

## تأثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه های فتوسنتزی و برخی آنزیمها در گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.)

حمید نورانی آزاد و فرشید کفیل زاده\*

جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۱ تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۲۷

### چکیده

گونه های مختلف گیاهی، به منظور سازگاری و تحمل بیشتر در مقابل تنشهای محیطی ساز و کارهای فیزیولوژیکی متفاوتی را از خود نشان می دهند. کادمیوم یکی از فلزات سنگین می باشد که در گیاهان تنش اکسیداتیو ایجاد می کند. هدف از این تحقیق مطالعه اثرات تنش ناشی از سمیت کادمیوم بر رشد، تغییر میزان رنگیزه های فتوسنتزی، قندهای محلول، فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز و تجمع کادمیوم در ریشه و اندامهای هوایی رقم زرقان فارس از گیاه گلرنگ بود. آزمایشها در شرایط هیدروپونیک انجام شد. تیمارهای صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم با چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی گیاهان اعمال گردید. تحت تنش ناشی از سمیت کادمیوم، مقادیر وزن خشک اندامهای هوایی و ریشه، کلروفیل a، b و کاروتنوئیدهای برگها، قندهای محلول ریشه و اندامهای هوایی، تجمع کادمیوم در ریشه و اندامهای هوایی و فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز در برگها اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که کادمیوم غالباً در ریشه تجمع و مقدار کمی به برگها منتقل شده است. با افزایش غلظت کادمیوم، قندهای محلول ریشه و اندامهای هوایی، نسبت به شاهد افزایش معنی داری یافت. وزن خشک اندامهای هوایی گیاه نسبت به شاهد کاهش معنی داری نشان داد. وزن خشک ریشه و کلروفیل a و b برگها به جز در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم در مقایسه با شاهد کاهش معنی دار داشت. کاروتنوئید برگها کاهش یافت که تنها در دو تیمار ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار در مقایسه با شاهد معنی دار بود. فعالیت آنزیم کاتالاز برگها همراه با افزایش غلظت کادمیوم کاهش یافت که در دو تیمار ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد معنی دار بود. همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز برگها با افزایش تنش کادمیوم کاهش نشان داد که به جز در تیمار ۱۰۰ میکرومولار، در مقایسه با شاهد معنی دار بود.

واژه های کلیدی: سمیت کادمیوم، رنگیزه های فتوسنتزی، پراکسیداز، گلرنگ

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۷۱۱۴۰۷۹۹، پست الکترونیکی: [Kafilzadeh@jia.ac.ir](mailto:Kafilzadeh@jia.ac.ir)

### مقدمه

تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است (۱). برخی از فلزات سنگین از جمله کادمیوم، سرب و جیوه در غلظتهای زیاد، بر رشد و نمو و عملکرد گیاهان اثر می گذارند (۶ و ۲۴). آثار سمی فلزات سنگین بر گیاهان ناشی از تولید انواع مختلف اکسیژن فعال مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می باشد (۱۳) که این اشکال مختلف اکسیژن فعال معمولاً با ایجاد آسیبهای غشایی فرآیندهای مختلف سلولی را دچار اختلال می کنند

امروزه آلودگی محیط زیست، به عنوان یکی از مباحث بسیار مهم در زندگی بشر مطرح است. فلزات سنگین از منابع آلاینده محیط زیست از جمله خاک می باشند که در صورت تجمع در خاک و جذب به وسیله گیاه به زنجیره های غذایی وارد می شوند و مسمومیتهایی را در گیاهان و یا افراد تغذیه کننده از آنها ایجاد می کنند (۳). در بین فلزات سنگین، به کادمیوم توجه ویژه ای شده است. زیرا به راحتی به وسیله ریشه گیاه جذب می شود و سمیت آن

و رشد سلولها، رشد کلی گیاه، تقسیم سلولی منطقه مرستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد (۹). گزارش شده است که این فلز سبب کلروز و نکروز برگها می‌شود. همچنین بررسیها نشان داده است که کادمیوم سبب کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در گیاهان عالی می‌شود (۳۱). میزان قندهای احیاء کننده در گیاهکهای برنج نیز تحت تنش کادمیوم به مدت ۲۰ روز افزایش و میزان قندهای غیر احیاءکننده کاهش می‌یابد (۳۳). در اغلب گونه های گیاهی کادمیوم در ریشه تجمع می‌یابد و به مقدار ناچیز به برگها منتقل می‌شود (۲۸).

گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius* L. متعلق به تیره آستراسه می‌باشد. این گیاه یکی از گیاهان زراعی و با اهمیت در تأمین روغن خوراکی با کیفیت عالی است (۱۹). با توجه به توان خوب این گیاه در توسعه ریشه مستقیم خود در اعماق خاک، به شرایط خشکی و شوری تا حد زیادی مقاوم تر از گیاهان دیگر مانند گندم، چغندرقد و پنبه می‌باشد (۴). در حال حاضر شرایط آب و هوایی خشک بعضی از مناطق فارس، و نیز ویژگیهای گلرنگ باعث شده که در مناطقی از این استان، به خصوص در خاکهای شور و کم آب و آلوده، کشت این گیاه به وسیله کشاورزان مورد استقبال قرار گیرد. با توجه به افزایش سطح زیر کشت این گیاه و استفاده بیش از اندازه از کودهای شیمیایی به خصوص کودهای فسفات و لجن فاضلاب جهت حاصلخیز نمودن و به دنبال آن آلودگی خاکهای این مناطق، بررسی ویژگیهای فیزیولوژیک و تنش ناشی از افزایش فلزات سنگین در این خصوص حائز اهمیت است. شناخت اثرات تنشهای مختلف بر روی فیزیولوژی گیاهان زراعی برای آگاهی از مکانیسمهای مقاومت و بقای گیاهان به منظور افزایش تحمل در برابر تنش ضرورت دارد. از این رو این تحقیق با هدف بررسی تغییرات رشد و برخی واکنشهای فیزیولوژیک و مطالعه

(۲۷). کادمیوم به عنوان یک فلز سنگین، به ویژه در غلظتهای بالا موجب بروز تنش اکسیداتیو می‌شود. اما سلولهای گیاهی برای حفاظت در مقابل آسیبهای اکسیداتیو مجهز به یک سیستم جاروب کننده رادیکالهای آزاد می‌باشند. این سیستم شامل آنزیمهای آنتی اکسیداسیون مانند کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و نیز سیستم آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی می‌باشد (۷). سمیت کادمیوم در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد گیاه به شکلهای مختلف دیده شده است که شامل کاهش عملکرد، کاهش رشد ریشه و برگ، بازدارندگی فعالیت برخی آنزیمها، تولید موتاژنها، کاهش سطح برگ و ماده خشک گیاه می‌باشد (۳۳).

از طرفی در جهان سالانه مقادیر زیادی لجن فاضلاب تولید می‌شود که میزان قابل توجهی از آن به عنوان کود در زمینهای کشاورزی استفاده می‌شود. حضور عناصر غذایی کم مصرف و نیز عناصر سمی مانند سرب، کادمیوم، جیوه و نیکل استفاده بی رویه از لجن در زمینهای کشاورزی را محدود می‌کند (۲)، زیرا کاربرد زیاد لجن باعث انباشت بیش از حد این عناصر در خاک شده و احتمالاً موجب جذب بیش از اندازه این عناصر به وسیله گیاه و انتقال آنها به چرخه غذایی می‌شود. بر اساس گزارش محیط زیست آمریکا مصرف لجن فاضلاب باعث افزایش غلظت عناصر کادمیوم، سرب، جیوه و نیکل تا ۱۰۰ برابر غلظت پایه این عناصر در خاک می‌گردد (۲۱). کادمیوم یک فلز با سمیت زیاد بوده و ورود آن در چرخه غذایی انسان موجب نگرانیهایی شده است. آثار منفی این عنصر بر فعالیتهای بیولوژیک خاک، متابولیسم گیاه، سلامتی انسان و حیوانات سبب شده است که رفتار کادمیوم در محیط و جنبه های سلامتی مرتبط با آن، همچنین آثار آن بر فیزیولوژی گیاهان زراعی توسط محققین زیادی مطالعه شود (۳۳). اگر چه این فلز سنگین، برای رشد گیاه ضروری نیست، اما به راحتی از طریق پوست ریشه گیاه جذب می‌شود و سپس از راه برون غشائی یا درون غشائی وارد بافت چوب می‌گردد (۳۰). بررسیها نشان داده است که کادمیوم بر تقسیم

تغییر در میزان برخی ترکیبات شیمیایی در شرایط تنش ناشی از افزایش فلز کادمیوم انجام شده است.

## مواد و روشها

**کشت دانه ها:** بذره‌های گیاه گلرنگ رقم محلی زرقان فارس به شماره ۲۷۹ از مؤسسه کشت و توسعه دانه های روغنی تهیه گردید و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه، به کمک آب مقطر چندین بار شستشو داده شد. بذره‌های ضدعفونی شده، جهت کشت به محیط ماسه کاملاً استریل منتقل گردید. آبیاری آنها به کمک آب مقطر به مدت یک هفته انجام شد. از هفته دوم به بعد آبیاری آنها به کمک محلول غذایی هوگلند ۰/۵ درجه به مدت ۲ هفته صورت گرفت. پس از این مدت گیاهکهای مشابه و یکسان از محیط ماسه جدا و به ظروف دارای محلول غذایی هوگلند منتقل گردید. در هر ظرف یک لیتر محلول غذایی و ۶ گیاه قرار داده شد.

**تیمارهای کادمیوم:** تیمارهای کادمیوم با افزودن کلرید کادمیوم در غلظتهای صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار به محلول غذایی هوگلند ۰/۵ درجه اعمال گردید. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. pH محلول غذایی روی ۷/۲-۸ تنظیم گردید. مدت زمان تیمار با کلرید کادمیوم ۴ هفته بود. تمام بررسیهای انجام گرفته در شرایط اتاق رشد با دمای شب  $2 \pm 16$  و دمای روز  $22 \pm 22$ ، نور ۱۶ ساعت و تاریکی ۸ ساعت و رطوبت ۷۰-۶۵ درصد انجام شد. هوادهی گیاهکها روزانه به مدت ۲ ساعت و تجدید محلولهای غذایی، هر ۴ روز یکبار صورت گرفت. پس از گذشت ۴ هفته از اعمال دوره تنش، گیاهکها از محلولهای غذایی خارج و بررسیهای لازم بر روی آنها انجام شد. ریشه و اندامهای هوایی از یکدیگر جدا و با آب مقطر شسته شدند. نمونه های مورد استفاده برای تعیین وزن خشک در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفته و سپس وزن خشک آنها به کمک ترازوی دیجیتال Sartorius-Germany مدل Bp315

اندازه گیری شد. از مواد تازه گیاهی جهت اندازه گیری فعالیت آنزیمها پس از قرارگرفتن در نیتروژن مایع در ۷۰- درجه سانتی گراد واز بافتهای تازه گیاه جهت استخراج آنزیمها استفاده شد. بافتها در هاون و با بافر پتاسیم فسفات ( ۱۰۰ mM و pH ۷ ) دارای ۰/۱ mM Na<sub>2</sub> EDTA، ۰/۲mM اسکوربیک اسید و یک درصد پلی وینیل پلی پیرولیدون در دمای ۴ درجه سانتی گراد همگن گردید و سپس با سانتریفیوژ مدل Hermle- Z200A- Germany در ۱۲۰۰۰g به مدت یک ساعت سانتریفیوژ شدند (۲۰). سنجشهای آنزیمی در مایع رویی به کمک اسپکتروفتومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد صورت گرفت. مقدار پروتئین نمونه ها با روش برادفورد (۵) اندازه گیری شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از طریق کاهش مقدار پراکسید هیدروژن استفاده شد. مخلوطی شامل بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ mM و pH ۷/۵) و ۲۵mM پراکسید هیدروژن تهیه شد. سپس با اضافه کردن مقدار مناسب عصاره آنزیمی در حجم نهایی سه میلی لیتر فرآیند شروع گردید (۲۷). برای سنجش آنزیم پراکسیداز فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندازه گیری شد. محیط واکنش آنزیم شامل بافر فسفات پتاسیم (۵۰ mM و pH =۷)، ۰/۱mM Na<sub>2</sub> EDTA و ۵mM پراکسید هیدروژن و ۳۰mM گایاکول بود. واکنش با اضافه کردن مقدار مناسب عصاره آنزیمی در حجم نهایی سه میلی لیتر مخلوط آغاز گردید. افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد (۱۴).

میزان قندهای محلول اندامهای هوایی و ریشه گیاه با استفاده از روش فنل اسیدسولفوریک (۲۲) اندازه گیری شد. در این روش به ۰/۱ گرم از ماده خشک ریشه و اندامهای هوایی گیاه به طور جداگانه ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه گردید و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد تا قندهای محلول آن جدا شود. پس از یک هفته از محلول رویی نمونه ها، یک میلی لیتر برداشته و حجم آنها با آب مقطر به ۲ میلی لیتر رسانده شد. پس از اضافه کردن یک میلی لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی لیتر

(۷۰درصد) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و به خوبی در اسید هضم گردید. سپس محلول اسیدی را گرم کرده تا بخارات آن خارج شود. در مرحله بعد حجم محلول با آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد و به کمک کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف گردید. میزان کادمیوم محلول به کمک دستگاه جذب اتمی واریان مدل Australia-Spectra AA 220 اندازه گیری شد. جهت تعیین غلظت یون، محلول استاندارد قبل از سنجش نمونه به دستگاه تزریق گردید و نمودار استاندارد آن رسم شده و غلظت مجهول محلول به کمک نرم افزار مخصوص دستگاه (Spectr AA 220) تعیین شد (۳۸).

کلیه آزمایشها به کمک طرح آماری کاملاً تصادفی و با استفاده از جدول تجزیه واریانس و آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد تجزیه و تحلیل گردید. نتایج آزمایشها با استفاده از نرم افزار SAS version 9 بررسی شد.

جدول ۱ - تجزیه واریانس اثر آزمایش بر صفات اندازه گیری شده

میانگین مربعات												
منابع	درجه	وزن	وزن	کلروفیل	کلروفیل	کارتونوئیدها	قندهای	قندهای	کادمیوم در	کادمیوم در	کاتالاز	پرسیداز
تغییرات	آزادی	خشک	خشک	برگها	a برگها	b برگها	برگها	محللول	اندامهای	ریشه	اندامهای	برگها
		اندامهای	ریشه				برگها	ریشه	هوایی	هوایی	برگها	برگها
		هوایی										
تیمار	۴	۲۶/۹**	۱۴/۰۴**	۷/۹۱**	۸/۰۸**	۶/۷۰**	۵/۷۱**	۳۲/۲۱**	۴۰/۴۶/۹۰**	۳۷۸/۴۰**	۶/۹۰**	۳/۱۳**
خطا	۱۵	۲/۰۸	۱/۲۳	۰/۳۱	۰/۲۵	۰/۲۰	۲/۸۸	۱/۱۳	۲۷/۱۴	۱۲/۲۷	۰/۰۴	۰/۰۷

\*\* : معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

## نتایج

احتمال یک درصد میانگین کاهش وزن خشک اندامهای هوایی بین شاهد و کلیه تیمارها معنی دار است و متوسط کاهش وزن خشک ریشه به جز در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم بین شاهد و تیمارهای دیگر معنی دار بود (جدول ۲). نتایج حاصل از اندازه گیری رنگیزه ها پس از اعمال تیمارهای مختلف کادمیوم، کاهش آنها را نشان داد. براساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد این کاهش در تیمارهای مختلف معنی دار است (جدول ۱). آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که

اسیدسولفوریک غلیظ (۸۰درصد) میزان جذب به وسیله اسپکتروفتومتر UV-160A-Japan - شیمادزو در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد و در انتها میزان قند اندامهای نمونه ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید. برای اندازه گیری رنگیزه های فتوسنتزی شامل کلروفیل a, b و کارتونوئیدها، از برگهای تازه گیاهکها پس از اعمال دوره تنش استفاده شد. محاسبه غلظت کلروفیلهای a, b و کارتونوئیدها با استفاده از روش لیچتن تالر و همکارش (۲۳) انجام شد. در این روش میزان جذب رنگیزه های فتوسنتزی در طول موجهای ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد و به کمک معادلات Lichtenthaler & Welburn (۲۳) اندازه گیری گردید. سنجش میزان یون کادمیوم در ریشه و برگهای گیاه با استفاده از روش جذب اتمی صورت گرفت. مقدار ۰/۵ گرم از ماده خشک گیاه در ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ

در گیاهانی که تحت تیمار کادمیوم بودند علائم سمیت این فلز به صورت کلروز در برگها مشاهده شد. این ویژگی در تیمارهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار شدیدتر بود. وزن خشک اندامهای هوایی و ریشه گیاهان همراه با افزایش مقادیر کادمیوم به محیط کشت به صورت معنی داری کاهش یافت. تجزیه واریانس اثر تیمارها بر وزن خشک اندامهای هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار است (جدول ۱). براساس آزمون دانکن در سطح

این اندامها است. میزان این انباشتگی در ریشه ها شدیدتر از اندامهای هوایی است. آنالیز واریانس افزایش میزان کادمیوم در ریشه و اندامهای هوایی را در سطح احتمال یک درصد معنی دار نشان داد (جدول ۱). آزمون دانکن نشان داد که در سطح احتمال یک درصد این انباشتگی در اندامهای هوایی و ریشه، بین شاهد و تیمارهای دیگر معنی دار است (جدول ۲). میزان فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز برگها، همراه با افزایش غلظت کادمیوم در محیط رشد کاهش یافت. براساس تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت این آنزیمها در برگ معنی دار است (جدول ۱). آزمون دانکن نشان داد که کاهش فعالیت کاتالاز برگها همراه با افزایش غلظت کادمیوم، تنها در تیمارهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم در مقایسه با شاهد در سطح احتمال یک درصد معنی دار است. همچنین کاهش فعالیت پراکسیداز برگها، به جز در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم در مقایسه با شاهد در سطح احتمال یک درصد، در تیمارهای دیگر معنی دار است (جدول ۲).

متوسط کاهش کلروفیلهای a و b در برگ به جز در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم، در تیمارهای دیگر در مقایسه با شاهد معنی دار است. کاهش کاروتنوئید برگها نیز در تیمارهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم در مقایسه با شاهد معنی دار می باشد (جدول ۲). همراه با افزایش غلظت کلرید کادمیوم در محیط کشت، افزایش در میزان قندهای محلول ریشه دیده شد، نتایج حاصل از آنالیز واریانس در سطح ۱ درصد تیمارهای مختلف بر روی قندهای محلول ریشه، این افزایش را معنی دار نشان داد (جدول ۱). براساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد متوسط مقدار این افزایش بین شاهد و تیمارهای دیگر معنی دار است (جدول ۲). همراه با افزایش غلظت کلرید کادمیوم در محیط رشد، افزایش تدریجی در میزان قندهای محلول اندامهای هوایی دیده شد. تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد این افزایش را معنی دار نشان داد (جدول ۱). براساس آزمون دانکن، بین شاهد و تیمارهای دیگر این افزایش در سطح احتمال یک درصد معنی دار است (جدول ۲). اندازه گیری میزان کادمیوم در ریشه و اندامهای هوایی نشان دهنده انباشتگی این یون در

جدول ۲ - متوسط صفات اندازه گیری شده در سطوح تیمار مختلف کادمیوم

صفات اندازه گیری شده	تیمارهای مختلف کادمیوم (میکرومولار)	صفر (شاهد)	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰
وزن خشک اندامهای هوایی (میلی گرم در بوته)	۲۸/۱ a	۲۵/۲ b	۲۳/۲ bc	۲۰/۸ cd	۱۹/۷ d	
وزن خشک ریشه (میلی گرم در بوته)	۱۲/۴۳ a	۱۲/۲۶ a	۱۰/۶۶ b	۸/۶۰ c	۷/۶۰ d	
کلروفیل a برگها (میلی گرم بر گرم وزن تر)	۸/۷۳ a	۸/۳۰ a	۶/۸۰ b	۶/۶۳ b	۴/۹۰ c	
کلروفیل b برگها (میلی گرم بر گرم وزن تر)	۶/۸۰ a	۶/۲۰ ab	۵/۵۶ b	۴/۱۶ c	۳/۰۳ d	
کاروتنوئید برگها (میلی گرم بر گرم وزن تر)	۲/۸۶ a	۲/۷۳ a	۲/۲۳ a	۰/۷۰ b	۰/۰۲ c	
قندهای محلول ریشه ها (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	۵۰/۶۹ a	۵۴/۸۰ b	۵۶/۹۰ c	۵۹/۷۱ d	۶۲/۳۹ e	
قندهای محلول اندامهای هوایی (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	۳/۱۳ a	۴/۳۶ b	۷/۴۰ c	۹/۳۰ d	۱۲/۰۳ d	
کادمیوم در ریشه ها (میکروگرم در گرم وزن خشک)	۸۵۲/۸ a	۱۴۸۲/۹ b	۱۹۲۱/۶ c	۲۸۳۱/۵ d	۳۰۱۶/۱ e	
کادمیوم در اندامهای هوایی (میکروگرم در گرم وزن خشک)	۸۳/۹۰ a	۱۰۷/۱۵ b	۱۰۸/۴۹ b	۱۱۳/۷۲ b	۱۱۷/۲۷ c	
کاتالاز برگها (واحد میلی گرم پروتئین)	۴/۱ a	۳/۵ a	۲/۸ a	۲/۷ b	۲/۶ c	
پراکسیداز برگها (واحد میلی گرم پروتئین)	۲/۲ a	۱/۷ a	۱/۲ b	۰/۴ c	۰/۲ d	

اعداد دارای حروف غیر مشابه هر ردیف در سطح احتمال ۱ درصد دارای اختلاف معنی دار است.

## بحث

مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه های کارتنوئیدی است (۱۷). فلزات سنگین با بازدارندگی بیوستنز پروتئینهای کمپلکس LHCI در سطح رونویسی تشکیل این کمپلکس را مختل می نمایند (۳۴). کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو حفاظت شده دارند به همین علت از بین می روند. این رنگیزه ها در سمیت زدایی کلروفیل نقش دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکالهای آزاد می شوند (۳۰). در مطالعه موجود، کاهش کلروفیلها و دیگر رنگیزه های فتوسنتزی سبب کاهش فتوسنتز و رشد شده و علایم کمبود به صورت کلروز برگها می باشد. به نظر می رسد سمیت کادمیوم و تولید انواع مختلف اکسیژن واکنش گر (ROS) سبب کاهش رنگیزه های فتوسنتزی شده است. همچنین ممکن است افزایش مقدار کادمیوم در محیط رشد جذب عناصر غذایی لازم برای ساخته شدن و تولید کلروفیل را محدود کرده باشد و در نتیجه زردی برگها دیده شود. نتایج این مطالعه نشان داد که همراه با افزایش غلظت کادمیوم در محیط رشد، میزان قندهای محلول در ریشه و اندامهای هوایی به طور معنی دار افزایش یافت و این افزایش در ریشه ها بیشتر از اندامهای هوایی بود. افزایش قندهای محلول در شرایط تنش ناشی از شوری، خشکی، سرما و فلزات سنگین گزارش شده است (۱۲). بسیاری از فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئینهای کانالی انتقال آب و با بستن روزنه های برگ، جریان آب را در گیاه متوقف می سازند (۳۹). با کاهش انتقال آب به برگها و به دنبال تجمع کادمیوم در سلولها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه بر این افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (۳۶). این نتایج با نتایج ورما و همکارش بر روی برنج همخوانی دارد (۳۶). به نظر می رسد کادمیوم انتقال آب را در گیاه مورد مطالعه کاهش داده در نتیجه غلظت

نتایج حاصل از پژوهش حاضر، نشان دهنده آثار سمی کادمیوم در گیاهکهای گلرنگ بود. کلروز و کاهش رشد از مهم ترین آثار سمیت کادمیوم به ویژه در غلظتهای بالا در مورد گیاه مورد مطالعه محسوب می شوند. فلزات سنگین با کاهش شدید فتوسنتز و انتقال تولیدات فتوسنتزی و تقسیم سلولی، رشد گیاه را به شدت کاهش می دهند (۸). انباشته شدن کادمیوم در بسیاری از گیاهان باعث کمبود آهن، منیزیم و کلسیم می شود و سنتز کلروفیل را متوقف می کند و سرعت رشد و فتوسنتز را به شدت کاهش می دهد (۲۶). کادمیوم با اختلال در متابولیسم نیتروژن از طریق مهار فعالیت آنزیمهایی مانند گلوتامین سینتاز، گلوتامات سینتاز و نترات ردوکتاز، و فرآیند احیاء نترات سبب کاهش تولید پروتئین شده و رشد را متوقف می کند (۳۷). نشان داده شده است که کادمیوم به غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست آسیب می زند و ظرفیت فتوسنتزی را به شدت کاهش داده و رشد گیاه را متوقف می سازد (۱۸). همچنین با مهار فعالیت آنزیمهای چرخه کالوین از جمله روبیسکو، و زنجیره انتقال الکترون و آسیب به سلولهای روزنه ای، فتوسنتز و رشد را کاهش می دهد (۳۲). در مطالعه حاضر کاهش وزن خشک اندامهای هوایی و ریشه می تواند در اثر اختلال در فرآیند فتوسنتز و متابولیسم نیتروژن باشد. همچنین در اثر کاهش رنگیزه های فتوسنتزی تولید بیوماس و رشد در گیاه مورد مطالعه کاهش یافته است. نتایج نشان داده است که کاهش وزن ریشه و اندامهای هوایی لوبیا در اثر افزایش کادمیوم به دلیل اختلال در جذب عناصر غذایی و آب می باشد (۱۶). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلروفیلها و کاروتنوئید برگها با افزایش غلظت کادمیوم در محیط رشد کاهش یافت. کاهش میزان رنگیزه های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار کادمیوم می تواند به دلیل آسیبهای اکسیداتیو باشد. همچنین این کاهش در اثر بازدارندگی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کادمیوم در ریشه و اندامهای هوایی انباشته می‌شود و بخش زیادی از این عنصر در ریشه‌ها تجمع می‌یابند. گزارش شده است که محل اولیه تجمع کادمیوم ریشه بوده و مقداری از آن به برگها منتقل می‌شود (۲۹). انباشتگی کادمیوم در ریشه یکی از ساز و کارهای تحمل برخی گونه‌ها محسوب می‌شود. در این گیاهان بخش زیادی از کادمیوم جذب شده متصل به دیواره باقی می‌ماند و یا در واکنش‌های ریشه ذخیره می‌شود (۲۵). به نظر می‌رسد سمیت کادمیوم انتقال آب را به اندامهای هوایی گیاه کاهش داده و به دنبال آن بخش ناچیزی از این عنصر به این اندامها منتقل شده باشد و تجمع بیشتر آن در ریشه‌ها صورت گرفته است. تجمع کادمیوم به میزان زیاد در ریشه‌ها می‌تواند یک نکته مثبت تلقی شود چون این امر احتمالاً مانعی برای انتقال بیشتر آن به اندامهای هوایی و بخشهایی از گیاه است که استفاده غذایی دارد.

### نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی از نتایج به دست آمده چنین استنباط می‌شود که تأثیر تنش ناشی از افزایش غلظت کادمیوم بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه متفاوت می‌باشد. گیاه به منظور سازگاری و تحمل بیشتر در برابر غلظتهای مسموم‌کننده این فلز سنگین مبادرت به تجمع آن در ریشه و محدود کردن انتقال آن به اندامهای هوایی می‌کند. همچنین با افزایش میزان قندهای محلول در اندامهای هوایی و به ویژه ریشه‌ها سازش گیاه را برای حفظ شرایط اسمزی نشان می‌دهد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز برگها نشان از آثار سمیت کادمیوم و تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن می‌باشد که آسیبهای اکسیداتیو و کاهش رشد را دنبال دارد.

این عنصر در سلولها افزایش یافته است و کاهش آب در سلولها سبب افزایش غلظت قندهای محلول در اندامهای هوایی و ریشه شده است تا از این طریق گیاه بتواند با حفظ شرایط اسمزی حداکثر توان خود را جهت حفظ مقادیر آبی گیاه انجام دهد. از طرف دیگر افزایش میزان قند در گیاه نشان دهنده کاهش میزان آب در سلولها است که عاملی مهم در کاهش رشد گیاه می‌باشد. تجمع بیشتر قندها در ریشه‌ها نیز می‌تواند نشان دهنده اهمیت تنظیم اسمزی در مکانهای جذب باشد. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که مقادیر زیادی از کادمیوم در ریشه‌ها تجمع می‌یابد. تجمع این عنصر در سلولهای ریشه، سبب افزایش بیشتر قندهای محلول می‌گردد تا بتواند با تنظیم اسمزی، اختلال در جذب و انتقال آب را برطرف کند. در مطالعه حاضر همراه با افزایش غلظت کادمیوم از میزان آنزیمهای کاتالاز پراکسیداز برگها کاسته شد از آثار سمیت ناشی از کادمیوم می‌توان به کاهش فعالیت این آنزیمها اشاره کرد. رادیکالهای آزاد اکسیژن که در شرایط تنش ناشی از فلزات سنگین به وجود می‌آیند با حمله به آنزیمهای آنتی‌اکسیدان و آسیبهای اکسیداتیو باعث مهار این آنزیمها می‌شوند (۱۵) و با کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز، تجمع  $H_2O_2$  افزایش می‌یابد که این فرآیند نیز باعث مهار آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز می‌گردد (۱۰). کاهش فعالیت کاتالاز همراه با افزایش غلظت کادمیوم در برخی گیاهان به علت کاهش در میزان پروتئینهای گیاه در اثر سمیت این فلز و تنش اکسیداتیو گزارش شده است (۳۵). همچنین کاتالاز در اثر پروتئینهای موجود در پراکسی‌زومها می‌تواند کاهش یابد (۱۱). نتایج این مطالعه با یافته‌های گالیگو بر روی آفتابگردان همخوانی دارد (۱۵). کاهش آنزیمهای آنتی‌اکسیدان در این مطالعه، می‌تواند باعث تولید و تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) شده و با ایجاد تنش اکسیداتیو، تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی و رشد را مهار کند.

## منابع

- ۱- ثوابقی، غ. ر. و ج ملکوتی. ۱۳۶۹. اثرات روی و کادمیوم بر غلظت عناصر و ترکیب شیمیایی دانه گندم. مجله آب و خاک ۱۲(۹): ۶۴-۶۵.
- 2- Adamu, C. A. Bell, P. F. Mulchi, C. and Chaney, R. 1989. Residual metal concentration in tobacco a decade following farmland application of municipal sludge. *J. Environ. pollut.* 56 : 113 – 126.
- 3 – Antoniadis, N. and Alloway, B. J. 2001. Availability of Cd, Ni and Zn to rye grass in sewage sludge treated soils at different temperatures. *water, Air and soil pollut.* 132: 201 – 204.
- 4 – Bassil, E. S. and KaffKa, S. R. 2002. Response of safflower to saline soils and irrigation. I. consumptive water use. *Agric. Water Manage.* 54 : 67 – 80.
- 5 – Bradford, M. M. 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. *Analytical Biochemistry.* 72: 248 – 254.
- 6 – Brooks, R. R. 1998. Geobotany and hyperaccumulators. IN: R. R. Brooks ( ed ) *Plants that hyperaccumulate heavy metals*, PP. 55 – 94. CAB International, U. S. A
- 7 - Cho, V. H. and Park, J. O. 2000. Mercury - induced oxidative stress in tomato seedlings . *plant sci.* 126 : 1 – 9 .
- 8- Dalla vecchia, f., La Rocca, N., Moro, I. 2005. Morphogenetic, ultrastructural and physiological damages suffered by submerged leaves of *Elodea Canadensis* exposed to cadmium. *Plant Sci.* 168(2):329-338.
- 9 – Das. p., Samantary, S. and Rout, G. R. 1997. Studies of cadmium toxicity in plants – Review. *Environ pollut.* 98 ( 1 ): 20 – 36.
- 10 – Dell rio, L. A., Copas, F. J. Sandali, L. M. palma, J. M. and Barroso, J. B. 2003. plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. *IUBMB Life* 55: 71 – 81.
- 11- Distefano, S., Palma, J.M., Del Rio, L. A. 1999. Proteolytic cleavage of plant proteins by peroxisomal endoproteases from senescent Pea leaves. *Planta*, 209: 308-313.
- 12- Dubey, R.S. 1997. Photosynthesis in plants under stressfull conditions. In: Pessarakli, M. (ed) *Hand book of photosynthesis*. Dekker New York pp 859-876.
- 13 – Ferreira, R. R. , Fornazir, R. F., Vitoria, A. P. and Lea, P. J. 2002. Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress. *J. plant Nut.* 25 : 327 – 342 .
- 14 – Fielding, J. L. and Hall. J. 1978. A biochemical and cytochemical Study of peroxidase activity in root pea. *J. of Exp. Bot.* 29: 98 – 989 .
- 15 – Galleco, S. M. Benavides, M. P. and Tomaro, M. L. 1996. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. *plant sci.* 121: 151 – 159.
- 16 – Gouia, H., Ghorbal M. H. and Meyer, C. 2001. Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. *plant physiol.* 38: 629 – 638.
- 17 – Hegedus, A., Erdel, S. and Horvath, G. 2001. Comparative studies of  $H_2O_2$  detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress. *plant sci.* 160: 1085– 1093 .
- 18- Jianpeng, F., Qinghua, S., Xiufeng, W., Min, W. 2010. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium toxicity *Cucumis sativus* L. *Science Horticulture*, 123:521-530.
- 19 – Kaffka, R. S. and Kearney, T. E. 1998. Safflower production in California. *Univ. of california, Agricultural and Natural Resources pub.*, U. S. A
- 20 – Kang, G. wang, C., Sun, G. and wang, Z. 2003. Salicylic acid changes activities of  $H_2O_2$  – metabolization enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedling. *Environmental and experimental Botany.* 50: 9 – 15.
- 21 – Khoshgoftar, A. H. and Kalbasi, M. 2002. Effect of municipal waste leachate on soil properties and growth and yield of rice . *commu. soil . plant anal.* 33: 2011– 2020.
- 22 – Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: Helebut, J. A., Craigie J. S ( ed ): *Hand book of*



- physiological Methods PP. 96 – 97 Cambridge Unir. press, Cambridge.
- 23 – Lichtenthaler, H. K. and Welburn, W. R. 1994. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *biochem. Soc. Tran.* 11: 591 – 592.
- 24 – Madhava Rao. K. V. and Sresty, T. V. S. 2000. Antioxidative parameters in the seedling of pigeonpea in response to Zn and Ni stresses. *plant Sci.* 157: 113 – 128 .
- 25 – Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd Edition, Academic press.
- 26- Mobin, M., Khan, N.A. 2007. Photosynthetic activity pigment composition and antioxidative response of two mustard cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J.plant Physiol.* 164:601-610.
- 27 – Pereira, G. J. G, Molina, S. M. G, Lea, P. J. and Zevedo, R. A. 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to Cd in *Crotalaria juncea* plant and soil. 239: 123 – 132.
- 28 – Ramos, I. Esteban, E . , Lucena, J. J. and Garate, A. 2002. Cd uptake and Sub cellular distribution in plants of *lactuca sp.* Cd - Mn interaction. *plant Science.* 162: 761 – 767.
- 29 – Salt, D. E., prince, R. C., pickering, I. J. and Raskin, I. 1995. Mechanism of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. *plant physiol.* 109: 1427- 1433.
- 30 – Sanitata di toppei., L. and Gabbriella, R. 1999. Response to Cd in higher plant- Review. *Envi. and Exp. Bot.* 45: 105 – 130.
- 31 – Singh, B. and Myhr, K. 1998. Cadmium uptake by barley as affected by Cd sources PH levels. *Geoderma.* 84: 185 – 194 .
- 32- Souza,J.F., Dolder,H.,Cortelzaao,AL. 2005. Influence of Mn toxicity on photosynthesis in *Vigna umbellate* seedlings. *Phptosynthetica*, 38: 449-453.
- 33 – Stoeppler, M. 1991. Cadmium , in metals and their compounds in the environment. E . Merian ( Ed ) , V C H . Weinham .
- 34 – Tziveleka, L., Kaldis, A., Hegedus, A., Kissimon, J., Prombonal, A. Horvath, G. and Arjyroidi – Akoyou, J. 1999. The effect of Cd on chlorophyll and light – Harvesting complex II biosynthesis in greening plants . *Natur forsch.* 54c: 740 – 745.
- 35 – Vajpae, P. R D. Tripathi, U. N. Rai, , M. B. Ali and Singh, S. N. 2000. Cd Accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, Nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L. *Chemosphere.* 41: 1075 – 1082.
- 36 – Verma, S, and Dubey, R. S. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia plantarum.* 44 ( 1 ): 117 – 123 .
- 37- Wang, L., Zhou,Q., Ding, L., Sun,Y. 2008.Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of *Solanum nigrum* L. *J.Hazard. Mater.* 154:818-825.
- 38 – woodies, T. C., Hunter, G. B.and Johnson, F. J. 1977. Statistical studies of matrix effects on the determination of Cd and Pb in fertilizer and material and plant tissue by Flame atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry Acta.* 90:127– 136.
- 39- Zhang,W.H., Tyerman,S.D.,1999.Inhibition of water channels by HgCl<sub>2</sub> in intact Wheat root cells. *Plant Physiol.*120:849-857.

## The effect of cadmium toxicity on growth, soluble sugars, photosynthetic pigments and some of enzymes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

Noorani Azad H. and Kafilzadeh F.

Department of Biology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, I.R. of IRAN

### Abstract

Different species of plants facing various environmental stresses show different physiological responses. Cadmium is a heavy metal that causes oxidative stress in plants. This study investigated the effects of cadmium toxicity on growth, photosynthetic pigments, soluble sugars, activity of peroxidase and catalase enzymes and cadmium accumulation in root and shoot of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) the cultivar of zarghan Fars. The experiment was carried out under hydroponic conditions with 5 treatments ( 0, 100, 200, 400 and 600  $\mu\text{M}$  ) and 4 replicates. Dry weight of root and shoot, chlorophylls a and b and carotenoids, soluble sugars, cadmium accumulation in root and shoot and the activity of catalase and peroxidase in leaf were measured. The results showed that the maximum accumulation of cadmium occurred in roots followed by leaves. Soluble sugars in root and shoot increased significantly and dry weight of shoots decreased with increasing cadmium toxicity in comparison to control. The reduction of Dry weight of roots, except for 100  $\mu\text{M}$  treatment and the reduction of chlorophyll a and b contents were significant. Carotenoid content except for 100  $\mu\text{M}$  treatment decreased and the reduction for the treatments of 400 and 600  $\mu\text{M}$  were significant. The activity of catalase in leaf decreased significantly for the treatments of 400 and 600  $\mu\text{M}$ . Also the reduction peroxidase activity, except for the treatment of 100  $\mu\text{M}$  was significant.

**Keywords:** Cadmium toxicity, photosynthetic pigments, peroxidase, Safflower.