max*'L.). *Plant Omics*, *5*(2), 60-67.

Yazdi, M., Kolahi, M., Kazemi, E. M. & Barnaby, A. G. (2019). Study of the contamination rate and change in growth features of lettuce (*Lactuca sativa* Linn.) in response to cadmium and a survey of its phytochelatin synthase gene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180, 295-308. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.04.071.

Yousuf, B., Gul, K., Wani, A. A. & Singh, P. (2016). Health benefits of anthocyanins and their encapsulation for potential use in food systems: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, *56*(13), 2223-2230. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.805316.

Zhang, F., Shi, W., Jin, Z. & Shen, Z. (2002). Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplasts to cadmium toxicity. *Journal of Plant Nutrition*, *26*(9), 1779-1788. https://doi.org/10.1081/PLN-120023282.

Zulfiqar, U., Ayub, A., Hussain, S., Waraich, E. A., El-Esawi, M. A., Ishfaq, M. & Maqsood, M. F. (2022). Cadmium toxicity in plants: Recent progress on morpho-physiological effects and remediation strategies. *Journal of soil science and plant nutrition*, 1-58. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00645-3.

Evaluation of Cadmium Accumulation and Absorption of Micronutrient Elements in Lettuce (*Lactuca sativa* Linn.) under Cadmium Chloride Stress

R. Heydari[a], E. Mohajelkazemi[b], H. Nosrati[c], M. Kolahi[d*], A. Movafeghi[c]

[a] PhD Student of the Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

[b] Associate Professor of the Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

[c] Professor of the Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

[d] Associate Professor of the Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 8 October 2023 Accepted: 21 November 2023

Abstract

Introduction: The high mobility and solubility of cadmium pose a serious threat to the health of humans and other organisms. There are no signs of toxicity when cadmium metal accumulates in the tissues of plants and enters the human food chain. Cadmium transfer rates from vegetables to the human diet depend on their accumulation. Thus, inorder to investigate heavy metal absorption by lettuce, this research evaluated the levels of cadmium accumulating in various lettuce organs.

Materials and Methods: The seeds of lettuce (Lactuca sativa Linn) were cultivated in autoclaved pots containing perlite and cocopeat (with a ratio of 2 to 1). The pots were kept under greenhouse conditions of 25±1 (day temperature) and 20±1 (night temperature) and light/dark conditions were placed. About three weeks after the plants reached the three-leaf stage, the seedlings were treated with cadmium chloride in 3 replicates. Four concentrations (0, 30, 60 and 90 µg/g perlite) were used every 3 days. After 5 stages of treatment and 28 days after cultivation, the third leaf of the plants was used for the studies.

Results: Cadmium increased lettuce's phenol, flavonoid and antioxidant content significantly as compared to the control sample. Furthermore, by increasing the concentrations of cadmium, lettuce showed an increase in total protein, soluble sugar, free amino acids, proline, malondialdehyde, and hydrogen peroxide as compared to the control sample. Due to the increasing amount of cadmium applied to lettuce plants, an increase in the amount of cadmium in the roots was greater than in the aerial parts.

Conclusion: In general, the results of this research indicated that lettuce is a cadmium accumulating plant with the ability to accumulate heavy metals in its roots and aerial parts. Contaminated with heavy metals, it seems necessary to protect the health of consumers.

Keywords: *Cadmium Accumulation, Cadmium Toxicity, Lettuce (Lactuca sativa Linn.), Protein Content..*

* Corresponding Author: m.kolahi@scu.ac.ir