

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال هشتم، شماره بیست و هفتم، بهار ۱۳۹۵، صفحه ۱-۱۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۰۴

تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۰۴/۰۷

تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۱۰/۱۹

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰

ارزیابی اثر کادمیوم بر رشد و برخی شاخص‌های تنش اکسیداتیو ارقام گندم در مرحله گیاهچه‌ای

عزت‌اله اسفندیاری* و نادر رستمی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

چکیده

با توجه به تأثیر منفی کادمیوم بر رشد و نمو گندم، ارزیابی الگوی رفتاری ارقام گندم در پاسخ به کادمیوم ضروری به نظر می‌رسد. در پژوهش حاضر، شش رقم گندم با روش هواکشت پرورش یافته، پس از مرحله ۳ تا ۴ برگی، گیاهچه‌ها با محلول غذایی حاوی: کلرید کادمیوم ۲۰۰ میکرومولار تیمار شدند. سپس از آنها نمونه برداری و صفات مورفولوژیک، شاخص‌های مرتبط با سازوکارهای دفاعی به همراه کادمیوم انباشته شده در بافت‌ها ارزیابی شد. نتایج نشان داد که کادمیوم ضمن تجمع در بافت‌ها، سبب کاهش طول ریشه، وزن خشک ریشه، اندام‌های هوایی و کل گیاهچه گردید. همچنین، کادمیوم تنها در برگ ارقام کوه‌دشت و پیش‌تاز به افزایش پراکسید هیدروژن منجر شد، اما افزایش پراکسیداسیون لیپیدی علاوه بر این ارقام، در رقم ایزنگران نیز مشاهده شد. از دلایل افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در رقم کوه‌دشت می‌توان به کاهش فعالیت گلوکاتایون S-ترانسفراز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز اشاره کرد. در حالی که در ارقام ایزنگران و پیش‌تاز علیرغم افزایش فعالیت گلوکاتایون S-ترانسفراز به همراه گایاکول پراکسیداز، آسیب به غشاها اتفاق افتاده است که نشان دهنده غلبه تولید عوامل آسیب‌رسان بر سازوکارهای دفاعی است. اما، در ارقام گاسکوژن، آگوستا و MV17 آسیب به غشاها در حضور کادمیوم مشاهده نمی‌گردد که به‌نوعی بیانگر تعادل بین تولید و جمع‌آوری عوامل آسیب‌رسان در این ارقام است. به‌عنوان نتیجه کلی می‌توان اظهار نمود که کادمیوم موجود در محیط جذب و در برگ ارقام گندم تجمع یافت که حاصل آن کاهش ماده خشک بخش‌های مختلف و کل گیاهچه‌های گندم بود که نشان دهنده حساسیت ارقام مورد مطالعه به کادمیوم است. با این وجود، به دلیل عملکرد بهتر سازوکارهای دفاعی ارقام گاسکوژن، آگوستا و MV17 در مقایسه با سایر ارقام، تنش اکسیداتیو در برگ آنها اتفاق نیفتاد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پراکسید هیدروژن، سازوکارهای دفاعی، وزن خشک

* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: esfandiari@maragheh.ac.ir، شماره تماس: ۰۴۱۳۷۲۷۳۰۶۸

Copyright©2016, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

مقدمه

کادمیوم به عنوان یک عنصر سنگین، از عوامل مهم آلوده کننده محیط به شمار آمده و برای حیوانات و گیاهان بسیار سمی است. این عنصر در اثر استفاده از فاضلاب کارخانه‌های صنعتی و شهری (Soltani *et al.*, 2006) به همراه مصرف بی‌رویه حشره کش‌ها (Hafezi *et al.*, 2009) و مقادیر بالای کودهای شیمیایی به ویژه فسفات (Hafezi *et al.*, 2009) در زمین‌های زراعی در حال افزایش است. Merrikhpour (۲۰۱۵) خاک‌های استان همدان را از نظر تجمع عناصر سنگین آرسنیک، روی، سرب، مس، کروم و کادمیوم بررسی و عنوان کرد که تنها میزان کادمیوم موجود در خاک در حد متوسط است و علت آن را مصرف بی‌رویه کودهای فسفات عنوان کرد.

کادمیوم عنصری غیر ضروری برای گیاهان است و هیچ‌گونه عملکرد زیستی شناخته شده‌ای ندارد (Balsberg, 1989; Soltani *et al.*, 2006)، اما به علت تحرک بالای این عنصر در خاک، در صورت حضور در محیط ریشه، به راحتی توسط گیاه جذب و به اندام‌های هوایی آن انتقال می‌یابد (Lozano-Rodriguez *et al.*, 1997). تجمع این عنصر در گیاه سبب تغییرات مورفولوژیک مانند پیچش برگ، کلروزه و نکروزه شدن برگ‌ها، قرمز و قهوه‌ای شدن حاشیه برگ‌ها، کاهش سطح برگ، کاهش وزن خشک کل، قهوه‌ای شدن ریشه و کاهش رشد گیاه می‌گردد (Oloumi and Manouchehri-Kalantari, 2003). همچنین، این عنصر سبب تغییراتی در فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه می‌شود که می‌توان به واکنش با گروه سولفیدریل موجود در

ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌ها (Oloumi and Manouchehri-Kalantari, 2003)، تأثیر منفی بر روابط آبی گیاه و تبادلات گازی روزنه (Goncalvez *et al.*, 2007) و فرآیندهای تنفس و فتوسنتز اشاره کرد. در پی تأثیرات منفی کادمیوم بر فرآیندهای درون سلولی، تولید انواع اکسیژن فعال (رادیکال سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن منفرد) در سلول‌های گیاهی افزایش می‌یابد (Ammar *et al.*, 2008). انواع اکسیژن فعال، میل ترکیبی بسیار بالایی برای واکنش با مولکول‌های زیستی مهم سلول نظیر: لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها دارند. عواقب این پدیده به ترتیب: پراکسیداسیون لیپیدی، واسرشته شدن پروتئین‌ها و جهش در ساختار DNA است (Smeets *et al.*, 2005; Esfandiari and Vahdati Rad, 2012). مولکول‌های زیستی یاد شده نقش‌های کلیدی و مهمی را در سلول‌ها ایفا می‌نمایند. برای مثال، لیپیدها در تشکیل ساختار غشاها، به عنوان یکی از نقاط کلیدی تنظیم متابولیسم، شرکت می‌کنند (Esfandiari and Mahboob, 2014a). در اثر اکسیداسیون لیپیدهای غشایی، ضمن بروز اختلال در نفوذپذیری انتخابی غشاها، متابولیت سمی 4-hydroxynonenal تولید می‌گردد (Schneider *et al.*, 2008). این متابولیت حتی در مقادیر اندک (حدود ۱۰ تا ۲۰ میکرومولار) برای سلول سمی است و سبب فعال شدن یکسری مسیرهای متابولیسمی مخرب دیگر می‌شود (Schneider *et al.*, 2008). از جمله آنها می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم اندونوکلئاز و رهاسازی آنزیم

فسفات‌ها و عدم خلوص آنها از مهم‌ترین دلایل انباشته شدن این عنصر به شمار می‌آید. میزان بالای کادمیوم در خاک‌های زراعی می‌تواند همانند دیگر تنش‌های محیطی، رشد و نمو و در نهایت عملکرد گندم را کاهش داده، امنیت غذایی انسان را از نظر کمی و کیفی به خطر اندازد. با توجه به اهمیت گندم در تغذیه انسان، آگاهی از الگوی جذب و توزیع کادمیوم در اندام‌های مختلف ژنوتیپ‌های این گیاه و تأثیر مقادیر بالای عنصر یاد شده بر رشد و نمو ضروری به نظر می‌رسد. بر این اساس، شش رقم گندم نان با روش آیروپونیک کشت و الگوی جذب و توزیع کادمیوم و رشد و نمو گیاهچه‌های گندم در پاسخ به غلظت بالای کادمیوم بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نحوه کشت، پرورش، شرایط رشد و چگونگی

تهیه نمونه از گیاهچه‌های گندم: به منظور بررسی اثر کادمیوم بر ارقام مختلف گندم در شرایط کنترل شده و در مرحله گیاهچه‌ای، بذر یکنواخت ارقام کوه‌دشت، گاسکوژن، آگوستا، پشتاز، ایزنگران و MV17 انتخاب و با محلول ۰/۵ درصد (وزنی-حجمی) سدیم دودسیل سولفات که مدام هم‌زده می‌شد، به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شد. پس از آن، بذور با آب دیونیزه به خوبی شسته شده و بذور ضدعفونی شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و تاریکی روی کاغذ صافی جوانه‌دار شدند. گیاهچه‌های حاصل با روش هواکشت در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در اتاقک رشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال ۱۳۸۹ در شرایط محیطی ۱۶

سیتوکروم C-اکسیداز اشاره نمود که به ترتیب سبب خرد شدن DNA و رهاسازی آنزیم سیتوکروم C-اکسیداز می‌گردد (Zarkovic, 2003). آنزیم سیتوکروم C-اکسیداز در سلول‌های گیاهی در تولید انرژی نقش دارند (Esfandiari and Mahboob, 2014b).

همان‌طور که اشاره شد انواع اکسیژن فعال، نقاط کلیدی متابولیسم را هدف قرار می‌دهند که برآیند آنها به بروز اختلالات متابولیسمی، تنش اکسیداتیو و در نهایت مرگ گیاه منجر خواهد شد. سلول‌های گیاهی برای مقابله با آثار منفی انواع اکسیژن فعال و بروز اختلالات متابولیسمی به سازوکارهای دفاعی متعددی مانند چرخه‌های گلوتاتیون-آسکوربات، مه‌لر و گزانتوفیل مجهز شده‌اند. این چرخه‌ها از همکاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (نظیر: سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز، دهیدروآسکوربات پراکسیداز و برخی دیگر) و آنتی‌اکسیدان‌ها (مانند گلوتاتیون، آسکوربات، کاروتنوئیدها و نظایر آن) به وجود آمده‌اند (Edreva, 2005; Martins et al., 2011). علاوه بر سازوکارهای دفاعی یاد شده، آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز قادر است ترکیبات سمی خارج سلولی مانند کادمیوم و متابولیت‌های سمی حاصل از فعالیت‌های متابولیسمی مانند 4-hydroxynonenal را با کمک گلوتاتیون به داخل واکوئل منتقل نموده، از تأثیر منفی آنها بکاهد (Schneider et al., 2008).

همان‌طور که اشاره شد تجمع کادمیوم در خاک‌های زراعی بیش از سایر عناصر سنگین است (Merrikhpour, 2015) که مصرف بی‌رویه کودهای

کادمیوم در برگ و ریشه گیاهچه‌های گندم، تعدادی از برگ‌های بالغ و کاملاً توسعه یافته به همراه ریشه آنها برداشت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد. لازم به ذکر است که ریشه‌های گیاهچه‌ها پیش از خشک شدن چندین بار با آب دیونیزه شستشو داده شد تا کادمیوم احتمالی موجود روی ریشه‌ها حذف شده، در نتیجه نهایی تأثیر منفی نداشته باشد.

استخراج کادمیوم موجود در بافت‌های

گیاهچه‌های گندم و اندازه‌گیری آن: برای تعیین میزان کادمیوم انباشته شده در اندام‌های مورد مطالعه، برگ‌ها و ریشه‌های خشک شده به طور کامل آسیاب شده و ۰/۵ گرم از بافت‌های پودر شده در محلول غلیظ نیتریک اسید به مدت ۲۴ قرار گرفت تا نمونه‌ها به خوبی هضم شوند. سپس، محلول حاصل گرم شد تا بخارهای اسیدی از محلول خارج گردد. در ادامه، حجم محلول به ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده و از کاغذ صافی عبور داده شد. غلظت کادمیوم محلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AA-6300، شرکت SHIMADZU، ژاپن) اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت کادمیوم، پیش از اندازه‌گیری نمونه، محلول استاندارد به دستگاه تزریق شد. نمودار استاندارد با نرم‌افزار مخصوص دستگاه تعیین شد (Aghabarati et al., 2009).

اندازه‌گیری رشد: برای اندازه‌گیری طول ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی، ریشه و وزن کل گیاهچه، پس از گذشت ۱۴ روز از اعمال تیمار کادمیوم از گیاهچه‌های گندم نمونه‌برداری و طول ریشه آنها اندازه‌گیری شد. سپس، نمونه‌های حاصل به آون منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد

ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۶۵ درصد و شدت نور ۶۰۰۰ لوکس پرورش یافتند (Esfandiari et al., 2011). لازم به ذکر است که در روش هواکشت در طول دوره رشد گیاهچه‌ها آب و محلول غذایی به طور خودکار در هر ۱۵ دقیقه، پنج ثانیه بر روی ریشه‌ها مه‌پاشی شده و ریشه‌ها در محیط کاملاً اشباع از رطوبت در هوا معلق بود. در سیستم هواکشت در مقایسه با روش آب‌کشت، محلول غذایی کمتری نیاز است.

گیاهچه‌های گندم تا هفت روز پس از جوانه‌زنی تنها با مه‌پاشی آب، تا ۱۴ روز پس از جوانه‌زنی با محلول غذایی ۵۰ درصد و پس از زمان یاد شده با محلول غذایی کامل تغذیه شدند. ترکیب عناصر غذایی مورد استفاده در طول دوره رشد، بر اساس مقادیر به دست آمده در پژوهش Esfandiari و همکاران (۲۰۱۱) انجام گرفت. پس از رسیدن گیاهچه‌های گندم به مرحله ۴ تا ۵ برگگی، کلرید کادمیوم ۲۰۰ میکرومولار به محلول غذایی افزوده شد. همچنین، از محلول غذایی (بدون کلرید کادمیوم) به عنوان شاهد استفاده شد. گیاهچه‌ها به مدت ۱۴ روز در این شرایط نگهداری شد، سپس از برگ‌های بالغ و کاملاً توسعه یافته که پس از اعمال تیمار کادمیوم رشد یافته بودند، برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن و شاخص‌های بروز تنش اکسیداتیو، نمونه برگگی تهیه و بلافاصله در نیتروژن مایع غوطه‌ور شد. نمونه‌های برداشت شده تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌های مورد نظر (به شکل بافت گیاهی و بدون استخراج عصاره آنزیمی) در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. همچنین، برای اندازه‌گیری

(اسیدیته=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۱ میلی مولار، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۴ میلی مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج شده بود. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $2/8 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ محاسبه شد (Sairam *et al.*, 2002).

گایاکول پراکسیداز: کمپلکس واکنشی حاوی:

۱ میلی لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی مولار، ۱ میلی لیتر گایاکول ۵ میلی مولار، یک میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده است. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $26/6 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ محاسبه شد (Panda *et al.*, 2003).

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون

S- ترانسفراز: به منظور استخراج آنزیم گلوتاتیون S- ترانسفراز، ۰/۲ گرم از نمونه‌های برگ‌گی توزین و در ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم سرد ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۶/۸)، که محتوی EDTA ۰/۴ میلی مولار، پلی وینیل پیرولیدین ۰/۵ درصد (وزنی-حجمی) و سدیم بی‌متاسولفیت ۱ میلی مولار بود، همگن شد. نمونه‌های همگن شده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد با نیروی ۲۱۰۰۰g سانتریفیوژ (مدل ROTANTA460/460R، شرکت Hettich، آلمان) شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون S- ترانسفراز از محلول روشناور استفاده شد (Carmagnol

نگهداری گردید. پس از گذشت زمان یاد شده، نمونه‌ها به بخش‌های ریشه و اندام‌های هوایی تقسیم و توزین شد. وزن خشک کل گیاهچه، حاصل جمع وزن اندام‌های مورد اشاره است.

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های

حذف‌کننده پراکسید هیدروژن: برای استخراج آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن، ۰/۵ گرم از نمونه‌های فریز شده برگ‌گی توزین و در ۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم سرد ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷/۵) محتوی EDTA ۰/۵ میلی مولار، آسکوربیک اسید ۳ میلی مولار، پلی وینیل پیرولیدین ۵ درصد (وزنی-حجمی) افزوده شد. نمونه‌های همگن شده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد با نیروی ۱۵۰۰۰g سانتریفیوژ (مدل ROTANTA460/460R، شرکت Hettich، آلمان) شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن از محلول روشناور حاصل استفاده شد (Esfandiari *et al.*, 2011).

کاتالاز: برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز،

کمپلکس واکنشی حاوی: ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، ۰/۵ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱/۲۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی است که حجم نمونه‌ها با افزودن آب مقطر به ۳ میلی لیتر رسانده شد. تغییرات در جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از ضریب خاموشی $36/6 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ محاسبه شد (Aebi, 1984).

آسکوربات پراکسیداز: کمپلکس واکنشی حاوی:

۲۵۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار

نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل گردید. نمونه‌ها دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با نیروی ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ (مدل ROTANTA460/460R، شرکت Hettich، آلمان) شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد. میزان پراکسید شدن لیپیدها با استفاده از اختلاف بین طول موج‌های جذبی و ضریب خاموشی $155 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ به دست آمد.

برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن، ۰/۵ گرم نمونه برگ‌گی در ۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید (وزنی-حجمی) همگن و به مدت ۱۵ دقیقه با نیروی ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. سپس کمپلکس واکنش با ترکیب ۰/۵ میلی‌لیتر روشناور، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار (اسیدیته=۷) و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار به دست آمد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر ثبت گردید. میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد به دست آمد (Sergiv *et al.*, 1997).

تحلیل داده‌ها: تجزیه واریانس داده‌های آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. پیش از تجزیه واریانس، آزمون نرمال بودن داده‌ها با روش کولموگروف و اسمیرنوف (Steel and Torrie, 1980) برای کلیه صفات انجام شد. مقایسه میانگین با روش LSD در سطح ۵ درصد برای بررسی تأثیر معنی‌دار در جدول تجزیه واریانس و محاسبات آماری با نرم‌افزار Genstat نسخه ۱۲ انجام شد.

نتایج و بحث

در پژوهش حاضر، طول ریشه، وزن خشک ریشه، اندام‌های هوایی و کل تک بوته گیاهچه‌های ارقام مورد

(*et al.*, 1981). کمپلکس واکنشی حاوی: ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته=۷/۴)، ۴۵۰ میکرولیتر گلوکاتیون احیا شده ۳/۵ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر ۱-کلرو ۲ و ۴-دی نیترو بنزن ۳۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $10096 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ محاسبه شد (Carmagnol *et al.*, 1981).

میزان پروتئین محلول کل با روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. کمپلکس واکنش حاوی: ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده، ۲۰۰ میکرولیتر معرف بردفورد و ۷۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه است. در این روش معرف Bradford با آمینو اسیدهای آروماتیک وارد واکنش شده، ۲ دقیقه پس از اضافه شدن ترکیبات مورد اشاره، جذب آنها در طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. از سرم آلبومین گاوی به‌عنوان استاندارد استفاده شد (Bradford, 1976).

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی و

پراکسید هیدروژن: میزان پراکسیداسیون لیپیدی بر اساس روش Stewart و Bewley (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. در حدود ۰/۵ گرم از برگ‌های گندم در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید همگن و به مدت ۱۰ دقیقه با نیروی ۱۵۰۰۰g (مدل ROTANTA460/460R، Hettich، آلمان) سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از روشناور حاصل با ۴ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید محتوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد

(2014). کاهش هدایت روزنه‌ای، میزان دسترسی سلول‌های فتوستنتز کننده به دی‌اکسید کربن را کاهش می‌دهد که برآیند آن عدم تأمین متابولیت‌های مورد نیاز برای رشد سلول‌های گیاهی است. به علاوه، مقادیر بالای کادمیوم با ایجاد اختلال در فرآیند تنفس (Saremi Rad *et al.*, 2014)، تولید انرژی و اسکلت کربنی لازم برای تولید سایر مولکول‌های زیستی سلول را کاهش می‌دهد. همچنین، این عنصر مانع تثبیت و احیای نیتروژن در سلول‌های گیاه می‌گردد که در اثر آن تبدیل اسیدهای α -کتونی به آمینو اسیدها با محدودیت مواجه می‌شود (Esfandiari and Mahboob, 2014b). بنابراین، کادمیوم با ایجاد اختلال در اجرای فرآیندهای فوق مانع تأمین کافی و به موقع مولکول‌های زیستی سلول می‌شود که برآیند آن کاهش وزن خشک بخش‌های مختلف گیاهچه است. علاوه بر موارد یاد شده، کادمیوم با ایجاد اختلالات تغذیه‌ای و برهم زدن تعادل آبی گیاه کاهش وزن خشک را سبب می‌گردد (Soltani *et al.*, 2006). در این راستا، Yang و همکاران (1996) کاهش جذب کلسیم را در اثر افزایش میزان کادمیوم در محیط گزارش کرده‌اند که با توجه به نقش‌های فیزیولوژیک کلسیم در سلول‌های گیاهی، کاهش جذب این عنصر می‌تواند به کاهش رشد گیاه و تولید ماده خشک منجر شود. از سوی دیگر، کادمیوم سبب یکسری تغییرات در ساختار اندامک‌های داخل سلول می‌شود. Minoui و همکاران (2008) در مطالعه‌ای بر روی گیاه *Chlorophytum comosum* گزارش کردند که تعداد کلروپلاست و تیلاکوئیدهای موجود در گیاه، در مقادیر 100 میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم، در مقایسه با شاهد کاهش یافته است.

مطالعه گندم در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت و به ترتیب به: 94/02، 85/71، 91/66 و 90/32 درصد شاهد رسید (جدول 1).

رشد ریشه و افزایش طول آن نتیجه تقسیم سلولی و رشد سلول‌های حاصل در ناحیه مرستمی بود و هر گونه کاهش در تقسیم سلولی، تمایز زود هنگام سلول‌های حاصل و چوبی شدن سریع دیواره سلولی به کاهش طول ریشه منجر می‌گردد. کادمیوم از جمله عناصری است که بر ناحیه مرستمی اثر منفی داشته، با کاهش تقسیم سلولی و سریع تر نمودن تمایز سلولی و چوبی نمودن زود هنگام دیواره سلولی سلول‌های جدید، سبب کاهش رشد ریشه می‌گردد (Popova *et al.*, 2008). کاهش طول ریشه در اثر کادمیوم توسط Oloumi و Manouchehri- Kalantari (2003)، Zheng و همکاران (2010)، Amooaghaie و همکاران (2012)، Saremi Rad و همکاران (2014) نیز گزارش شده است که آنها دلیل آن را ناشی از تجمع کادمیوم در ریشه عنوان نموده‌اند.

وزن خشک بخش‌های مختلف گیاهچه‌های گندم حاصل تثبیت و احیای دی‌اکسید کربن به کربوهیدرات طی فرآیند فتوستنتز و تبدیل کربوهیدرات حاصل به سایر مولکول‌های زیستی سازنده ساختار گیاه است (Esfandiari and Mahboob, 2014b). بنابراین، هر عاملی که بتواند بر فرآیند فتوستنتز و بیوستنتز مولکول‌های زیستی دیگر تأثیر گذارد، به کاهش رشد و نمو و تولید ماده خشک منجر می‌گردد. کادمیوم عنصری است که در صورت تجمع در برگ سبب بسته شدن روزنه‌ها و در نهایت کاهش هدایت روزنه‌ای می‌شود (Popova *et al.*, 2008؛ Krantev *et al.*, 2008؛ Wahid *et al.*, 2008؛ Saremi Rad *et al.*, 2008).

Ghaderin and Jamali؛ Gong *et al.*, 2003)
 Hajiani, 2010) و وزن خشک کل توسط برخی از
 محققان (Oloumi and؛ Yang *et al.*, 1996)
 Hafezi *et al.*,؛ Manouchehri-Kalantari, 2003
 (2009) در مقادیر بالای کادمیوم گزارش شده است.

در حالی که ساختار بقیه اندامک‌ها تغییر چندانی نداشته
 است. اما در مقادیر بالاتر از این میزان، ساختار
 اندامک‌ها غیرطبیعی شده و تغییر نشان می‌دهند که
 می‌تواند از دلایل کاهش تولید ماده خشک در مقادیر
 بالای کادمیوم به‌شمار آید. کاهش وزن خشک ریشه

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر طول ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی و وزن خشک کل گیاهچه‌های
 گندم. مقادیر، میانگین ۵ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P > 0.05$ است.

طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم)	وزن خشک اندام‌های هوایی (میلی‌گرم)	وزن خشک کل گیاهچه (میلی‌گرم)
۴۵/۰۴a	۱۴a	۴۸a	۶۲a
۴۲/۳۵b	۱۲b	۴۴b	۵۶b

برگ‌ها نیز انتقال یابد. در پژوهش حاضر نیز میزان تجمع
 این عنصر در ریشه و اندام‌های هوایی ارقام مورد مطالعه
 در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت، اما
 میزان انباشته شدن کادمیوم در ریشه چندین برابر برگ
 بود (شکل ۱-A و B). به طوری که میزان کادمیوم
 موجود در ریشه در کمترین مقدار، ۹/۳۷ برابر و در
 بیشترین مقدار، ۱۵/۲۴ برابر برگ بود که به ترتیب به
 ارقام ایزنگران و گاسکوژن تعلق داشت. کادمیوم برای
 سلول‌های گیاهی سمی است و گیاهان با استفاده از
 راهکارهایی نظیر اتصال آن به دیواره سلولی (Gong *et al.*,
 2003)، ذخیره نمودن در واکول (Lozano-
 Rodriguez *et al.*, 1997) و کلاته نمودن با فیتو کلاتین
 (Gong *et al.*, 2003) این عنصر را در ریشه تثبیت
 نموده، ضمن کاهش سمیت این عنصر، سبب تجمع بیشتر
 کادمیوم در ریشه و کاهش انتقال آن به بخش‌های هوایی
 شوند (El-Beltaghi؛ Kalantari and Oloumi, 2005)
 (2010). *et al.*، تجمع بیشتر کادمیوم در ریشه در مقایسه

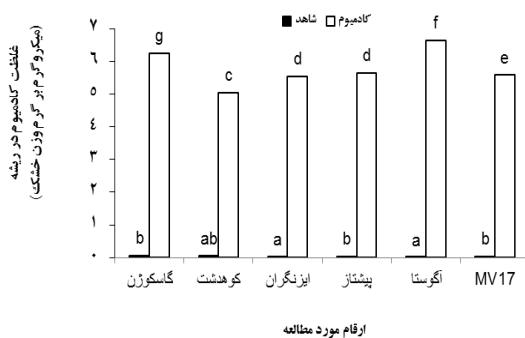
نتایج نشان داد که کادمیوم موجود در محیط توسط
 ریشه ارقام گندم مورد مطالعه جذب شده و سبب تجمع
 معنی‌دار این عنصر در ریشه تمامی ارقام گندم مورد
 مطالعه در مقایسه با شاهد شد. لازم به ذکر است که بین
 ارقام گندم از نظر میزان انباشت کادمیوم در ریشه
 اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به طوری که بیشترین
 میزان این عنصر در رقم آگوستا و کمترین آن در رقم
 کوه‌دشت مشاهده شد (شکل ۱-A). در تمامی ارقام
 گندم مورد مطالعه، کادمیوم انباشته شده در برگ‌ها در
 مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت، اگرچه
 بین ارقام یاد شده از نظر میزان کادمیوم موجود در برگ
 تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین و کمترین
 میزان عنصر یاد شده به ترتیب در ارقام ایزنگران و
 گاسکوژن تجمع یافت (شکل ۱-B).

کادمیوم عنصری است که در خاک تحرک بالایی
 دارد و به راحتی توسط ریشه گیاهان از جمله گندم
 جذب می‌شود و ضمن تجمع در این اندام، می‌تواند به

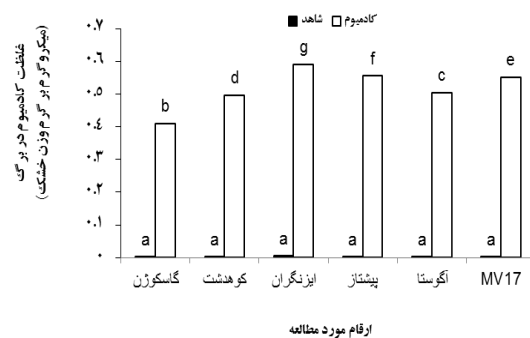
ایزنگران و پیشتاز)، می‌توان گفت که سازوکارهای مورد استفاده در ریشه گیاهچه‌های ارقام گندم برای ممانعت از انتقال کادمیوم به اندام‌های فوقانی مؤثر نبوده است. افزایش و تجمع کادمیوم در تمام بخش‌های گیاهان مورد مطالعه از جمله برگ‌ها با زیاده‌تر شدن میزان این عنصر در محیط ریشه توسط Lozano-Rodriguez و همکاران (۱۹۹۷)، Liu و همکاران (۲۰۰۶)، Izadiyar و Yargholi (۲۰۱۰) و Saremi Rad و همکاران (۲۰۱۴) گزارش شده است.

با اندام‌های هوایی نیز توسط Kalantari و Oloumi (۲۰۰۵) و El-Beltaghi و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. در مطالعه حاضر، بین ۵/۵۶ تا ۱۰/۶۷ درصد کادمیوم تجمع یافته در ریشه به برگ‌ها انتقال یافت که کمترین و بیشترین مقدار به ترتیب به ارقام گاسکوژن و ایزنگران تعلق داشت. اگرچه میزان این عنصر در برگ به مراتب کمتر از کادمیوم انباشته شده در ریشه بود، اما با توجه به افزایش معنی‌دار این عنصر در برگ در مقایسه با شاهد (در حدود ۱۱۸ تا ۵۵۵ برابر شاهد به ترتیب در ارقام

A



B



شکل ۱- A) میزان کادمیوم تجمع یافته در ریشه و (B) برگ گیاهچه‌های ارقام گندم مورد مطالعه. مقادیر، میانگین ۵ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P > 0.05$ است.

مورد مطالعه تغییرات این شاخص در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۲-B).

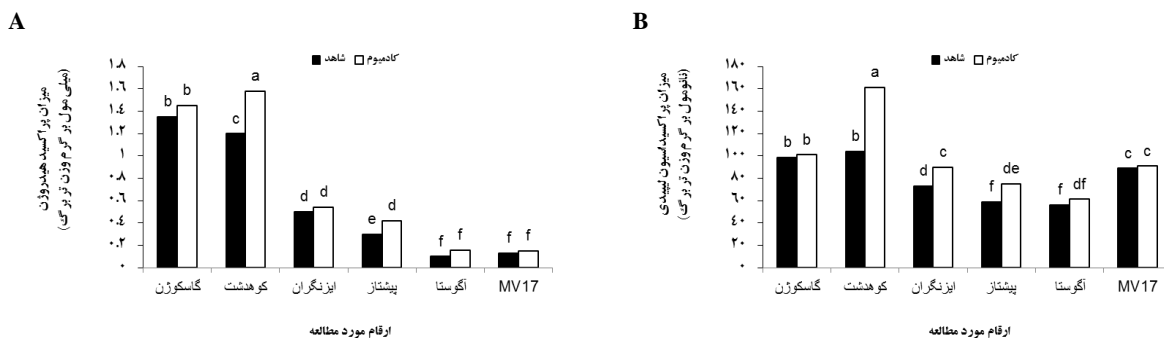
در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز به عنوان مهم‌ترین آنزیم‌های دخیل در جمع‌آوری پراکسید هیدروژن ارزیابی شد. نتایج نشان داد که در پی حضور کادمیوم در محیط، فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ ارقام گاسکوژن، کوهدهشت و MV17 به طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد کاهش یافت و به ترتیب به ۵۶/۸۹، ۳۴/۰۳ و ۴۸/۷۲ درصد شاهد رسید. اما در برگ

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با وجود کادمیوم در محیط، میزان پراکسید هیدروژن، به عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات سمی آسیب‌رسان به مولکول‌های زیستی مهم، تنها در سلول‌های برگ ارقام کوهدهشت و پیشتاز به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل ۲-A) و به ترتیب به ۱۳۱/۶۷ و ۱۴۰ درصد شاهد رسید. همچنین، در پی افزودن کادمیوم به محیط، پراکسیداسیون لپیدی تنها در برگ ارقام کوهدهشت، ایزنگران و پیشتاز افزایش یافت و به ترتیب به ۱۵۴/۸، ۱۲۲/۶۸ و ۱۲۷/۵۷ درصد شاهد رسید. اما در سایر ارقام

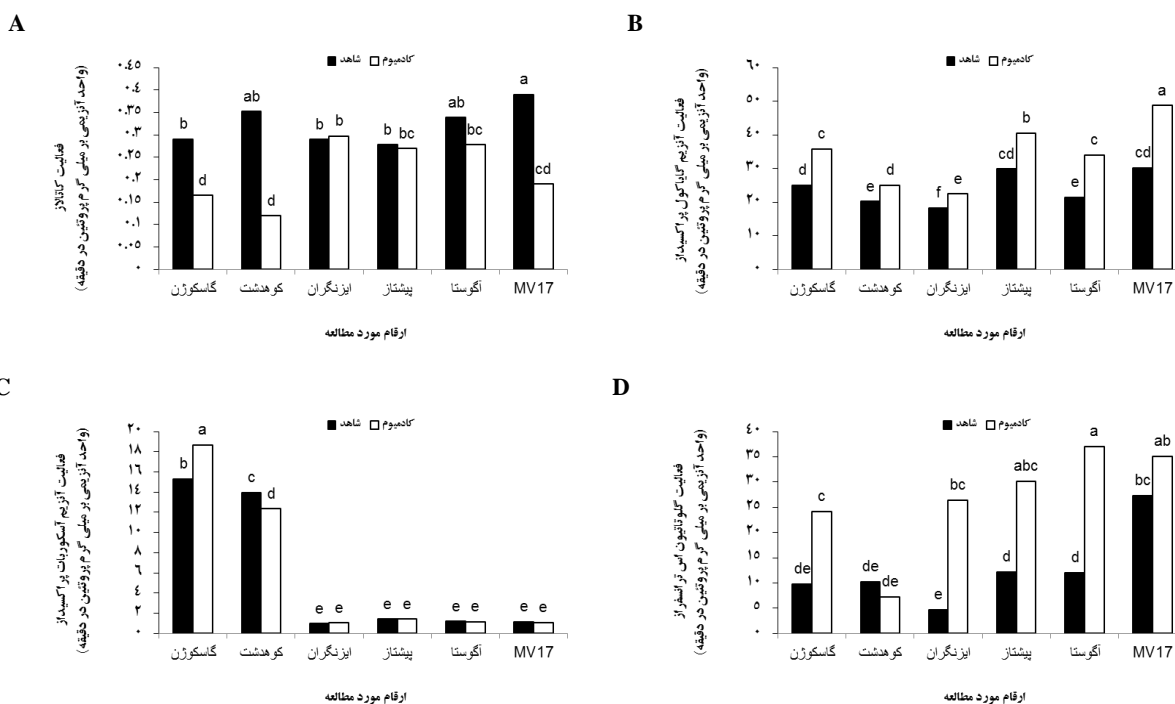
میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی در مقایسه با شاهد افزایش یابد و تنش اکسیداتیو اتفاق بیافتد. افزایش تولید انواع اکسیژن فعال و بروز تنش اکسیداتیو در مقادیر بالای کادمیوم نیز توسط محققان متعدد (Oloumi and Manouchehri-Kalantari, 2003؛ Cho and Seo, 2005؛ Kalantari and Martins *et al.*, 2006؛ Oloumi, 2005؛ Shan *et al.*, 2012؛ *al.*, 2011) گزارش شده است. در پژوهش حاضر، کاهش تولید ماده خشک در حضور کادمیوم نشان دهنده افت فعالیت چرخه کالوین یا سایر مسیرهای متابولیسمی است که کربوهیدرات‌های حاصل از چرخه کالوین را به سایر مولکول‌های زیستی تبدیل می‌نمایند، که می‌توان کاهش ماده خشک را بیانگر حساسیت این ارقام گندم به دوز کادمیوم مورد مطالعه دانست. با کاهش فعالیت چرخه کالوین، به دلیل بسته شدن زنجیر انتقال الکترون کلروپلاستی، تولید انواع اکسیژن فعال در کلروپلاست افزایش می‌یابد (Edreva, 2005). در حالی که بر خلاف انتظار، نتایج نشان داد که در اثر حضور کادمیوم در محیط، میزان پراکسید هیدروژن، به‌عنوان یکی از انواع اکسیژن فعال و از مهم‌ترین ترکیبات سمی آسیب‌رسان به مولکول‌های زیستی مهم، تنها در سلول‌های برگ ارقام کوهدشت و پیشتاز (شکل ۲-۱) و میزان پراکسیداسیون لیپیدی پس از افزودن کادمیوم به محیط تنها در برگ ارقام کوهدشت، ایزنگران و پیشتاز به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل ۲-۲). با توجه به نتایج پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان شاخص ارزیابی وقوع تنش اکسیداتیو، می‌توان ارقام را بر اساس این شاخص، به دو بخش عدم افزایش (گاسکوژن، آگوستا و MV17) و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی (کوهدشت، ایزنگران و پیشتاز) تقسیم نمود.

سایر ارقام مورد مطالعه فعالیت کاتالاز تغییر معنی‌داری نداشت (شکل ۳-۱). در حالی که در برگ تمامی ارقام گندم مورد مطالعه فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در حضور کادمیوم در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳-۲). به طوری که در ارقام گاسکوژن، کوهدشت، ایزنگران، پیشتاز، آگوستا و MV17 میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب به ۱۴۲/۸۹، ۱۲۳/۹۳، ۱۲۲/۵۷، ۱۳۵/۴۳، ۱۵۸/۱۲ و ۱۶۱/۵۳ درصد شاهد رسید. به علاوه، نتایج نشان داد که در بین ارقام مورد مطالعه، فعالیت آسکوربات پراکسیداز تنها در برگ ارقام گاسکوژن و کوهدشت در سطح احتمال ۵ درصد، به ترتیب افزایش (۱۲۱/۹۵ درصد شاهد) و کاهش (۸۸/۵۲ درصد شاهد) معنی‌دار داشته، تغییرات فعالیت این آنزیم در برگ سایر ارقام معنی‌دار نبود (شکل ۳-۳). همچنین، فعالیت آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز در حضور کادمیوم در برگ ارقام گندم مورد مطالعه به غیر از کوهدشت و MV17 نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. لازم به ذکر است به استثنای ارقام کوهدشت و MV17، در ارقام ایزنگران، آگوستا، گاسکوژن و پیشتاز میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب ۶۰۰، ۲۹۲، ۲۴۷ و ۲۴۰ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد (شکل ۳-۴).

با توجه به کاهش وزن خشک ریشه، اندام‌های هوایی و کل گیاهچه‌های گندم در اثر حضور کادمیوم (جدول ۱) و تجمع این عنصر در ریشه و برگ ارقام مورد مطالعه (شکل ۱) به همراه تأثیر منفی کادمیوم بر فرآیندهای حیاتی گیاه نظیر: عدم مصرف محصولات نوری فتوسنتز در چرخه کالوین در پی کاهش هدایت روزنه‌ای (Saremi Rad *et al.*, 2014) انتظار می‌رفت که تولید انواع اکسیژن فعال در سلول‌های برگ روند صعودی داشته باشد و در تمامی ارقام مورد مطالعه



شکل ۲- اثر کادمیوم بر میزان پراکسید هیدروژن و (B) پراکسیداسیون لیپیدی در برگ گیاهچه های ارقام گندم مورد مطالعه. مقادیر، میانگین ۵ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P > 0.05$ است.



شکل ۳- اثر کادمیوم بر فعالیت آنزیم های کاتالاز، (B) گایاکول پراکسیداز، (C) آسکوربات پراکسیداز و (D) گلوکاتایون S-ترانسفراز در برگ گیاهچه های ارقام گندم مورد مطالعه. مقادیر، میانگین ۵ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P > 0.05$ است.

افزایش یافت، اما نتوانست کاهش سایر آنزیم‌های جمع آوری کننده پراکسید هیدروژن را جبران نماید (شکل ۳-B). علاوه بر این، در بین ارقام مورد مطالعه بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدی در رقم کوهدشت اتفاق افتاد که می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت

در رقم کوهدشت کاهش فعالیت آنزیم های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز (شکل ۳-A و C) در حضور کادمیوم، می‌تواند از دلایل افزایش تولید پراکسید هیدروژن (شکل ۱-A)، به شمار آید. اگرچه در این رقم فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به طور معنی داری

(al., 2008) در نتیجه، تأثیر منفی آنها بر نقاط کلیدی متابولیسم به کمترین مقدار خواهد رسید. Seo و Cho (۲۰۰۵)، Unyayar و همکاران (۲۰۰۶) و Shan و همکاران (۲۰۱۲) معتقدند که در اثر کادمیوم تولید انواع اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن بر سازوکارهای جمع‌آوری کننده آنها غلبه کرده و سبب افزایش آسیب به غشاها و تنش اکسیداتیو می‌گردد.

در ارقام گاسکوژن، آگوستا و MV17 اگرچه در حضور کادمیوم میزان وزن خشک تولید شده در بخش‌های مختلف و کل گیاهچه‌های گندم در مقایسه با شاهد کاهش داشت (جدول ۱) و همچنین، میزان کادمیوم انباشته شده در برگ آنها در مقایسه با شاهد افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است، اما در بین ارقام مورد مطالعه، کمترین میزان کادمیوم در برگ این ارقام، به غیر از کوه‌دشت، انباشته شد (شکل ۱). در این ارقام، اگرچه فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تغییر معنی‌داری نداشته و همچنین فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم MV17 کاهش داشته است، اما در هر سه رقم مورد مطالعه، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و گلوکاتایون S-ترانسفراز در مقایسه با شاهد افزایش داشته است (شکل ۳-B و D). برآیند این تغییرات باعث شد تا تجمع پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی در مقایسه با شاهد اتفاق نیفتد (شکل ۲-A و B). به نظر می‌رسد که به دلیل تجمع کمتر کادمیوم در برگ ارقام گاسکوژن، آگوستا و MV17 در مقایسه با سایر ارقام (شکل ۱)، آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز توانسته است با سم‌زدایی کادمیوم مانع آسیب رسیدن به بخش‌های کلیدی سلول مانند غشاها شود که حاصل آن کاهش حجم تولید پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی

آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون S-ترانسفراز (شکل ۳-D) و تجمع پراکسید هیدروژن باشد (شکل ۲-A). در ارقام ایزنگران و پیشتاز اگرچه در حضور کادمیوم میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش یافته است (شکل ۳-B)، اما فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تغییر معنی‌داری نشان نداد (شکل ۳-A و C). همچنین، اگرچه در ارقام ایزنگران و پیشتاز فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز در حضور کادمیوم در مقایسه با شاهد افزایش داشت (شکل ۳-D)، اما در بین ارقام مورد مطالعه بیشترین تجمع کادمیوم در این ارقام مشاهده شد (شکل ۱). عدم افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (شکل ۳-A) و کافی نبودن افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز (شکل ۳-D) می‌تواند از دلایل افزایش پراکسیداسیون لیپیدی (شکل ۲-B) به‌شمار آید. زیرا آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه‌های گلوکاتایون-آسکوربات و مهلر به عنوان آنزیم نهایی نقش مهمی در جمع‌آوری پراکسید هیدروژن برعهده دارد (Mittler, 2002؛ Edreva, 2005). لازم به ذکر است که برخلاف چرخه مهلر که تنها در کلروپلاست اجرا می‌گردد، چرخه گلوکاتایون-آسکوربات در اندامک‌های دیگر مانند میتوکندری و سیتوسول اجرا می‌شود (Edreva, 2005). افزایش فعالیت چرخه‌های یاد شده می‌تواند از تجمع پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نماید (Edreva, 2005). همچنین، آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز قادر است کادمیوم و متابولیت سمی 4-Hydroxynonenal را به داخل واکوئول منتقل نموده و سمیت آن را به حداقل برساند (Schneider et

شده است. آنها معتقدند که فعالیت بالای این آنزیم‌ها از آثار منفی این عنصر کاسته و سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و تنش اکسیداتیو می‌گردد. بدین ترتیب، سلول‌های گیاه در شرایط پایدارتری قرار گرفته و فعالیت‌های متابولیک آنها حفظ می‌گردد (El-Beltaghi *et al.*, 2010).

به‌عنوان نتیجه کلی می‌توان اظهار نمود که کادمیوم موجود در محیط جذب می‌شود و در برگ ارقام گندم تجمع می‌یابد که حاصل آن کاهش ماده خشک بخش‌های مختلف و کل گیاهچه‌های گندم بود که نشان‌دهنده حساسیت ارقام مورد مطالعه به کادمیوم است. با این وجود، به دلیل عملکرد بهتر سازوکارهای دفاعی در ارقام گاسکوژن، آگوستا و MV17 در مقایسه با سایر ارقام، تنش اکسیداتیو در برگ آنها اتفاق نیفتاد.

سپاسگزاری

نگارندگان از مسئولان دانشگاه مراغه به خاطر حمایت مالی از پژوهش نهایت قدردانی و تشکر را دارند.

است (شکل ۲). به بیان دیگر، به دلیل توانایی این ارقام در جداسازی و نگهداری کادمیوم در بخش‌هایی مانند واکوئول، علیرغم کاهش فعالیت چرخه کالوین و افت تولید ماده خشک، به دلیل عدم افزایش تولید انواع اکسیژن فعال، لزومی به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیست. Cho و Seo (۲۰۰۵) و Zhang و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عدم تجمع پراکسید هیدروژن را مهم‌ترین عامل مقاومت به کادمیوم عنوان کرده‌اند. از طرفی، Martins و همکاران (۲۰۱۱) ضمن گزارش افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در اثر افزودن کادمیوم به محیط در برگ توتون، اظهار نمودند که این آنزیم نقش بسیار مهمی در تنظیم و جمع‌آوری پراکسید هیدروژن و مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از مقادیر بالای کادمیوم بر عهده دارد. افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتیون S-ترانسفراز و آنزیم‌های جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن، در اثر افزودن کادمیوم به محیط توسط El-Beltaghi و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش

منابع

- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Method of Enzymology 105(1): 121-126.
- Aghabarati, A., Hosseini, S. M., Esmaili, A. and Maralian, H. (2009) The effect of irrigation with municipal effluent on physic-chemical characteristics of soil, accumulation of nutrients and Cd in Olive trees. Environmental Sciences 6(3): 1-10 (in Persian).
- Ammar, W., Nouairi, I., Zarrouk, M., Ghorbel, M. and Jemal, F. (2008) Antioxidative response to cadmium in roots and leaves of tomato plants. Biologia Plantarum 52(4): 727-731.
- Amooaghaie, A., Marefat, E. and Shabani, L. (2012) Interaction of salicylic acid and cadmium on growth, photosynthetic pigments and ion distribution in arial parts of soybean plantlets. Iranain Journal of Plant Biology 4(14): 75-88 (in Persian).
- Balsberg, P. M. (1989) Toxicity of heavy metal (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. Water, Air and Soil Pollution 47(3-4): 287-314.
- 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.

- Carmagnol, F., Sinet, P. M., Rapin, J. and Jerome, H. (1981) Glutathione S-transferase of human red blood cells assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: hiperbilirubinemia and impaired renal function. *Clinica Chimica Acta* 117(2): 209-217.
- Cho, U. and Seo, N. (2005) Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Science* 168(1): 113-120.
- Edreva, A. (2005) Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106(2): 119-133.
- El-Beltaghi, H., Amal, A. and Rashed, M. (2010) Response of antioxidative enzymes to cadmium stress in leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.). *Notulae Scientia Biologicae* 2(4): 76-82.
- Esfandiari, E. and Javadi, A. (2014) Role of scavenging enzymes and hydrogen peroxide and glutathione S-transferase in mitigating the salinity effects on wheat. *Iranian Journal of Plant Biology* 6 (2): 1-16 (in Persian).
- Esfandiari, E. and Mahboob, S. A. (2014a) *Plant biochemistry*, vol. I. Tabriz University of Medical Science Press, Tabriz (in Persian).
- Esfandiari, E. and Mahboob, S. A. (2014b) *Plant biochemistry*, vol. II. Tabriz University of Medical Science Press, Tabriz (in Persian).
- Esfandiari, E. and Vahdati Rad, A. (2012) Decline of tolerance in leaf photooxidative-stress with age in sunflower. *Iranian Journal of Plant Biology* 4 (4): 1-14 (in Persian).
- Esfandiari, E., Javadi, A., Shokrpour, M. and Shekari, F. (2011) The effect of salt stress on the antioxidant defense mechanisms on wheat seedling. *Fresenius Environmental Bulletin* 20(8): 2021-2036.
- Ghaderin, S. M. and Jamali Hajiani, N. (2010) Tolerance, uptake and accumulation of cadmium in *Matthiola chenopodiifolia* Fisch & C. A. Mey (Brassicaceae). *Iranian Journal of Plant Biology* 2(6): 87-98 (in Persian).
- Goncalvez, J., Beker, A., Cargnelutti, D., Tabaldi, L., Pereira, L., Battisti, V., Spanevello, R., Morsch, V., Nicoloso, R. and Schetinger, M. (2007) Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of the antioxidant system in cucumber seedling. *Brazilian Journal Plant Physiology* 19(3): 223-232.
- Gong, J., David, A. and Julian, I. (2003) Long-distance root-to-shoot transport of phytochelatins and cadmium in *Arabidopsis*. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(17): 10118-10123.
- Hafezi, M., Shoushtari, A. N., Asrar, Z. and Torkezadeh, M. (2009) Effects of toxic concentrations of cadmium on nodulation and nitrogen fixation of different strains of *Sinorhizobium meliloti* in *Medicago sativa*. *Iranian Journal of Biology* 22(4): 626-635 (in Persian).
- Izadiyar, M. H. and Yargholi, B. (2010) Study of cadmium absorption and accumulation in different parts of four forages. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science* 9(3): 231-238.
- Kalantari, K. and Oloumi, H. (2005) Study the effects of CdCl₂ on lipid peroxidation and antioxidant compounds content in *Brassica napus*. *Iranian Journal of Science and Technology* 29(A1): 201-208.
- Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G. and Popova, L. (2008) Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of Plant Physiology* 16(9): 920-931.

- Liu, D. H., Wang, J., Zou, H. and Jiang, L. S. (2006) Uptake and accumulation of cadmium and some nutrient ions by roots and shoots of maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Botany* 38(3): 701-709.
- Lozano-Rodriguez, E., Hernandez, L. E., Bonay, P. and Carpena-Ruiz, R. O. (1997) Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances. *Journal of Experimental Botany* 48(1): 123-128.
- Martins, L., Migue, P., Cardoso, A., Pinto, A., Mota, A., Lurdes, S., Gonc, A. and Varennes, A. (2011) Oxidative stress induced by cadmium in *Nicotiana tabacum* L., effects on growth parameters, oxidative damage and antioxidant responses in different plant parts. *Acta Physiology Plantarum* 33(4): 1375-1383.
- Merrikhpour, H. (2015) Evaluation of heavy metal amounts in soils of agricultural land under cucumber cultivation and phosphorus chemical fertilizers application. 4th Iranian Congress of Trace elements, Hamedan, Iran (in Persian).
- Minoui, S., Minai-tehrani, D., Samiee, K. and Farivar, Sh. (2008) Study of the macroscopic and microscopical changes of the effect of cadmium on *Chlorophytum comosum*. *Iranian Journal of Biology* 21(3): 737-747 (in Persian).
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7(9): 405-410.
- Oloumi, H. and Manouchehri-Kalantari, Kh. (2003) Study the effects of cadmium chloride on growth parameters, chlorophyll, carotenoids, proteins and sugar content in canola plants. *Pajouhesh va Sazandegi* 59(2): 74-80 (in Persian).
- Panda, S. K., Singha, L. B. and Khan, M. H. (2003) Does aluminium phytotoxicity induce oxidative stress in greengram (*Vigna radiate*)?. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 29(1-2): 77-86.
- Popova, L., Maslenkova, L., Yordanova, R., Krantev, A., Azalai, G. and Janda, T. (2008) Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *Gen Applied Plant Physiology* 34(3-4): 133-148.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 16(5): 1037-1046.
- Saremi Rad, B., Esfandiari, E., Shokrpour, M., Sofalian, O., Avanes, A. and Mousavi, S. B. (2014) Cadmium effects on some morphological and physiological parameters in wheat at seedling stage. *Iranian Journal of Biology* 27(1): 1-11 (in Persian).
- Schneider, C., Porter, N. and Brash, A. (2008) Routes to 4-hydroxynonenal: fundamental issues in the mechanisms of lipid peroxidation. *Journal of Biological Chemistry* 283(23): 15539-15543.
- Sergiv, I., Alexieva, V. and Karanov, E. (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare Des Sciences* 51(4): 121-124.
- Shan, S., Liu, F., Li, A. and Wan, S. (2012) Effects of cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant enzyme activities in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. *Journal of Agricultural Science* 4(6): 142-151.
- Smeets, K., Cuypers, A., Lambrechts, A., Semane, B., Hoet, P., Van Laere, A. and Vangronsveld, J. (2005) Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. *Plant Physiology and Biochemistry* 43(5): 437-444.

- Soltani, F., Ghorbanli, M. and Manoucheri-Kalantari, Kh. (2006) Effect of cadmium on photosynthetic pigments, sugars and malonaldehyde content in *Brassica napus* L.. Iranian Journal of Biology 19(2): 136-147 (in Persian).
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1980) Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. McGraw-Hill Companies, Inc., New York.
- Stewart, R. R. C. and Bewley, J. D. (1980) Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. Plant Physiology 65(2): 245-248.
- Unyayar, S., Celik, A., Ozlem, F. and Gozel, A. (2006) Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*. Mutagenesis 21(1): 77-81.
- Wahid, A., Ghani, A. and Javed, F. (2008) Effect of cadmium on photosynthesis, nutrition and growth of mungbean. Agronomy for Sustainable Development 28(2): 273-280.
- Yang, X., Baligar, V., Martens, D. and Clark, R. (1996) Cadmium effects on influx and transport of mineral nutrients in plant species. Journal of Plant Nutrition 19(3-4): 643-656.
- Zarkovic, N. (2003) 4-Hydroxynonenal as a bioactive marker of pathophysiological processes. Molecular Aspects of Medicine 24(4-5): 281-291.
- Zheng, G., Lv, H., Gao, R. and Wang, S. (2010) Effects of cadmium on growth and antioxidant responses in *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. Plant, Soil and Environment 56(11): 508-515.

Evaluation of Cd effects on growth and some oxidative stress parameters of wheat cultivars during seedling stage

Ezatollah Esfandiari * and Nader Rostami

Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Abstract

Regarding negative effects of Cd on wheat growth, it seems that evaluation of wheat cultivars behaviors in response to Cd existence is necessary. In this regard, six different cultivars of wheat were selected and cultivated by aeroponic system. Then they were treated by 200 mM cadmium chloride for 14 days since they have reached 3 or 4 leaves stage. Finally, plants were sampled and morphological characteristics, parameters subjected to defense mechanisms as well as amount of accumulated Cd in tissues were evaluated. The results showed that cadmium accumulation in tissues significantly decreased root length and dry matter of root, shoot and whole plant. Cd accumulation also increased hydrogen peroxide amount in leaf cells of Kohdasht and Pishtase cultivars. However, lipid peroxidation was noticed in Izengeran cultivar as well as two previously mentioned cultivars. The reduced activities of glutathione S-transferase, catalase and ascorbate peroxidase enzymes are probably the main reasons of the lipid peroxidation increase in Kohdasht cultivar. However, there was no damage on membranes of Izengeran and Pishtase cultivars, which indicates the balance between production and scavenging of damaging factors of these cultivars. Generally, it can be stated that available Cd in medium was adsorbed and accumulated in wheat leaves resulting in reduction in dry matter of different parts and whole seedling of wheat which is due to susceptibility of different cultivars to Cd. However, there were no oxidative stresses in leaves of Gaskogen, Agosta and MV17 cultivars due to their better defense mechanisms.

Key words: Antioxidant enzymes, Hydrogen peroxide, Defense mechanisms, Dry matter

* Corresponding Author: esfandiari@maragheh.ac.ir