اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه های فتوسنتزی، قندها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)

فریبا سلطانی[۱و٤]، مه لقا قربانلی [۲]وخسرو منوچهری کلانتری[۳]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران

[۲] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

[۳] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

[٤] مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، کرمان

چکیده

کادمیوم در زمره فلزات سنگین می باشد که در گیاهان تنش اکسید اتیو ایجاد می‌نماید. این یون، سمیت بالایی برای گیاهان و حیوانات دارد. در این تحقیق اثرات سمیت کلرید کادمیوم بر روی گیاه کلزا (*Brassica napus* L. cv.Fusia) بررسی شد. گیاهان درمحیط حاوی ورمیکولیت و با محلول غذاییLong Ashton (pH=۵/۵) حاوی غلظتهای مختلف کادمیوم از ۰ تا ۸۰۰ میکرومولار) رشد کردند. نمونه های موردنظر از بافتهای برگ و ریشه گیاهان ۳۰ روزه برداشت شد و جهت سنجش پارامترهای بیوشیمیایی و مورفولوژیکی مورد استفاده قرار گرفت . نتایج نشان داد که غالباً کادمیوم در ریشه تجمع و مقدار کمی به برگها منتقل می شود کاهش وزن تر برگ در غلظتهای ٦۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار کادمیوم چشمگیر بود، اما کاهش وزن خشک برگ و سطح آن علاوه برغلظتهای فوق در غلظت ٤۰۰ میکرو مولار نیز قابل توجه بود. کادمیوم بطور معنی داری سبب کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیلa، b و کاروتنوئیدها در غلظتهای ٤۰۰، ٦۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار کادمیوم شد.درحالیکه مقدار قندهای احیاء کننده ومالون دآلدئید در غلظتهای ٦۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار کادمیوم در بافتهای برگ و ریشه گیاهان تحت تیمار، افزایش یافت ($P \leq 0.05$).

واژه های کلیدی : کادمیوم ـتنش اکسیداتیو ـ مالون دآلدئید- کلزا .

مقدمه

کادمیوم یک فلز آلاینده محیطی است که در طبیعت منتشر می شود. منابع مختلف شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می دهند. همچنین استفاده از کودهای شیمیایی، مخصوصاً کودهای فسفاته مقدار این عنصر را در خاک افزایش می دهد (۱ و ۱۳). کادمیوم اگر چه برای رشد گیاه ضروری نیست، اما این فلز براحتی از طریق پوست ریشه جذب می شود و سپس از راه سیمپلاستی یا آپوپلاستی وارد بافت چوب می شود (۱٦). در اغلب گونه های گیاهی کادمیوم در ریشه تجمع می یابد و مقدار کمی به برگها منتقل می شود(۵ و ۱٤).

گزارش شده است که تجمع کادمیوم در ریشه های چغندرقند ۵ تا ۱۰ برابر بیش از اندام هوایی آن بوده است و در گیاه سویا نیز فقط ۲٪ کادمیوم انباشته شده به برگها منتقل می شود (۸). کادمیوم اغلب در واکوئل سلولهای گیاهان عالی تجمع می یابد، همچنین تجمع کادمیوم در دیواره سلول و تیغه میانی بین آندودرم و دایره محیطیه نیز گزارش شده است(۱٤).

تأخیر در رشد گیاهان را از نشانه های سمیت با کادمیوم گزارش نموده اند (۹ و ۱۷). بررسیها نشان داده است که کادمیوم بر تقسیم و رشد سلولها، رشد کلی گیاه، تقسیم

Archive of SID
www.SID.ir

سلولی منطقه مریستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می گذارد(۲). گزارش شده است که تأثیرات منفی کادمیوم روی رشد گیاه همراه با افزایش نسبت وزن خشک به وزن تر در همه اندامها می باشد (۲۳). گزارش شده است که کادمیوم سبب کلروز و نکروز برگ نیز می شود (٦ و ۲۷). بررسیها نشان داده است که کادمیوم سبب کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a، b وکاروتنوئیدها در گیاهان عالی می شود(١٦ و ١٩) .

کادمیوم باعث اختلال در متابولیسم کربوهیدراتها نیز می شود(٤). گزارش شده است که مقدار قندهای احیاء کننده در گیاهک برنج (*Oryza sativa*) تحت تنش کادمیوم بمدت ٥ تا ۲۰ روز ، افزایش درحالیکه مقدار قندهای غیراحیاء کننده کاهش می یابد (۲٥).

یکی دیگر از اثرات سمیت کادمیوم تشکیل مالون دآلدئید است که شاخص کلی پراکسیداسیون لیپید می باشد(٢٤). گزارش شده است که کادمیوم با غلظت ٥ میکرومولار، سبب افزایش پراکسیداسیون لیپید و کاهش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان در گیاه لوبیا می شود (٨ و١٦ و١٨). در گیاه نخود نیز کادمیوم بهطور قابل ملاحظه ای سبب افزایش پراکسیداسیون لیپید (لیپیدهای غیر اشباع) می شود، در صورتیکه در ریشه های هویج (*Daucus carota*) پراکسیداسیون لیپید مشاهده نمی شود (١٦). پاسخهای گوناگون به القاء کادمیوم، احتمالاً به سطح کادمیوم ذخیره شده و به غلظت گروههای تیولی موجود در گیاه بستگی دارد. تیولها دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی قوی هستند که می توانند تنش اکسیداتیو را بی اثر کنند (۱۳ و ١٦).

با توجه به گزارشات متعددی که همگی نشان دهنده تجمع کادمیوم در لایه های فوقانی خاک و اجتناب ناپذیربودن جذب آن توسط گیاهان است، بنابراین اثر این فلز سنگین بر رشد و تکامل گیاه کلزا بررسی شد و از آنجائیکه مالون دآلدئید بعنوان شاخص تنش اکسیداتیو وسمیت گیاه با این فلز سنگین می باشد، مقدار این آلدئید اندازه گیری شد تا مقاومت وحساسیت این گیاه با ارزش کشاورزی مشخص شود.

مواد و روشها

در این تحقیق از گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) استفاده شد. بذرهای گیاه مذکور به گلدانهای حاوی ورمیکولیت منتقل شدند. در هر گلدان ٤ بذر کاشته شد. گلدانها پس از کاشت در اتاق رشد، تحت شرایط ١٦ ساعت نور در دمای ۲ ±۲۰ درجه سانتی گراد و ۸ ساعت تاریکیدر دمای ۱ ±۱۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. در طول هفته اول پس از کاشت در گلدان، آبیاری با آب مقطر بطور روزانه انجام شد. پس از یک هفته آبیاری با آب مقطر، از محلول کامل غذایی Long Ashton استفاده شد(۱۱). pH محلول حدود ٥/٥ تنظیم شد. دو هفته پس از آبیاری با محلول غذایی عاری از یون کادمیوم، آبیاری توسط محلولهای غذایی حاوی غلظتهای ۰، ۲۰۰ ، ٤۰۰، ٦۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم بمدت دو هفته و بصورت روزانه انجام شد. پس از دو هفته، اندامهای مختلف گیاه (ریشه و برگ) جدا شد. سپس نمونه ها در نیتروژن مایع منجمد شدند و تا زمان آزمایش در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

سنجش غلظت یون کادمیوم در گیاه: اندازه گیری یون فوق در بافت ریشه و برگ با ا استفاده از روش جذب اتمی انجام شد. ۰/٥ گرم از بافت خشک گیاهی، در ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ بمدت ٢٤ ساعت قرار داده شد تا نمونه گیاهی بخوبی در اسید هضم شود. سپس محلول حاصل را گرم کرده تا بخارات اسیدی از محلول خارج گردد. سپس حجم محلول را به ٥۰ میلی لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شد. غلظت کادمیوم محلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی(varian مدل ۲۲۰ spectr AA) مورد سنجش قرار گرفت. سرعت تزریق نمونه در دستگاه ٦ میلی لیتر در دقیقه بود. جهت تعیین غلظت یون، محلول استاندارد را قبل از اندازه گیری نمونه به دستگاه تزریق کرده و نمودار

Archive of SID
www.SID.ir

استاندارد مربوط توسط نرم افزار ویژه دستگاه (Spectr AA) رسم شده و غلظت مجهول محلول با استفاده از این نرم افزار تعیین گردد (۲٦).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء: سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء طبق روش Zaho و همکاران (۱۹۹٤) براساس تشکیل کمپلکس مالون دآلدئید در اثر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با استفاده از تیوباربیتوریک اسید انجام شد (۱۲). ۰/۲۵ گرم از بافت تازه برگ و ریشه با ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد در هاون چینی ساییده شد. عصاره بدست آمده بمدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ گردید. به ۱ میلی لیتر از محلول شفاف روئی، ٤ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید۲۰ درصد که حاوی تیوباربیتوریک اسید ۰/۵ درصد بود افزوده شد. مخلوط بدست آمده بمدت ۱۵ دقیقه در حرارت ۹۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت و بلافاصله لوله های آزمایش در یخ خرد شده قرار داده شد. محتوی لوله ها مجدداً بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و سپس جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر براساس تشکیل کمپلکس تیوباربیتوریک اسید ـ مالون دآلدئید خوانده شد. از آنجاییکه بعضی از ترکیبات، به عنوان ترکیب مزاحم در محلول در طول موج۵۳۲ نانومتر جذب دارند، جذب این ترکیبات در ٦۰۰ نانومتر نیز خوانده و از جذب خوانده شده در طول موج ۵۳۲ نانومتر کم شد. غلظت کمپلکس مالون دآلدئید ـ تیوباربیتوریک اسید با استفاده از ضریب خاموشی $mmol^{-1}$ cm^{-1} ε =۱۵۵ محاسبه شد.

اندازه گیری وزن تر و خشک برگ و ریشه گیاه: برای مقایسه وزن تر گیاهان تیمار شده با گیاه شاهد، ابتدا برگ و ریشه گیاهان هر گلدان (بعنوان یک تکرار) جدا گردید. سپس نمونه ها با ترازوی (sartarius مدل BP ۲۱۱) وزن شد. برای اندازه گیری وزن خشک، برگ و ریشه گیاهان هر گلدان در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد بمدت ٤۸ ساعت قرار گرفت. پس از خشک شدن نمونه ها مجدداً توزین مقایسه شد.

تعیین سطح برگ گیاه: برای مقایسه سطح برگ گیاه شاهد با گیاهان تحت تیمار، برگهای ردیف اول از گیاه هر گلدان جدا شد. از برگهای جدا شده، کپی کاغذی تهیه گردید . سپس وزن کپی مورد نظر با ترازو اندازه گیری شد . یک سانتیمتر مربع از کادر کاغذ نیز جدا وزن و با محاسبه نسبت وزن برگ به وزن یک سانتیمتر مربع از کاغذ (رابطه تناسبی)، سطح هر برگ محاسبه و مقایسه شد.

اندازه گیری مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ گیاه کلزا: محاسبه غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدهای (کاروتن وگزانتوفیل) برگ با استفاده از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) انجام شد (۱۵). ۰/۱ گرم از بافت تر برگ وزن و رنگیزه های آن توسط استون ۸۰ درصد استخراج شد. پس از صاف کردن نمونه ها با کاغذ صافی، جذب در طول موجهای ٦٦۳/۲، ٦٤٦/۸ و ٤۷۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر(WPA مدل S۲۱۰۰ Diod Array) خوانده شد. مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل (کلروفیل a + کلروفیل b) و کاروتنوئیدها با استفاده از فرمول زیر برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر، محاسبه شد.

$$C_a=۱۲/۲۵\ A_{٦٦۳/۲} - ۲/۷۹۸\ A_{٦٤٦/۸}$$

$$C_b = ۲۱/۵۰\ A_{٦٤٦/۸} - ۵/۱۰\ A_{٦٦۳/۲}$$

$$C_T=C_a+C_b$$

$$C_{x+c}=(۱۰۰۰A_{٤۷۰} - ۱/۸۲C_a - ۸۵/۰۲C_b\ )\ /۱۹۸$$

C_a مقدار کلروفیل a ، C_b مقدار کلروفیل b ، C_T مقدار کل کلروفیل و C_{x+c} مقدار کل کاروتنوئیدها می باشد.

سنجش مقدار قندهای احیا کننده در گیاه کلزا: مقدار قندهای احیا کننده با استفاده از روش سوموگی و نلسون (۱۹۵۲) اندازه گیری شد (۲۲). ابتدا ۰/۰۲۵ گرم از بافت تر گیاهی وزن و هر نمونه بطور جداگانه با ۵ میلی لیتر آب مقطر در هاون چینی ساییده شد. سپس محتوی هاون به بشر کوچکی منتقل و روی اجاق برقی قرار داده شد تا

Archive of SID
www.SID.ir

حرارت ببیند، بمحض رسیدن به نقطه جوش حرارت قطع و محتوی بشر به کمک کاغذ صافی و عصاره گیاهی تهیه شد . با از اسپکتروفتومتر(WPA مدل Diod Array ۲۱۰۰ S) شدت جذب در طول موج ٦٠٠ نانومتر تعیین شد و با استفاده از رسم منحنی استاندارد تهیه شده از غلظتهای مختلف گلو کز غلظت قند احیاء شده محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: طرح آزمایشی بکار رفته طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار به ازای هر تیمار است. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS و تجزیه واریانس (ANOVA) یک طرفه با استفاده از آزمون LSD تجزیه وتحلیل شده است.

نتایج

مقدارجذب و تجمع کادمیوم در برگ و ریشه گیاه شاهد با گیاهان تحت تیمار مقایسه شد. همانطور که در (جدول۱) مشاهده می شود با افزایش غلظت کادمیوم، مقدار جذب و تجمع کادمیوم در گیاه نیز افزایش می یابد. غلظت کادمیوم در ریشه نسبت به برگ بطور قابل توجهی بیشتر است .

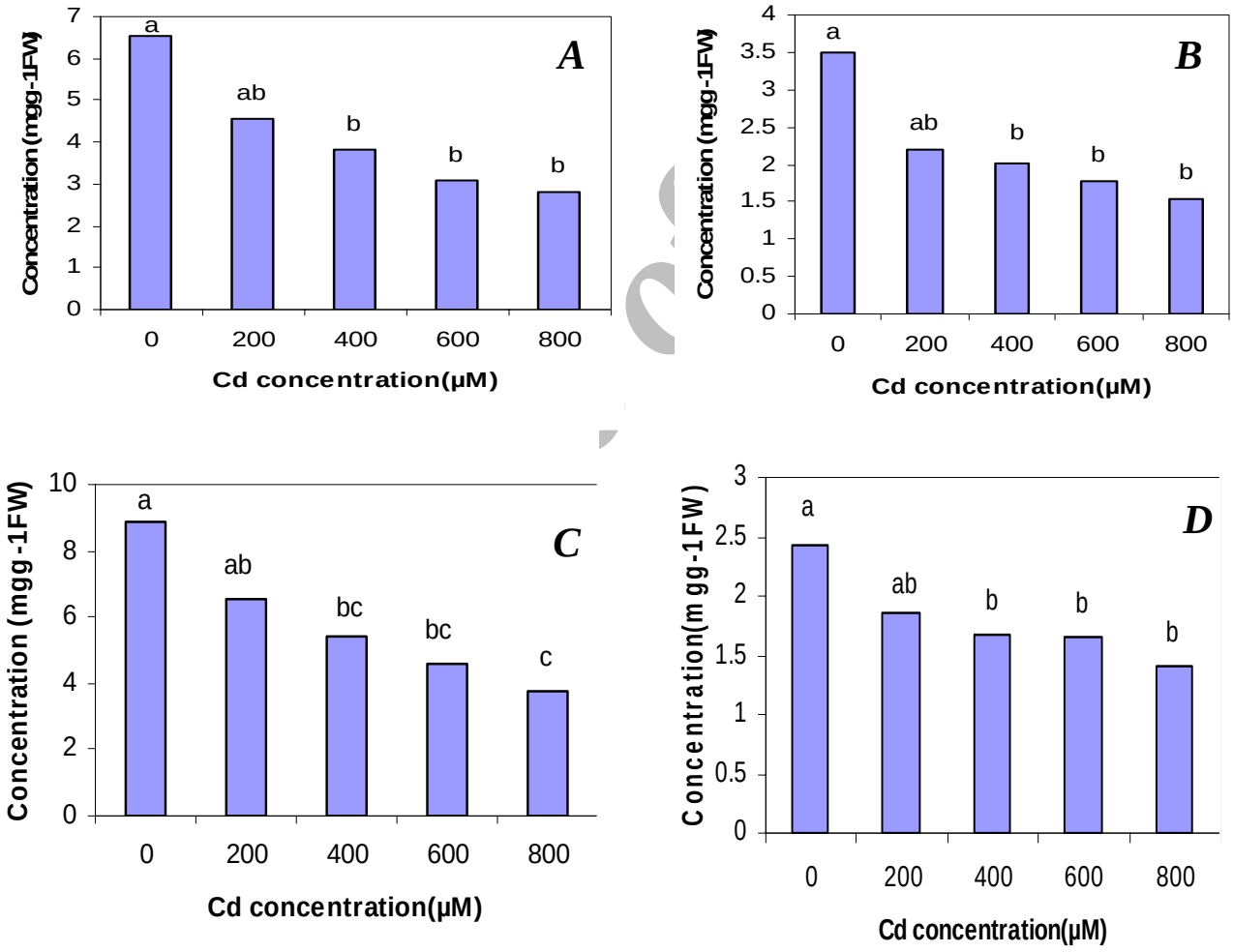
جدول ۱- اثر کادمیوم بر پارامترهای مختلف در گیاه کلزا میانگینهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند از نظر آماری اختلاف معنی داری ندارند $(P \leq 0.05)$.

	غلظت کادمیوم (μM)				
	۸۰۰	٦٠٠	٤٠٠	۲۰۰	۰
کادمیوم برگ $(mg\ g^{-1}DW)$	$0/15 \pm 0/01^{c}$	$0/13 \pm 0/018^{c}$	$0/09 \pm 0/017^{b}$	$0/065 \pm 0/027^{b}$	$0/018 \pm 0/009^{a}$
کادمیوم ریشه$(mg\ g^{-1}DW)$	$0/72 \pm 0/11^{c}$	$0/66 \pm 0/087^{c}$	$0/37 \pm 0/056^{b}$	$0/29 \pm 0/037^{b}$	$0/042 \pm 0/030^{a}$
وزن تر برگ(gr/plant)	$1/85 \pm 0/49^{b}$	$2/09 \pm 1/53^{b}$	$3/1 \pm 0/90^{a}$	$3/53 \pm 1/50^{a}$	$3/59 \pm 1/31^{a}$
وزن تر ریشه(gr/plant)	$0/9 \pm 0/19^{b}$	$1/19 \pm 0/75^{b}$	$1/44 \pm 0/12^{ab}$	$1/72 \pm 0/044^{ab}$	$2/08 \pm 0/38^{a}$
وزن خشک برگ(gr/plant)	$0/14 \pm 0/040^{c}$	$0/15 \pm 0/89^{c}$	$0/19 \pm 0/67^{bc}$	$0/21 \pm 0/096^{ab}$	$0/27 \pm 0/077^{a}$
وزن خشک ریشه(gr/plant)	$0/075 \pm 0/019^{b}$	$0/083 \pm 0/059^{b}$	$0/096 \pm 0/0061^{ab}$	$0/11 \pm 0/032^{ab}$	$0/15 \pm 0/051^{a}$
سطح برگ(cm^2)	$11/10 \pm 2/50^{c}$	$12/31 \pm 5/29^{c}$	$19/76 \pm 3/57^{b}$	$21/07 \pm 5/73^{ab}$	$23/61 \pm 4/23^{a}$
کلروفیل a $(mg\ g^{-1}fw)$	$2/79 \pm 0/87^{b}$	$3/06 \pm 1/07^{b}$	$3/81 \pm 1/17^{b}$	$4/54 \pm 1/19^{ab}$	$6/53 \pm 1/29^{a}$
کلروفیلb $(mg\ g^{-1}fw)$	$1/54 \pm 0/33^{b}$	$1/76 \pm 0/40^{b}$	$2/01 \pm 0/61^{b}$	$2/20 \pm 1/18^{ab}$	$3/48 \pm 0/66^{a}$
کلروفیل کل $(mg\ g^{-1}fw)$	$3/76 \pm 1/65^{c}$	$4/56 \pm 1/16^{bc}$	$5/44 \pm 1/14^{bc}$	$6/55 \pm 1/32^{ab}$	$8/85 \pm 1/16^{a}$
کاروتنوئید$(mg\ g^{-1}fw)$	$1/41 \pm 0/13^{b}$	$1/64 \pm 0/12^{b}$	$1/68 \pm 0/23^{b}$	$1/86 \pm 0/32^{ab}$	$2/42 \pm 0/54^{a}$
قند برگ$(mg\ g^{-1}fw)$	$13/02 \pm 2/32^{b}$	$11/98 \pm 2/29^{b}$	$9/75 \pm 2/13^{ab}$	$9/51 \pm 2/12^{ab}$	$7/77 \pm 0/98^{a}$
قند ریشه$(mg\ g^{-1}fw)$	$2/82 \pm 0/64^{b}$	$2/56 \pm 0/44^{b}$	$2/31 \pm 0/41^{ab}$	$2/28 \pm 0/35^{ab}$	$1/16 \pm 0/29^{a}$
مالون دآلدئید برگ $(\mu\ m\ g^{-1}fw)$	$460/39 \pm 46/06^{b}$	$405/67 \pm 83/83^{b}$	$367/50 \pm 123/43^{ab}$	$330/48 \pm 57/18^{ab}$	$262/15 \pm 53/45^{a}$
مالون دآلدئید ریشه $(\mu\ m\ g^{-1}fw)$	$552/68 \pm 96/75^{c}$	$470/75 \pm 54/63^{bc}$	$374/19 \pm 45/21^{ab}$	$348/38 \pm 42/55^{ab}$	$300 \pm 35/48^{a}$

Archive of SID
www.SID.ir

مقایسه وزن تر و خشک برگ و ریشه گیاهان تیمار شده با گیاه شاهد نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم وزن تر و خشک، برگ و ریشه کاهش می یابد. کاهش وزن تر برگ در غلظتهای ٦٠٠ و ٨٠٠ میکرومولار کادمیوم مشاهده شد، در حالیکه وزن خشک برگ در غلظتهای ٤٠٠، ٦٠٠ و ٨٠٠ میکرومولار کادمیوم کاهش چشمگیری یافت. وزن تر و خشک ریشه نیز در غلظتهای ٦٠٠ و ٨٠٠ میکرومولار کاهش معنی داری داشت (جدول۱). سطح برگ نیز در گیاهان تحت تنش کاهش یافت. در غلظتهای ٤٠٠ و ٦٠٠ و ٨٠٠ میکرومولار کادمیوم، سطح برگ بطور چشمگیری کاهش یافت(جدول ۱).

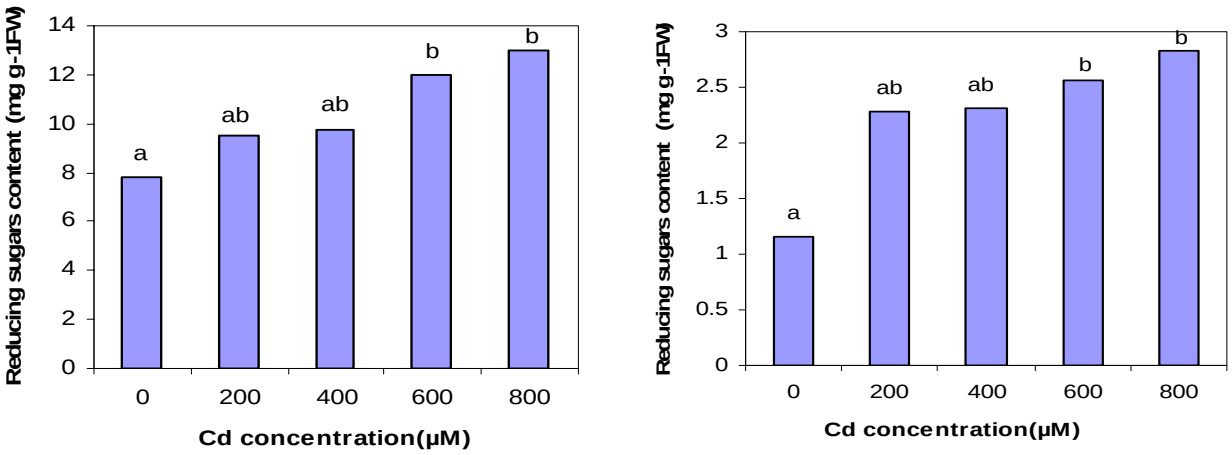
بررسی حاصل از این تحقیق نشان داد که کادمیوم در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، اثر چندانی بر مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها ندارد . اما در غلظتهای٦٠٠،٤٠٠و٨٠٠ میکرو مولار نسبت به گیاه شاهد مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها کاهش چشمگیری نشان می دهد (شکل ۱) و (جدول۱).



شکل۱ : اثر کادمیوم بر مقدار کلروفیل و کاروتنوئید برگ گیاه کلزا، (A) کلروفیل a، (B) کلروفیل b، (C) کلروفیل کل، (D) کاروتنوئید را نشان می دهد. مقایسه میانگینها (میانگین سه تکرار) براساس آزمون LSD انجام شد $(p \leq 0.05)$.
میانگینهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند از نظر آماری اختلاف معنی داری ندارند $(P \leq 0.05)$.

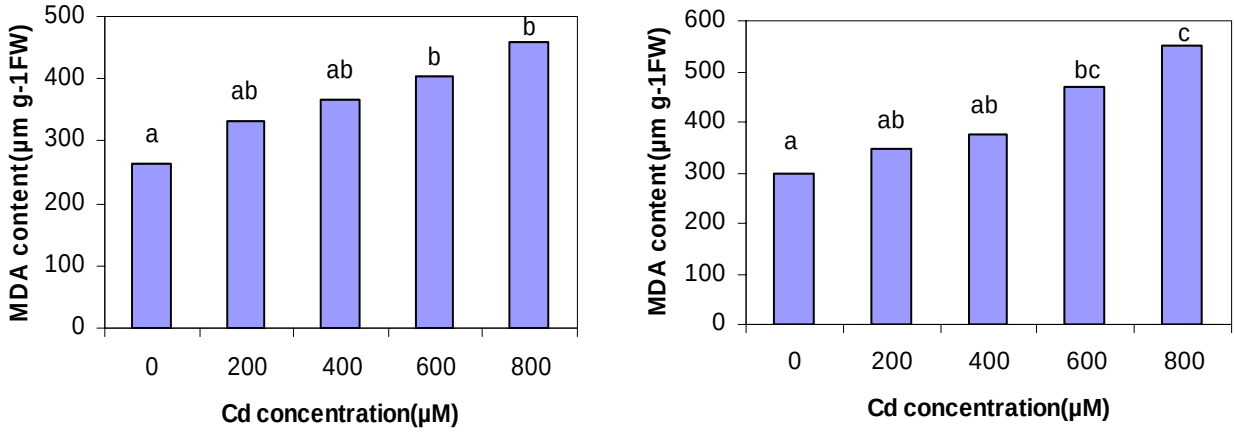
www.SID.ir

نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار قند ریشه و برگ درشکل ۲ و جدول ۱ نشان داده شده است. در برگ و ریشه گیاهان تیمار شده با غلظتهای ۲۰۰ و۴۰۰ میکرومولار کادمیوم، تفاوت چشمگیری در مقدار قند نسبت به گیاه شاهد مشاهده نشد. اما مقدار قند در غلظتهای ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار نسبت به گیاه شاهد افزایش معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد .



شکل۲: اثر کادمیوم بر مقدار قندهای احیا کننده در گیاه کلزا، (A) قند برگ، (B)قند ریشه نشان می دهد. مقایسه میانگینها (میانگین سه تکرار) براساس آزمون LSD انجام شد $(p \le 0.05)$. میانگینهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند از نظر آماری اختلاف معنی داری ندارند $(P \le 0.05)$.

مقایسه مقدارمالون دآلدئید در ریشه و برگ گیاه شاهد با گیاهان تحت تیمار نشان دادکه در برگ و ریشه گیاهان تیمار شده با غلظتهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار کادمیوم، تفاوت زیادی با شاهد ندارد ، اما در غلظتهای ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار تشکیل کمپلکس مالون دآلدئید ـ تیوباربیتوریک اسید افزایش چشمگیری را نسبت به گیاه شاهد در سطح ۵ درصد نشان می دهد (شکل ۳) و (جدول۱).



شکل۳ : اثر کادمیوم بر مقدار مالون دآلدئید در گیاه کلزا، (A) مالون دآلدئید برگ، (B) مالون دآلدئید ریشه را نشان می دهد. مقایسه میانگینها (میانگین سه تکرار) براساس آزمون LSD انجام شد $(p \le 0.05)$. میانگینهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند از نظر آماری اختلاف معنی داری ندارند $(P \le 0.05)$.

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

مهمترین عامل در جذب کادمیوم توسط ریشه از خاک، pH خاک می باشد. گزارش شده است که جذب کادمیوم با کاهش pH محیط کشت افزایش می یابد (۲ و ۲۰). محل اولیه تجمع کادمیوم ریشه بوده و مقداری از آن به برگ منتقل می شود (۳ و ۷). نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان داد که بیشترین تجمع کادمیوم در ریشه می باشد که نسبت به برگ به طور قابل توجهی بالاتر است(جدول۱).

کادمیوم با اختلال در فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن در گیاهان منجر به کاهش رشد می شود که به دنبال آن توده زنده نیز کاهش می یابد(٤). همانطورکه در(جدول۱) مشاهده می شود کادمیوم باعث کاهش وزن تر و خشک در ریشه و برگ گیاه می شود . مشخص شده است که کاهش وزن در ریشه و اندام هوایی گیاهان لوبیا ، که تحت تنش کادمیوم بدلیل اختلال در جذب عناصر غذایی وآب می باشد (٤) .

کادمیوم باعث کاهش گسترش برگ نیز می شود (۲۳). نتایج حاصل از این تحقیق نیزموید این موضوع است زیرا در گیاهان تحت تنش سطح برگ نسبت به گیاه شاهد کاهش چشمگیری دارد (جدول ۱). گزارشاتی مبنی بر تاثیرات منفی کادمیوم بر سطح برگ واختلال در جذب آب وجود دارد که نتیجه آن کاهش فشار تورگر است. این کاهش همراه با کاهش قابلیت ارتجاعی دیواره سلول باعث کوچک شدن سلولها و کاهش فضای بین سلولی در گیاهان تحت تنش با کادمیوم می شود (۲۳).

مقدار کلروفیل با افزایش غلظت کادمیوم کاهش می یابد (۵) که در این تحقیق نیز مشخص شد مقدارکلروفیل وکاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده با کادمیوم (بجز تیمار۲۰۰ میکرومولار)، نسبت به گیاه شاهد کاهش قابل توجهی نشان می دهد (شکل ۱ و جدول ۱). کاهش ذخیره کلروفیل در برگها بعلت مهار مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل است (۵). مهار بیوسنتز کلروفیل احتمالاً بواسطه مهار سنتز δ –آمینولوولنیک اسید و مهار تشکیل پروتوکلروفیلد رداکتاز می باشد (۲۳). همچنین در برگهای تحت تنش کادمیوم، تشکیل LHCII مختل می شود که علت آن مهار سنتز پروتئین LHCII در مرحله نسخه برداری است که باعث فتو اکسید شدن کلروفیل تازه تشکیل شده می گردد (۵). مقدار کاروتنوئیدها نیز تحت تنش کادمیوم کاهش می یابد. کاهش آنها بدلیل فرونشانی غیرفتوشیمیایی کلروفیلهای بر انگیخته است که توسط کاروتنوئیدها انجام و در نتیجه بر هم ریختن ساختار شان می گردد . کاروتنوئیدها در سمیت زدایی کلروفیل بر انگیخته سه تایی نقش دارند. کاروتنوئیدها در چند سطح باعث کاهش اثرات سمی رادیکالهای آزاد می شوند که از جمله واکنش با کلروفیل برانگیخته برای ممانعت از تشکیل رادیکالهال فعال اکسیژن است کاروتنوئیدها بعنوان یک سیستم حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو القاء شده از بین می روند (١٦).

کاهش آهن و منیزیم نیز در برگهای چغندرقند تیمارشده با کادمیوم دیده شده است. کاهش منیزیم و آهن سبب کاهش مقدار کلروفیل می شود (۱ و ۱۰). انتقال آهن نشان دار به اندام گیاهان تیمار شده با کادمیوم مهار می شود. کاهش مقدار کلروفیل در گیاه تیمار شده با کادمیوم نیز بعلت فعالیت آنزیمهای تخریب کننده کلروفیل است (۲۳). شاید علت کاهش کاروتنوئید در تحقیق حاضر نیز بدلیل موارد فوق باشد.

گزارش شده است که غلظت بالای کادمیوم باعث افزایش سطوح مالون دآلدئید در برگ و ریشه گیاه جو می شود(۵). بررسیهای انجام شده در این تحقیق نیز نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم، مقدارمالون آلدئید بعنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید در ریشه و برگ افزایش می یابد . افزایش مالون دآلدئید در غلظتهای ٦۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار کادمیوم در ریشه و برگ بطور قابل توجهی

Archive of SID
www.SID.ir

نسبت به شاهد بیشتراست که این تغییرات احتمالاً بدلیل اثرات سمی کادمیوم می باشد (شکل ۳) و (جدول۱).

احتمالاً این سمیت با ایجاد رادیکالهای آزاد واکنش پذیر، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب شده و مالون دآلدئید افزایش می یابد .

گزارش شده است که با افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید در گیاهان تحت تنش کادمیوم، فعالیت لیپوکسیژناز افزایش می یابد(۱۶). این آنزیم اکسیژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع و با زنجیره طولانی که حاوی یک سیس را کاتالیز می کند. لینولئیک اسید و لینولنیک اسید بیشترین اسیدهای چرب غیراشباع در ساختمان سلول گیاهی هستند که سوبسترای ایده آلی برای این آنزیم می باشد (۲۱).

بسیاری از شرایط تنش زای محیطی بر متابولیسم قندها و پخش مواد فتوسنتزی در گیاهان در حال رشد اثر می گذارند. افزایش مقدار قندهای احیاء کننده تحت شرایط تنش شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است (۲۵). در این تحقیق همانطور که در (شکل ۲) (جدول۱) مشاهده می شود در غلظت۶۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار کادمیوم، مقدار قندهای احیا کننده در ریشه و برگ افزایش قابل توجهی نسبت به گیاه شاهد نشان می دهد . گزارش شده است که در گیاهک برنج (*Oryza sativa*) کادمیوم سبب افزایش قندهای احیاء کننده می شود (۲۵). کادمیوم با کاهش انتقال آب به برگها و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فرا ساختاری اندامکهای سلول و تغییر در رفتار آنزیمهای کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسم قند می شود. با کاهش انتقال آب به برگها و بدنبال تجمع کادمیوم در سلولها، محتوای قندهای احیا کننده در گیاه افزایش می یابد. این پدیده احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت با کادمیوم است . علاوه بر نقش قندها در تنظیم فشار اسمزی تصور می شود با افزایش قندهای حل شونده گیاه بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب نگه دارد (۲۵).

در این تحقیق مشخص نیست که چرا با وجود افزایش قند در گیاهان تیمار شده با کادمیوم که می تواند بعنوان دلیلی بر مقاومت بهتر این گیاه در مقابل تنش باشد، مقدار مالون دآلدئید نیز که شاخصی از سمیت کادمیوم و تنش اکسیداتیو است، افزایش یافته است. برای پاسخ به این سئوال تحقیقات بیشتری لازم است.

تشکر وقدردانی: امکانات آزمایشگاهی این طرح توسط مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی تأمین گردیده است. بدینوسیله از جناب آقای دکتر محمد میرزایی مسئول محترم آن مرکز تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1- Baryla, A., Carrier, p., Frank, F., Coulomb, C., Sahut, C. & Havaux, M. 2001. Leaf chlorosis oilseed rape plants *(Brassica napus)* grown on cadmium-polluted soil:Causes and consequences for phothosynthesis and growth. *Planta*. 212:696-709.

2-Das, P., Samantaray, S. & Rout, G.R.1997. Studies of cadmium toxicity in plants-review. *Environmental Pollution* . 98 (1) : 20-36.

3- Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J. & Raskin, I. 1995. Mechanism of cadmium mobility and accumulation in Indian mostard . *PlantPhysiology*. 109:1427-1433.

4 - Gouia, H., Ghorbal , M.H. & Meyer, C. 2001. Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiology*.38:629-638.

5- Hegedus, A., Erdi, S. & Horvath, G. 2001. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress. *Plant Science*. 160:1085-1093.

6- Hernandez, E.L., Lozano - Ridriguez, E., Garate, A. & Carpena- Ruiz, R. 1998. Influence of cadmium on the uptake , tissue accumulation and subcellular distribution of manganese in *pea* seedlings. *Plant Science*. 132:139-151.

Archive of SID
www.SID.ir

7-Hart, J., Welch, R.M., Wendell, A., Norvell, W.A., Sullivan, L.A . & Kochian , V. 1998. Characterization of Cadmium binding, uptake and translocation in intact seedling of Bread and Durum wheat cultivars. *Plant Physiology* . 116:1413-1420 .

8- Larsson, E.H., Bornman, F.J. & Asp, H. 1998 . Influence of UV-B radiation and Cd $^{2+}$ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *Experimental Botany.* 49:1031-1039.

9- Lee, J., Bae, H., Jeong, J., Lee, J.Y., Yang, Y.Y. & Hwang, I. 2003. Functional expression of a bacterial Heavy metal transporter in Arabidopsis enhances resistance and decrease uptake of heavy metals. *Plant Physiology.* 133:589-596.

10- Lee, S. & Leustek, T. 1999. The effect of cadmium on sulfates assimilation enzymes in *Brassica juncea*. *Plant Science*. 141:201-207.

11-Meidner, H.1984. Class experiments in plant physiology. *Georgh Allen & Unwin Publisher* . pp:156.

12- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. & Dietz, K.J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedling. *PlantPhysiology*. 133:272-281.

13- Mejare, M. & Bulow, L. 2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals – review. *Trends, in Biotechnology.* 19:67-72.

14- Ramos, I., Esteban, E., Lucena, J.J. & Garate, A. 2002. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants *of Lactuca sp.* Cd-Mn intraction . *Plant Science.* 162:761-767.

15- Sairam, K.R., Singh, V.D, Srivastava, G.C. 2003. Changes in activities of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different ages . *Biologia Plantarum*. 47(1):61-66.

16- Sanita di Toppi, L. & Gabbrielli, R. 1999. Response to cadmium in higher plants- review. *Environmental and Experimental Botany*. 41:105-130.

17- Schutzendubel, A., Schwanz, P., Teichmann , T., Gross, K., Langenfeld, R., Douglas, L. & Polle, A. 2001. Cadmium- induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots. *PlantPhysiology*. 127:887-898.

18-Schutzendubel, A. & Polle, A. 2002. Plant responses to abiotic stress: heavymetal – induced oxidative stress and protection by mycorhization. *Exprimental Botany*. 53:1351-1365.

19-Sheoran , I.S., Singal , H.R ., & Singh , R. 1990. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan)* . *Phtosynthetic Research* . 23:345-351.

20-Singh, B. & Myhr, K. 1998. Cadmium uptake by barley as effected by Cd sources pH levels. *Geoderma.* 84:185-194.

21- Skorzynska-Polit, E.W.A., Krupa, Z. 2003. The activity of lipoxygenase in (*Arabidopsis Thaliana* L.) Heynh – a Preliminary study. *Cellular and Molecular Biology* . 8:279-284.

22- Somogy , M . 1952. Notes on sugar determination. *Biological Chemistry* . 195:19-23.

23-Vassilev, A. & Yordanov, I. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants –review. *PlantPhysiology*. 23:114-133.

24-Vassilev, A., Vangronsveld, J. & Yordanov, I. 2002. Cadmium phytoextration; present state, biological backgrounds and reaserch needs – review. *Plant Physiology* . 28:68-95.

25-Verma, S. & Dubey , R.S. 2001 . Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia Plantarum* . 44(1): 117-123.

26- Woodies, T.C., Hunter, G.B. & Johnson, F.J. 1977. Statistical studies of matrix effects on the determination of cadmium and lead in fertilizer and material and plant tissue by flame atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry Acta*. 90:127-136.

27- Zhang, G., Fukami, M. & Sekimoto, H. 2002. Influence of cadmium on minral concentration and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage. *Field Crops Research.* 77:93-98.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of cadmium on photosynthetic pigments, sugars and malondealdehyde content in *(Brassica napus* L.*)*

Soltani.F [1,4], Ghorbanli.M [2] and Manoucheri-Kalantari.Kh [3]

[1]**Dept. Biology, Faculty of Science, PayamNour University, Tehran, I.R. of Iran**

[2]**Dept. Biology, Faculty of Science, Azad Islami University , Gorgan, I.R. of Iran**

[3]**Dept. Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of Iran**

[4]**International center of science, high technology & Environmental Sciences, Kerman, I.R. of Iran**

Abstract

Cadmium is a heavy metal that causes oxidative stress in plants. Cadmium is highly toxic to plants and animals. In this study toxic effect of $CdCl_2$ on *(Brassica napus* L.cv. Fusia*)* was investigated. Plants were grown in vermiculite and irrigated with Long Ashton nutrient solution (pH =5.5) containing $CdCl_2$ from (0 to 800 µM). Leaves and roots from 30-day–old plants were taken and used for determination of biochemical and morphological parameters. The maximum accumulation of cadmium occurred in roots followed by leaves. In leaves cadmium treatment significantly decreased fresh weight at 600 and 800 µM $CdCl_2$ but leaves dry weight and leaf area decreased at 400, 600 and 800 µM $CdCl_2$. In roots cadmium treatment significantly decreased fresh and dry weigh at 600 and 800 µM $CdCl_2$. Cadmium significantly lowered total chlorophyll, chlorophyll a/b ratio and carotenoid content at 400, 600 and 800 µM $CdCl_2$. Cadmium at 600 and 800 µM $CdCl_2$ increased content of soluble reducing sugars and malondealdehyde in leaves and roots of treated plants.

Key words: Cadmium , Oxidative Stress, Malondealdehyde, *Brassica napus*.

Archive of SID

www.SID.ir