

## بررسی اثر کادمیوم کلرید بر پارامترهای رشدی، محتوای پرولین، قندها و پروتئین محلول در دانه رست‌های عدس (Lense miller)

• گیتی کریمی

دانشجوی کارشناسی ارشد

• مجید نوجوان

استاد گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: آبان‌ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: آبان‌ماه ۱۳۸۵

Email: Karimi - g10@yahoo.com

### چکیده

به منظور بررسی اثر کادمیوم بر برخی از پارامترهای رشدی و فیزیولوژیک دانه رست‌های عدس بذره‌های تهیه شده، ضد عفونی گردیده و کشت اولیه بذرها در داخل انکوباتور ۲۵ درجه سانتیگراد درون ظروف پتری صورت گرفت. سپس دانه رسته‌های دو روزه یکسان انتخاب و به پتری دیشهای ۹ سانتیمتری حاوی کاغذ واتمن شماره ۱ و ۹ میلی لیتر از محلول با غلظت‌های صفر به عنوان شاهد، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرومولار کادمیوم کلرید انتقال یافتند. پس از چهار روز شاخص‌های مورد نظر برای دانه رست‌های هر تیمار، به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محلول غذایی رشد طولی ریشه کاهش یافته، در حالی که طول اندام هوایی در غلظت کم افزایش و در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت. وزن خشک اندام هوایی و ریشه، همچنین تعداد ریشه‌های فرعی با افزایش غلظت کادمیوم کاهش نشان داد. محتوای پرولین ریشه و اندام هوایی، قند و پروتئین‌های محلول دانه رست‌ها با افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافت که این موارد می‌تواند آثاری از ساز و کارهای مقاومت گیاهان در برابر تنش کادمیوم باشد.

کلمات کلیدی: کادمیوم، عدس، پرولین، پروتئین، قند، تنش کادمیوم

Pajouhesh &amp; Sazandegi No 76 pp: 46-53

An investigation of the effects of cadmium chloride on growth parameters, proline content, the soluble protein and sugar content in lentile ( *Lense miller*) seedlings.

By: Karimi, G. and M. Nojavan, Department of Biology, Urmia University.

In order to study the effects of cadmium on some growth and physiological parameters on lentil seedlings, seeds were sterilized and incubated in 9 cm petri dishes at 25°C. Then, two days old similar seedlings, were selected and transferred into petries containing 0, 20, 40, 80 and 160  $\mu\text{M}$  cadmium chlorid solutions. All measurements were carried out after 4 days. The results showed that, with increasing Cd concentration in nutrient solution, root longitudinal growth decreased. While the shoot length increased at 20  $\mu\text{M}$  cadmium and then decreased. The dry weights of roots and shoots and the number of secondary roots also decreased. The proline of roots and shoots, soluble sugar and protein contents increased with increasing Cd concentration, which could be resulted from mechanisms of plant tolerance against Cd imposed stress.

**Key words:** Cadmium, Lentil, Proline, Protein, Sugar, Cadmium Stress

### مقدمه

کادمیوم اضافی از فعالیت روبیسکو آنزیم کلیدی چرخه کالوین، ممانعت به عمل آورده (۷). تنفس، جذب و انتشار عناصر غذایی و متابولیسم نیترژن و سولفات را در گیاهان مختل می‌نماید (۳، ۱۲، ۱۳، ۲۱).

به دنبال اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی، کاهش عمده رشد همراه با تجمع کادمیوم در قسمت‌های مختلف گیاه، به ویژه تغییرات بسیار سریع در ویژگی‌های رشدی اندام‌هایی همانند ریشه‌ها که اولین برخورد مستقیم با مواد زیان آور خاک‌های آلوده را دارند، مشاهده می‌گردد (۲). هنگامی که یاخته مقادیر زیادی از فلز سنگین را دریافت می‌نماید، دامنه وسیعی از پاسخ‌های یاخته‌ای را در مقابل تنش کادمیوم ایجاد می‌نماید که افزایش پروتئین‌هایی با جرم مولکولی کم و سنتز پپتیدهای پاک کننده فلز از جمله این موارد می‌باشند (۱۵، ۳۰).

در این تحقیق به منظور بررسی اثر سمیت یون کادمیوم بر رشد و نمو دانه رسته‌های عدس پارامترهایی چون رشد طولی، وزن خشک، محتوای پرولین ریشه و اندام هوایی و میزان قندها و پروتئین‌های محلول دانه رسته‌ها مورد اندازه‌گیری و مقایسه قرار گرفت.

کادمیوم یکی از سمی‌ترین عناصر برای اندامگان‌های زنده است که نقش زیستی ندارد (۱۶). این فلز عمدتاً از طریق فرایندهای صنعتی و کودهای فسفاته وارد محیط زیست شده، سپس به زنجیره غذایی راه می‌یابد (۳۱).

کادمیوم به صورت یون‌های آزاد یا یون‌هایی که به راحتی حل می‌شوند در خاک‌های آلوده حضور دارد (۱۴). مطالعات انجام گرفته روی گونه‌های گیاهی متفاوت نشان داده است که کادمیوم به راحتی از طریق ریشه‌ها جذب می‌گردد (۶).

این فلز برای گیاهان سمی بوده، با تشکیل کمپلکس‌های پیچیده با گروه‌های جانبی ترکیبات آلی مانند پروتئین‌ها در بسیاری از اعمال یاخته‌ای دخالت کرده در نتیجه از فعالیت‌های ضروری یاخته جلوگیری می‌نماید. همچنین تغییرات ژنتیکی و بیوشیمیایی را که پاسخ‌های عمومی گیاه در برابر تنش کادمیوم می‌باشند، تحریک می‌نماید (۲۴).

کادمیوم با افزایش پراکسیداسیون لیپید و تولید گونه‌های فعال اکسیژن زوال غشاها را فراهم می‌نماید (۳۲). فتوسنتز به کادمیوم حساس بوده و کلروفیل و آنزیم‌های دخیل در تثبیت  $\text{CO}_2$ ، از اهداف مهم کادمیوم می‌باشند (۷، ۲۰).

## مواد و روش‌ها

اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت پروتئین برای هر نمونه با استفاده از رسم منحنی استاندارد تهیه شده از سرم آلبومین گاوی محاسبه شد.

### اندازه‌گیری محتوای پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین نمونه خشک ساییده شده اندام هوایی و ریشه به طور جداگانه توزین گردیده و روش Bates و همکاران (۵) در مورد نمونه‌ها اجرا شد. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico ۲۱۰۰) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای پرولین هر نمونه با استفاده از رسم منحنی استاندارد بر حسب میکرو گرم بر گرم وزن خشک بدست آمد.

### تجزیه و تحلیل‌های آماری

آزمایش‌ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (CRD) طرح‌ریزی شده، هر پتری شامل ده دانه رست به عنوان یک تکرار و هر تیمار دارای سه تکرار بود. برای تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و رسم منحنی‌ها با استفاده از روش (Mean  $\pm$  SE) انجام گرفت.

### نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مقایسه رشد طولی اندام‌های هوایی و ریشه‌ها، همچنین بررسی شکل ۱ و جدول ۱ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کادمیوم، طول ریشه‌ها در تمام تیمارها نسبت به شاهد کاهش یافته و اختلاف بین شاهد با سایر تیمارها معنی دار می‌باشد. در حالیکه طول اندام هوایی در تیمار ۲۰  $\mu\text{M}$  کادمیوم افزایش، اما در غلظت‌های (۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرو مولار) کادمیوم، نسبت به شاهد کاهش یافته است. مقایسه میانگین‌ها مشخص می‌کند که اختلاف طول اندام هوایی بین شاهد و ۲۰  $\mu\text{M}$  کادمیوم، همچنین شاهد و ۴۰  $\mu\text{M}$  کادمیوم از نظر آماری معنی دار نبوده، اما اختلاف بین شاهد و سایر غلظت‌ها معنی دار می‌باشد. در تیمارهای مختلف با افزایش غلظت کادمیوم طول ریشه به ترتیب ۳۳٪، ۶۸٪، ۷۸٪ و ۸۲٪ کاهش نسبت به شاهد در ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرو مولار کادمیوم و طول اندام هوایی ۵/۸٪ افزایش در ۲۰  $\mu\text{M}$  کادمیوم و به ترتیب ۴٪، ۱۶٪ و ۲۹٪ کاهش نسبت به شاهد در ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرو مولار کادمیوم را نشان می‌دهد. این یافته بیانگر آن است که غلظت ۲۰  $\mu\text{M}$  کادمیوم باعث تحریک رشد در اندام هوایی عدس گردیده، هر چند که این افزایش رشد اختلاف معنی دار با شاهد را نشان نمی‌دهد. اما کادمیوم در غلظت‌های بالاتر به عنوان عامل باز دارنده رشد اندام هوایی عمل نموده است. این در حالی است که حتی غلظت‌های کم کادمیوم از رشد ریشه‌ها ممانعت می‌نماید. بنابراین اثر کادمیوم بر رشد طولی ریشه‌ها بارزتر از اندام هوایی بوده است.

با افزایش غلظت کادمیوم وزن خشک ریشه و اندام هوایی در تمام غلظت‌ها، نسبت به شاهد کاهش یافته است (شکل ۲ و جدول ۱). بین میانگین شاهد و غلظت ۲۰  $\mu\text{M}$  کادمیوم در ریشه و اندام هوایی اختلاف معنی‌داری وجود نداشته، اما اختلاف بین وزن خشک تیمارهای (۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرو مولار) کادمیوم و شاهد معنی دار می‌باشد. مقایسه اثر کادمیوم بر وزن خشک اندام‌ها نشان می‌دهد که وزن خشک در غلظت‌های

بذرهای عدس مورد استفاده از بازار محلی تهیه گردیده و بذرهای یکسان از نظر شکل و اندازه انتخاب، با کمک سدیم هیپوکلریت ۱٪ سترون و با آب جاری، سپس با آب مقطر شستشو شدند. تعداد ۱۰ عدد بذر در پتری دیش‌های ۹ سانتیمتری حاوی کاغذ واتمن شماره ۱ و ۹ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شده و پتری‌ها درون انکوباتور ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت، تعداد ۱۰ عدد از دانه رسته‌های یکسان انتخاب و به پتری دیش‌های ۹ سانتیمتری حاوی کاغذ واتمن شماره ۱ و ۹ میلی لیتر از محلول با غلظت‌های صفر به عنوان شاهد، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرومولار کادمیوم کلرید انتقال یافته و به انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل گردیدند. پس از چهار روز شاخص‌های مورد نظر برای دانه رست‌های هر تیمار، بطور جداگانه مورد آزمایش و بررسی قرار گرفتند.

### محاسبه طول و وزن خشک اندام‌ها و تعداد ریشه‌های فرعی

پس از سپری شدن دوره تیمار، اندام هوایی و ریشه دانه رست‌ها جدا شده و طول و وزن خشک هر کدام به طور جداگانه مورد اندازه‌گیری قرار گرفته و تعداد ریشه‌های فرعی شمارش شد. طول اندام‌ها با استفاده از خط کش با دقت یک میلی‌متر بدست آمد و میانگین بدست آمده از ده دانه رست هر پتری برای هر تکرار یادداشت گردید. عمل خشک کردن نمونه‌ها در داخل آون ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت سه روز انجام گرفت و وزن خشک اندام‌ها با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۱ گرم بدست آمد.

### سنجش محتوای قندهای محلول

برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول، ۰/۵ گرم از وزن تر گیاه از هر تیمار توزین و با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی ساییده شد. محتوای هاون از تنظیف گذرانده شده و ۲ میلی لیتر از عصاره بدست آمده به لوله آزمایش دیگری منتقل گردید. سپس روش فنل سولفوریک بر روی آن اجرا شد (۱). بعد از ظهور رنگ میزان جذب در ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Unico ۲۱۰۰) اندازه‌گیری شد. غلظت قند با استفاده از منحنی استاندارد قند بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

### سنجش میزان پروتئین‌های محلول

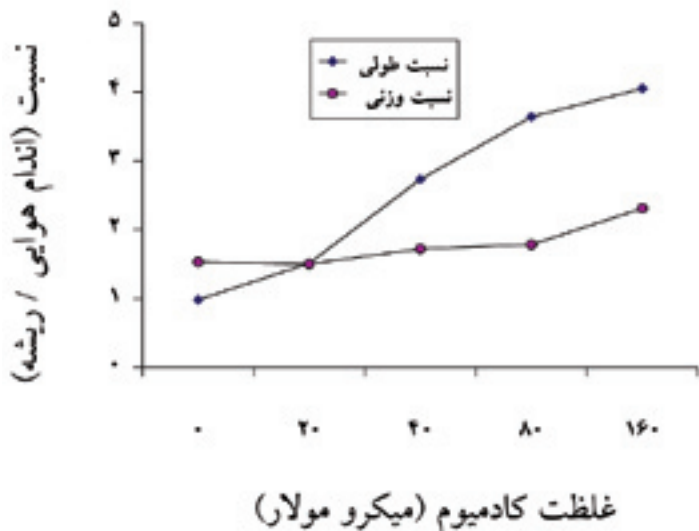
برای انجام آزمایش، بافت‌تر هر تیمار توزین گردید و در داخل لوله‌های ۵ سانتیمتری که در قسمت انتهایی آن چندین سوراخ تعبیه شده بود، قرار داده شد و در آن توسط پارافیلیم خوب بسته شد و در داخل فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد قرار گرفت. بعد از ۲۴ ساعت از داخل فریزر خارج شده، لوله‌های سانتریفوژ به قسمت انتهایی لوله‌های ۵ سانتی متری حاوی بافت وصل گردید و در فضای آزمایشگاه قرار گرفت تا یخ نمونه‌ها باز شود. سپس نمونه‌ها همانطور که داخل لوله‌های سوراخ دار قرار داشتند، به مدت ۲۰ دقیقه با نیروی ۵۰۰۰ برابر نیروی جاذبه سانتریفوژ گردیدند. محلول خارج شده از نمونه‌ها با آب مقطر به یک حجم رسانده شد (۲۵). ۱ میلی لیتر از محلول استخراجی برداشته شده و روش Lowry (۲۲) بر روی آن اجرا شد. میزان جذب آن در طول موج ۶۶۰ نانومتر، توسط دستگاه

بررسی شکل ۴ و جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که تعداد ریشه‌های فرعی در تمام غلظت‌ها نسبت به شاهد کاهش یافته است و اختلاف بین تمام غلظت‌ها و شاهد معنی دار بوده، اما اختلاف بین غلظت‌های (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکرو مولار) کادمیوم به دلیل قطع بارهای عمودی خطای معیار معنی دار نمی‌باشد.

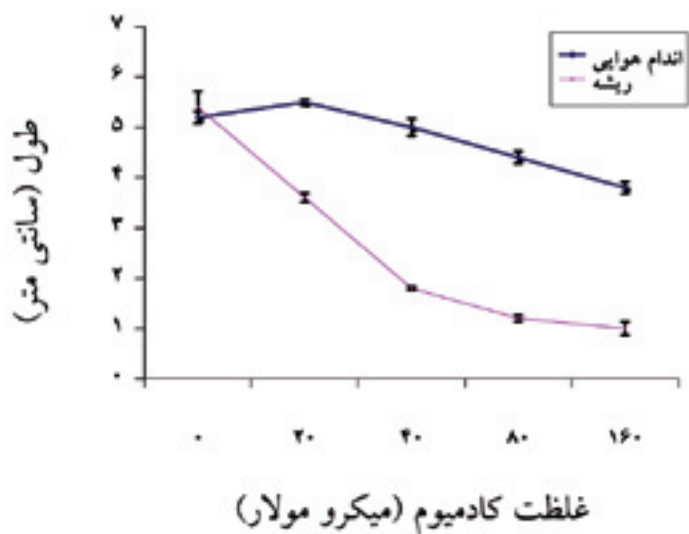
بررسی شکل ۵ و جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که به تدریج با بالا رفتن غلظت کادمیوم در محلول غذایی به مقدار قندهای محلول دانه رست‌ها بطور معنی دار ( $p < 0.05$ ) افزوده شده است. بطوریکه در غلظت  $160 \mu\text{M}$  کادمیوم مقدار قندهای محلول ۸۰٪ افزایش نسبت به شاهد را نشان داده است.

همانطور که در شکل (۶) دیده می‌شود با افزایش غلظت کادمیوم مقدار پروتئین‌های محلول نیز افزایش یافته است. اختلاف تیمارها با شاهد معنی دار بوده، و بین تیمارهای (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار) کادمیوم به دلیل قطع بارهای عمودی اختلاف معنی دار وجود ندارد. اما در تیمار  $160 \mu\text{M}$  مقدار پروتئین‌های محلول به شدت افزایش یافته و اختلاف بسیار معنی داری با سایر غلظت‌ها را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد افزایش مقدار برخی از پروتئین‌های محلول یکی از مهمترین سازوکارهای دفاعی گیاهان عدس در غلظت‌های بالا به خصوص در تیمار  $160 \mu\text{M}$  کادمیوم باشد.

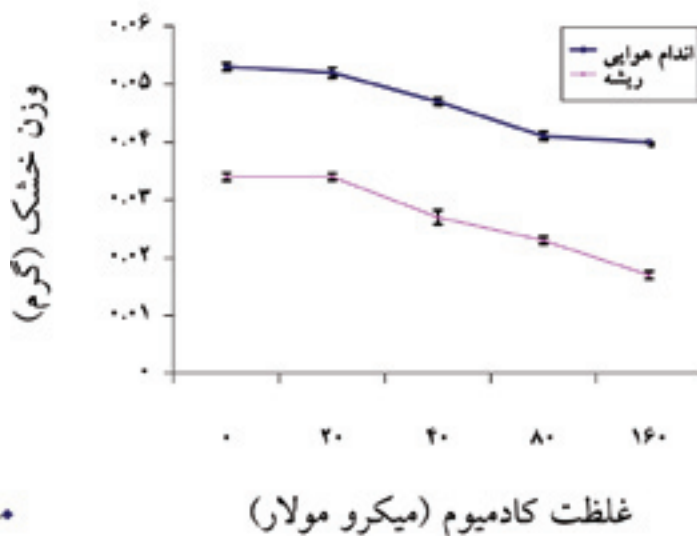
مراجعه به شکل ۷ و جدول ۲ نشان می‌دهد که مقدار پرولین ریشه در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی دار داشته و ریشه‌های رشد کرده در غلظت  $40 \mu\text{M}$  کادمیوم در بین تیمارها حداکثر مقدار پرولین را دارا بوده و ۴۸٪ افزایش نسبت به شاهد را نشان می‌دهند. مقدار پرولین اندام هوایی در  $20 \mu\text{M}$  کادمیوم نسبت به شاهد افزایش معنی دار یافته و در غلظت‌های (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار) کادمیوم هرچند محتوای پرولین نسبت به شاهد افزایش معنی دار داشته اما نسبت به غلظت ۲۰ میکرومولار کادمیوم کاهش



شکل ۳: مقایسه نسبت طول و وزن خشک اندام هوایی به ریشه



شکل ۱: مقایسه طول ریشه و اندام هوایی دانه رسته‌های عدس در اثر تیمارهای مختلف کادمیوم. بارهای عمودی  $\pm$  SE در اطراف میانگین‌ها را نشان می‌دهد.



شکل ۲: مقایسه وزن خشک ریشه و اندام هوایی دانه رسته‌های عدس در اثر تیمارهای مختلف کادمیوم. بارهای عمودی  $\pm$  SE در اطراف میانگین‌ها را نشان می‌دهد.

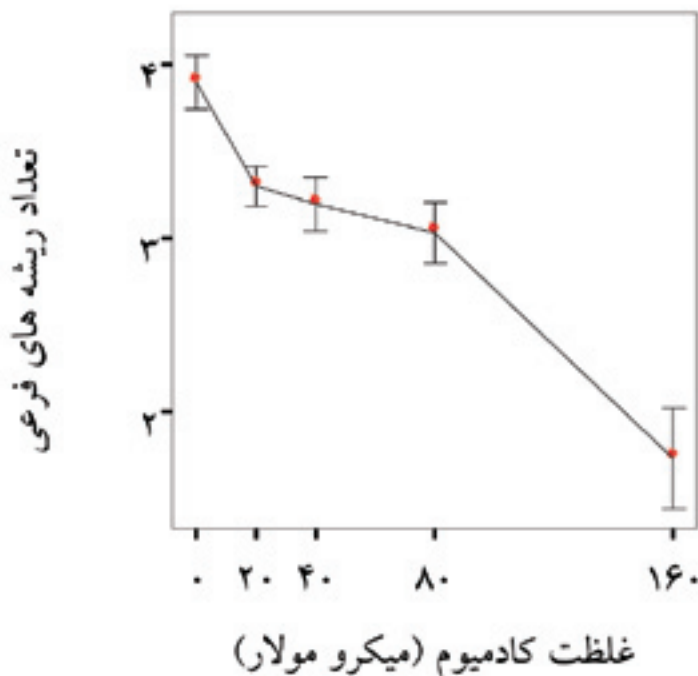
۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرو مولار به ترتیب ۹/۲۴٪، ۳/۲۲٪، ۶/۹٪ در اندام هوایی و ۷/۱۹٪، ۴/۳۲٪، ۵۰٪ در ریشه نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافته است. این داده‌ها بیانگر آن است که تأثیر کادمیوم بر کاهش بیومس ریشه‌ها بیش‌تر از اندام هوایی می‌باشد.

بررسی شکل ۳ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کادمیوم نسبت طول اندام هوایی به ریشه به طور خطی افزایش یافته است. مقایسه دو منحنی نشان می‌دهد که نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه نیز با افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافته اما از شیب ملایمتری برخوردار است. این یافته بیانگر آن است که کادمیوم رشد طولی را بیش‌تر از وزن خشک بافت‌ها تحت تأثیر قرار داده است.

تحریک رشد به عنوان پاسخ گیاهان به سطوح پایین عناصر سمی در مورد فلزات سنگین و دیگر کاتیون‌ها توسط Kinraide و همکاران توضیح داده شده است (۱۸). بنا به نظر Kennedy و Gonsalves غلظت‌های کم  $Cd^{2+}$  می‌تواند غشاء یاخته‌ای ریشه را هیپرپولاریزه کرده و منبع انرژی برای جذب کاتیون‌ها در نتیجه تورم یاخته‌ای را افزایش دهد (۱۷). همچنین کادمیوم در غلظت‌های پایین ممکن است فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر برخی پروتئازهای یاخته‌ای را افزایش داده و افزایش رشد را باعث شود (۱۱).

افزایش کادمیوم باعث افزایش میزان قندها و پروتئین‌های محلول در دانه رست‌های تیمار یافته شده است. ممکن است کاهش تنفس و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده قندهای غیر محلول، نظیر انورتاز و سوکروز سنتتاز که منجر به کاهش مصرف قندها از یک طرف و افزایش تولید آن‌ها از طرف دیگر شده است، دلیل این امر باشد (۲۷، ۲۹). افزایش پروتئین‌های محلول می‌تواند به دلیل افزایش سنتز بعضی آنزیم‌ها از جمله آنزیم‌های تجزیه کننده قندهای غیر محلول و آنزیم‌های آنتی اکسیدان، همچنین سنتز پروتئین‌ها و پلی پپتیدهای درگیر در سیستم دفاعی یاخته در برابر یون‌ها (متالوتیونین‌ها و فیتوکلاتینها) رخ داده باشد (۸).

نتایج این تحقیق بیانگر افزایش پرولین در دانه رست‌های تیمار یافته نسبت به گیاهان شاهد است. پرولین در گیاهان تحت شرایط نامناسب رشد، از جمله تنش فلزات



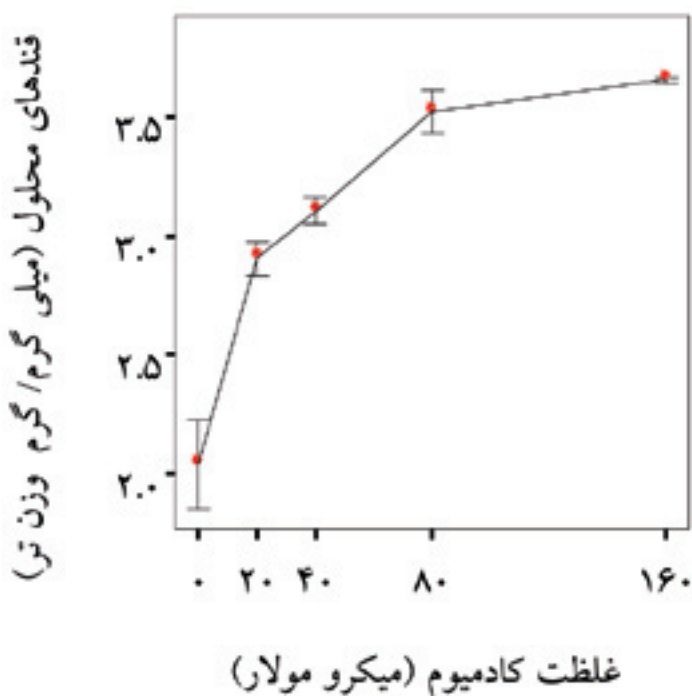
شکل ۴: اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر تعداد ریشه‌های فرعی دانه رستهای عدس. بارهای عمودی  $\pm$  SE در اطراف میانگین‌ها را نشان می‌دهد.

یافته است. بین تیمارهای (۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرومولار) در اندام هوایی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج کلی بدست آمده نشان می‌دهد که غلظت‌های بالای کادمیوم اثرات سوء بر رشد و زیاده دانه رستهای عدس داشته و از رشد ممانعت می‌نماید. این یافته با نتایج بسیاری از تحقیقات انجام گرفته در رابطه با اثر کادمیوم بر گونه‌های گیاهی همخوانی دارد (۲۸، ۱۹) همچنین با نظر Spitz و Costa که کاهش رشد یکی از اثرات اولیه غلظت‌های سمی کادمیوم بر گیاهان است منطبق می‌باشد (۹). اختلال در رشد گیاه می‌تواند به دلایل متعددی از جمله، کاهش آب یاخته و کسسانیدی دیواره یاخته (۹)، اختلال در تعادل آبی گیاه به دلیل کاهش اندازه و تعداد آوندهای چوبی (۴)، کاهش جذب عناصر غذایی ضروری مانند  $Fe$ ،  $Ca$ ،  $K$  و  $Mg$  (۱۰، ۱۲) و کاهش تولید زیاده به دلیل اختلال در فرایندهای فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن (۳، ۱۳، ۲۰) در اثر غلظت‌های سمی کادمیوم رخ داده باشد.

افزایش غلظت کادمیوم در محلول غذایی، تعداد ریشه‌های فرعی و طول ریشه را کاهش داده، همچنین باعث کاهش طول اندام هوایی بجز در غلظت  $20 \mu M$  گردیده است که به نظر می‌رسد غلظت‌های پایین کادمیوم تحریک کننده رشد می‌باشد.



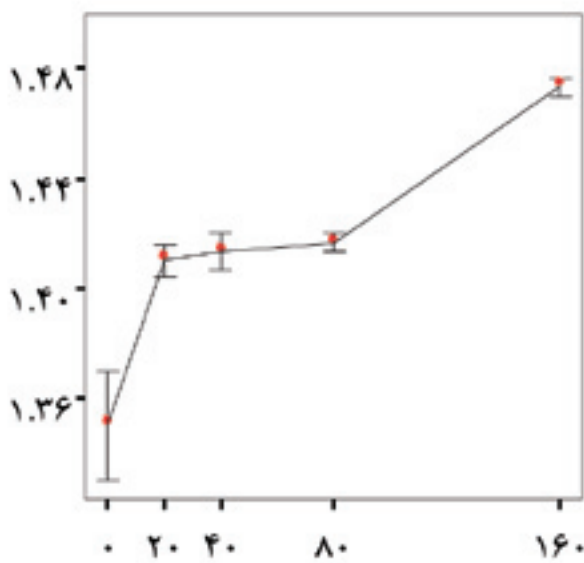
شکل ۵: اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر مقدار قندهای محلول در دانه رستهای عدس. بارهای عمودی  $\pm$  SE در اطراف میانگین‌ها را نشان می‌دهد.



### منابع مورد استفاده

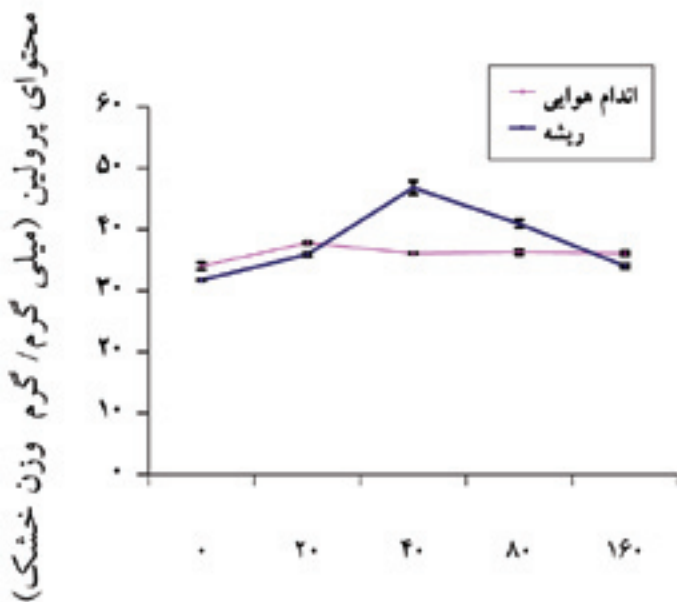
- ۱ - حدادچی، غ. ۱۳۶۵؛ بیوشیمی و فیزیولوژی گیاهی (عملی). انتشارات بخش فرهنگی جهاد دانشگاهی منابع طبیعی مازندران. چاپ اول.
- 2-Baker, A.J.M. and R.R. Brooks. 1989; Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery. 1:81-126.
- 3-Balestrasse, K.B., Gardey, L., Gallego, S.M. and M.L. Tomaro. 2001; Response of antioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Australian Journal of Plant Physiology. 28:497-504.
- 4-Barcelo, J. and C. Poschenrieder. 1990; Plant water relations as affected by heavy metal stress: A reaview. Journal of Plant Nutr. 13:1-37.
- 5-Bates, L.S., Waldren, R.P. and I.D. Teare. 1973; Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant soil. 39:205-207.
- 6-Blinda, A., Koch, B., Ramanjulu, S. and K.J. Dietz. 1997; De novo synthesis and accumulation of apoplast proteins in leaves of heavy metal exposed barley seedlings. Plant cell Environ. 20: 969-981.
- 7-Chaffei, C., Gouia, H. and M.H. Ghorbel. 2003; Nitrogen

پروتئینهای محلول (میلی گرم / گرم وزن تر)



### غلظت کادمیوم (میکرو مولار)

شکل ۶: اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر مقدار پروتئینهای محلول در دانه رسته‌های عدس. بارهای عمودی  $\pm$  SE در اطراف میانگین‌ها را نشان می‌دهد.



### غلظت کادمیوم (میکرو مولار)

شکل ۷: مقایسه محتوای پرولین ریشه و اندام هوایی در

اثر تیمارهای مختلف کادمیوم. بارهای عمودی  $\pm$  SE در اطراف میانگین‌ها را نشان می‌دهد.

سنگین تجمع می‌یابد. بین تجمع پرولین و کمبود آب ایجاد شده در اثر فلز سنگین و در نتیجه ممانعت از رشد ریشه، ارتباط مخصوصی وجود دارد (۲۴). احتمالاً تجمع پرولین در گیاهان تحت تیمار Cd ارتباطی با سازوکار مقاومت در برابر تغییرات اسمزی داشته و یا با کاهش در فعالیت سیستم انتقال الکترون در گیاهان و یا قسمت‌هایی از گیاه ارتباط داشته باشد. کاهش فعالیت‌های متابولیسمی باعث تجمع NADH می‌گردد. از آنجا که برای سنتز یک مولکول پرولین از گلوتامیک اسید ۲NADH نیاز است بنابراین سنتز پرولین ممکن است سازوکاری برای کاهش اسیدیته و کاهش تجمع NADH باشد (۲۶). به علاوه پرولین می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپید خطر رادیکال‌های آزاد را کاهش داده باعث حفظ تمامیت غشاها گردد (۲۳) به نظر می‌رسد، گیاهان عدس تا  $40 \mu\text{M}$  کادمیوم توانسته‌اند از پرولین برای مقاصد ذکر شده استفاده نمایند و در غلظت‌های بالاتر استفاده از سازوکارهای دیگر دارای اهمیت بیشتری بوده است.

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که غلظت‌های بالای یون کادمیوم باعث اثرات برگشت‌ناپذیری بر دانه رسته‌های عدس گردیده که این اثرات به وضوح قابل مشاهده است. این موارد می‌تواند از نظر درک سازوکارهای عمل کادمیوم و یافتن راه‌حل‌های جلوگیری از نفوذ کادمیوم به گیاهان خوراکی دارای اهمیت باشد.

جدول شماره ۱: جدول آنالیز واریانس نتایج اثر کادمیوم بر طول اندام هوایی، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و تعداد ریشه‌های فرعی در دانه رسته‌های عدس.

	منبع تغییرات	میانگین مربعات (M.S)	F
طول اندام هوایی	بین گروه ها	۱/۴۷۷	۳۲/۱۱۴ **
	داخل گروه ها	۰/۰۴۶	
طول ریشه	بین گروه ها	۱۰/۵۳۳	۱۳۳/۸۹۰ **
	داخل گروه ها	۰/۰۷۹	
وزن خشک اندام هوایی	بین گروه ها	۰/۰۰۰۱	۹۰/۹۷۱ **
	داخل گروه ها	۰/۰۰۰۰۰۱۱	
وزن خشک ریشه	بین گروه ها	۰/۰۰۰۱۶	۸۸/۳۸۹ **
	داخل گروه ها	۰/۰۰۰۰۰۱۸	
تعداد ریشه های فرعی	بین گروه ها	۱/۹۰۵	۱۸/۰۸۵ **
	داخل گروه ها	۰/۱۰۵	

معنی دار در سطح ۰/۰۱

جدول شماره ۲: جدول آنالیز واریانس نتایج اثر کادمیوم بر محتوای قندهای محلول، پروتئین‌های محلول و محتوای پرولین اندام هوایی و ریشه در دانه رسته‌های عدس.

	منبع تغییرات	میانگین مربعات (M.S)	F
قندهای محلول	بین گروه ها	۱/۲۳۵	۳۹/۱۲۴ **
	داخل گروه ها	۰/۰۳۲	
پروتئینهای محلول	بین گروه ها	۰/۰۰۵	۳۰/۷۴۰ **
	داخل گروه ها	۰/۰۰۰۱	
پرولین اندام هوایی	بین گروه ها	۵/۲۲۰	۱۴/۵۹۹ **
	داخل گروه ها	۰/۳۷۱	
پرولین ریشه	بین گروه ها	۱۰۹/۱۲۷	۱۰۳/۷۲۳ **
	داخل گروه ها	۱/۰۵۲	

معنی دار در سطح ۰/۰۱

metabolism in tomato plants under cadmium stress. Journal of Plant Nutrition. 26:1617-1634.

8- Cobbet, C. 2000; Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. Plant Physiol. 123:825-832.

9-Costa, G. and E. Spitz. 1997; Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured Lupinus albus. Plant Sci. 128:131-140.

10-Gogorcena, Y., Lucena, J.J. and J. Abadia. 2002. Effects of Cd and Pb in sugar beets plants grown in nutrient solution: Induced Fe

deficiency and growth inhibition. Funct. Plant Biol. 29:1453-1464.

11-Golldack, D., Dietz, V. and J. K. 2003; Expression of subtilisin-like serin proteases in Arabidopsis thaliana is cell-specific and responds to jasmonic acid and heavy metals with developmental differences. Physiologia Plantarum. 118:64-73.

12-Gussarsson, M., ASP, H., Adalsteinsson, S. and P. Jensen. 1996; Enhancement of cadmium effects on growth and nutrient composition of birch (Betula pendula) by buthionine sulphoximine (BSO). J. Exp. Bot. 47:211-215.

- 13-Haag-kever, A., Schafer, H.J., Heiss, S., Walter, C. and T. Rausch. 1999; Cadmium expose in Brassica juncea cause a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*. 50:1827-1835.
- 14-Hardyman, R.T. and B. Jakoby. 1984; Absorption and translocation of Cd in bush bean (*Phaseolus vulgaris*). *Physiologia Plantarum*. 61:670-674.
- 15-Jonak, C., Nakagamy, H. and H. Hirt. 2004; Heavy metal stress activation of distinct mitogen-activated protein kinase pathways by copper and cadmium. *Plant Physiology*. 136:3276-3283.
- 16-Kabata-Pendias, A. 2001; Trace elements in soils and plants, 2nd Ed. CRC Press. PP:143-156.
- 17-Kennedy, C.D. and F.A.N Gonsalves. 1987; The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the transroot potential and H<sup>+</sup> efflux of excised roots. *J. Exp. Bot.* 38:800-817.
- 18-Kinraide, T.B., Ryan, P.R. and L.V. Kochian. 1992; Interactive effects of Al<sup>3+</sup>, H<sup>+</sup> and other cations on root elongation considered in terms of cell-surface electrical potential. *Plant Physiol.* 99: 1461-1468.
- 19-Larbi, A., Morales, F., Abadia, A., Costa, G. and E. Spitz. 1997; Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*. *Plant Sci.* 128: 131-140.
- 20-Larsson, E.H., Bornman, J.F. and H. ASP. 1998; Influence of UV-B radiation and cadmium on chlorophyll fluorescence *Brassica napus*. *Journal of experimental Botany*. 49:1031-1039.
- 21-Lee, S. and T. Leustek. 1999; The effect of cadmium on sulfate assimilation enzymes in *Brassica juncea*. *Plant Science*. 141:201-207.
- 22-Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and R.J. Randall. 1951; Protein measurement with the folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193:265-275.
- 23-Mehta, S.K. and J.P. Gaur. 1999; Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Cohlorella vulgaris*. *New Phytol.* 143:253-259.
- 24-Metwally, A., Finkemeier, I., George, M. and K.J. Dietz. 2003; Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology*. 132:272-281.
- 25-Nojavan-Asghari, M. and Y. Esashi. 1993; Different growth responses of the axial and cotyledonary tissues of sunflower seeds to C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> under water and salt stresses. *J. Sci. I. R. Iran*, vol 9. No 2.
- 26-Pardha Saradhi, A. and P. 1991; Prolin accumulation under heavy metal stress. *Plant Physiol.* 138:554-558.
- 27-Shah, K. and R.S. Dubey. 1998a; A 18 KDa cadmium inducible protein complex, its isolation and characterization from rice (*Oryza sativa* L) seedlings. *Plant Physiol.* 152:448-454.
- 28-Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gomes, M., Remero-Puertas, M. C. and L.A. del Rio. 2001; Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. Exp. Bot.* 52: 2115-2126.
- 29-Verma, S. and R.S. Dubey. 2001; Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of hair metabolism in rice. *Biologia Plantarum*. 1:117-123.
- 30-Wang, T. and J.H. Peverly. 1999; Oxidation states on root surfaces of a wetland plant (*Phragmites australis*) *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:247-252.
- 31-Wanger, G.J. 1993; Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv. Agron.* 92:173-212.
- 32-Zhang, F., Shi, W., Jim, Z. and Z. Shen. 2003; Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplasts to cadmium toxicity. *J. Plant Nutr.* 26:1779-1788.

