مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره دوم، شماره هشتم، پاییز ۱۳۹۱
Archive of SID

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی تاثیر کادمیوم بر تغییر بیان ژن های چرخه سلولی (Cyclin B1 و CDK-A) در نوک ریشه گیاهچه های گندم (*Triticum aestivum* L.)

اکبر عظیمی*[۱]، فرج ا... شهریاری[۲]، امیر فتوت[۳]، خداورد حاجی زاده[۴]، رضا کاظمی قلعه[۵]

[۱]کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۲]دانشیار، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۳]دانشیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۴]دانشجوی کارشناسی، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران
[۵]کارشناس ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی ابهر، ابهر، ایران

چکیده

سابقه و هدف: اثر سمی کادمیوم بر پارامترهای رشدی و تقسیم سلولی در مناطق مریستمی گیاهان مختلف به اثبات رسیده است. اما با وجود این شواهد، مکانیزم های مولکولی دقیق این فرآیند به خوبی شناخته نشده است. هدف از این تحقیق بررسی اثر کادمیوم بر بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A در نوک ریشه گیاهچه های گندم، برای شناخت مکانیزم های مولکولی تاثیر کاهشی کادمیوم بر رشد است.

مواد و روش ها: نوک ریشه گیاهچه های گندم رشد کرده در محیط های کشت حاوی غلظت های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر کلرید کادمیوم برای استخراج RNA و انجام RT-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی این ژن ها مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها: یافته ها نشان داد که بیان ژن cyclin B1 در غلظت های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم بر لیتر کلراید کادمیوم تغییری نداشته است، اما در غلظت های بالاتر از ۱۵ میلی گرم بر لیتر اثر کاهشی آن بر روی بیان ژن کاملا مشهود است. همچنین بیان ژن CDK-A در غلظت های ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم تحت تاثیر کاهشی کادمیوم قرار گرفت.

نتیجه گیری: کاهش رشد ریشه و کلوپتیل گیاهچه های گندم تیمار شده با غلظت های مختلف کادمیوم، به بیان دو ژن cyclin B1 وCDK-A و به عوامل ناشناخته دیگری غیر از بیان این دو ژن بستگی دارد.

کلمات کلیدی: بیان ژن، کادمیوم، cyclin B1، CDK-A، RT-PCR

مقدمه

کادمیوم به عنوان یکی از سمی ترین فلزات سنگین موضوع مطالعات زیادی در طی سال های اخیر بوده است (۱،۲،۴،۲۰) این فلز به عنوان یکی از مهم ترین آلاینده های محیط زیست به شمار می رود که روز به روز به وسعت و میزان آلودگی آن بر اثر فعالیت های صنعتی در طبیعت افزوده می شود (۵،۲۰).

آدرس نویسنده مسئول : کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
Akbar_azimi55@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله : ۹۱/۳/۱
تاریخ پذیرش : ۹۱/۶/۲۹

کادمیوم اثر چند گانه بر روی موجودات زنده در سطوح مولکولی، سلولی و بافت دارد (۷). تاثیر کادمیوم بر رشد گیاهان نیز از جمله موارد مورد مطالعه بوده و ثابت شده است که کادمیوم می تواند اثر سمی بر روی فرآیندهای فتوسنتزی، تنفسی، سیستم انتقال الکترون و ساختار کلروفیل داشته باشد (۱،۲،۳). تقسیم سلولی در نقاط مریستمی یکی دیگر از مواردی است که تحت تاثیر تیمار کادمیوم قرار می گیرد (۴). گزارشات موجود حاکی از آن است که کادمیوم می تواند تقسیم سلولی را در ناحیه مریستمی تحت تاثیر قرار دهد، به طوری که گزارش شده است که کادمیوم در غلظت های کم (۴-۱ میکرومول) موجب افزایش تقسیم سلولی و به دنبال آن افزایش رشد در گیاهان

www.SID.ir

Archive of SID

می شود و در سطوح بالاتر از این غلظت ها موجب کاهش تقسیم و به دنبال آن موجب کاهش رشد می گردد (۲۰). اثر ژنوتوکسی کادمیوم نیز از جمله موارد مورد مطالعه بوده است و تاثیر آن بر ساختار DNA و بیان ژن ها مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۰،۲۵). چرخه و تقسیمات سلولی و بیان ژن های سلولی نیز می تواند تحت تاثیر کادمیوم قرار گیرد. طبق گزارش روبرت و جوانا (۲۵) کادمیوم بیان ژن cyclin B1 دخیل در چرخه سلولی را تحت تاثیر قرار داده و در غلظت های بالا (۱۱-۶ میکرومول) موجب کاهش بیان این ژن می شود اما تاثیری بر بیان ژن CDK-A ندارد (۲۵). بیان ژن cyclin B1 در پایان مرحله G2 تقسیم سلولی اتفاق می افتد (۱۱،۲۶). اما ژن CDK-A در طول کل چرخه سلولی در گیاهان بیان می شود (۲۳). در همه موجودات یوکاریوتی تقسیم سلولی توسط کمپلکس پروتئینی تنظیم می شود که از cyclin B1 و CDK-A تشکیل شده است (۱۶،۲۲). هدف از این مطالعه بررسی اثر کادمیوم بر بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A در نوک ریشه های گیاهچه ای گندم برای شناخت مکانیزم های مولکولی (در سطح بیان ژن) این اثر بر روی رشد می باشد.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

به منظور انجام آزمایش ابتدا بذور رقم کاسگوژن گندم از موسسه اصلاح بذر و نهال خراسان تهیه و با استفاده از هیپوکلرید سدیم ۵ ٪ ضد عفونی و بعد از سه بار شستشو با آب مقطر به محیط جوانه زنی انتقال داده شدند. تعداد زیادی از بذور (۲۵۰ عدد) برای جوانه زنی در هر تیمار استفاده شدند. محیط جوانه زنی ظروف پلاستیکی ۲۵×۲۰ سانتی متری بودند که با استفاده از کاغذ صافی واتمن کف آن ها پوشانده شده بود. بعد از انتقال بذور به این محیط، نمونه ها تحت تیمار غلظت های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر کلرید کادمیوم قرار گرفتند. ظروف حاوی بذور به اتاقک کشت با دمای ۲±۲۰ درجه سانتی گراد منتقل و هر ۲۴ ساعت یک بار محیط جوانه زنی آن ها کنترل گردید. پس از ۴ روز، اندازه گیری طول ریشه و کلئوپتیل با استفاده از خط کش انجام شد و انتهای ۴- ۳ میلی متری ریشه ها جهت استخراج RNA جدا شده و در داخل میکروتیوب های نیم میلی لیتری قرار داده شد. نمونه های مذکور پس از انجماد با نیتروژن مایع تا زمان استفاده به فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد انتقال داده شدند. این آزمایشات با سه بار تکرار و در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون LSD انجام گردید.

استخراج RNA و شرایط آزمایش RT-PCR

استخراج RNA کل از انتهای ۴-۳ میلی متری ریشه های فریز شده با استفاده از کیت استخراج RNA تاکارا (Takara- Japan) طبق پروتوکل شرکت سازنده انجام گرفت. در این روش ۱۰۰ میلی گرم از انتهای ریشه های فریز شده، با استفاده از نیتروژن مایع در داخل هاون چینی پودر گردید و به محلول استخراج RNA که در میکروتیوب های مخصوص شرکت سازنده ریخته شده بود انتقال داده شد. پس از استخراج لازم بود که آنالیزهای کمی و کیفی RNA استخراج شده صورت گیرد برای آنالیز کیفی از دستگاه نانودراپ (Thermo Scientific Nanodrop 2000 Spectrophotometry., U.S.A) و ژل آگارز استفاده شد. برای حذف آلودگی RNA از DNA ژنومی، مقدار ۲ میکروگرم RNA استخراج شده با آنزیم(DNAse I (Fermentas-Germany به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد تیمار شد و ماحصل آن برای سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور از کیت سنتز (Fermentas) cDNA و الیگومرهای ۱۵ نوکلئوتیدی dT (Fermentas) به عنوان پرایمر استفاده شد. سپس به منظور آنالیز کمی RNA استخراج شده از پرایمرهای ژن یوبیکوئیتین که همیشه در سلول بیان می شود (Housekeeping) استفاده گردید. پس از آن واکنش PCR با دو میکرولیتر از cDNA سنتز شده، ۵ پیکومول از پرایمر های اختصاصی مربوط به ژن های cyclin B1 و CDK-A (جدول ۱) و ۱/۵ واحد آنزیمی آنزیم *Pfu* (Fermentas) انجام شد. شرایط واکنش شامل واسرشتگی اولیه ۴ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد، سپس ۳۵ سیکل به ترتیب ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و در نهایت مرحله پایانی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۸ دقیقه انجام شد (Thermocycler-Biometra). برای کنترل مثبت از تکثیر نمونه های DNA ژنومی استفاده شد و برای کنترل منفی واکنش بدون RNA انجام گردید. شدت باندهای

www.SID.ir

Archive of SID

نمونه های DNA تکثیر شده با استفاده از نرم افزار Total lab اندازه گیری شد.

بررسی میزان بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A با رونوشت برداری معکوس(RT-PCR)

برای آنالیز سطوح بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A در غلظت های مختلف کادمیوم از پرایمرهای اختصاصی این ژن ها استفاده شد. پرایمرهای ژن CDK-A از مقاله روبرت و جوانا (۲۵) اقتباس گردید و پرایمرهای مربوط به ژن cyclin B1 از توالی نوکلئوتیدی این ژن در ذرت که با شماره T054983.1 در بانک ژن (NCBI) قابل دسترس بود با استفاده از نرم افزار پرایمر پریم (Primer prime 3) طراحی و توسط شرکت بایونیر (Bioneer) سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده به شرح زیر است:

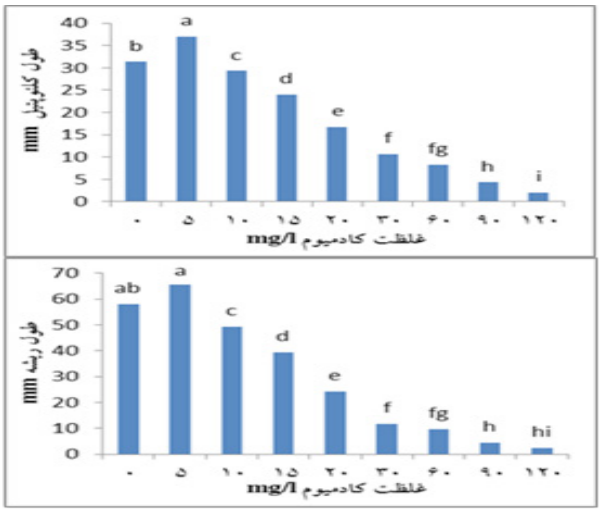
cyclin B1: 5'-CATAGCATAGGGTGAGATAG-3'
5'-ATCTTGCTGTGATCATCTAACACC-3'

CDK-A: 5'-GTTAGGCGAGCGAAGATAGG-3'
5'-GTGAGAAAAGTCGCCAATGG-3'

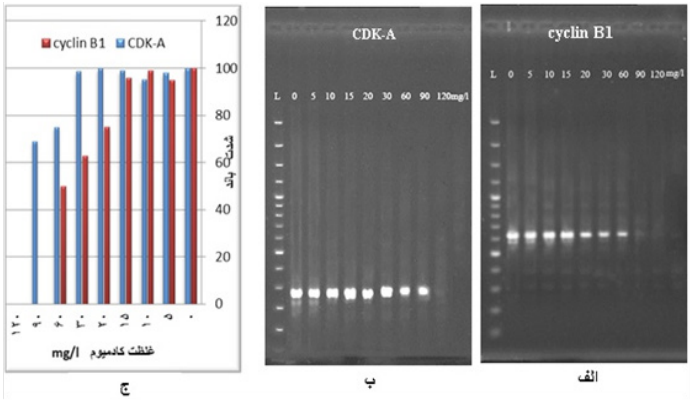
یافته ها

تاثیر غلظت های مختلف کادمیوم بر رشد ریشه گیاهچه های گندم

۴ روز پس از تیمار بذور گندم با غلظت های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵،۲۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم، طول ریشه گیاهچه های گندم اندازه گیری شد. در همه غلظت ها بجز غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر کادمیوم تاثیر کاهشی و محدود کنندگی بر روی رشد ریشه ها داشت و این اثر محدود کنندگی اثر منفی کادمیوم بر رشد کلئوپتیل گیاهچه های گندم با افزایش غلظت شدید تر شد. اما در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر مشابه با ریشه ها اثر افزایشی در کلئوپتیل ها مشاهده گردید (شکل ۱). با احتمال ۰/۰۵ درصد ($P < 0.05$) معنی دار بود. اما در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر کادمیوم اثری افزایشی بر رشد ریشه گیاهچه های گندم نشان داد. همچنین در غلظت های بالای ۳۰ میلی گرم بر لیتر، اثر سمیت علاوه بر کاهش رشد ریشه ها به شکل قهوه ای شدن بافت های انتهای ریشه ها مشاهده گردید.



شکل ۱- نمودارهای مقایسه میانگین طول کلئوپتیل و ریشه چه گیاهچه های گندم در غلظت های مختلف کادمیوم با نمونه شاهد. مقایسه میانگین ها با آزمون LSD انجام شد. ستون های دارای حرف مشترک اختلاف معنی داری ندارند ($P < 0.05$).



شکل۲- بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A در انتهای ۴-۳ میلی متری ریشه های گیاهچه ای گندم. شکل الف- باندهای حاصل از (RT-PCR) ژن cyclin B1 ، شکل ب- باندهای حاصل از (RT-PCR) ژن CDK-A را نشان می دهند. شدت باندها با استفاده از نرم افزار Total lab اندازه گیری و در نمودار ج- نمایش داده شده اند.

www.SID.ir

Archive of SID

سطوح بیان mRNA ژن های cyclin B1 و CDK-A

تاثیر کادمیوم بر میزان بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A با استفاده از رونوشت برداری معکوس (RT-PCR) از RNA حاصل از ریشه ها که ۴ روز پس از تیمار تحت غلظت های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر کلرید کادمیوم از انتهای سه میلی متری ریشه ها استخراج شده بود مورد آزمون قرار گرفت. رونوشت برداری معکوس (RT-PCR) از RNA استخراج شده از نوک ریشه چه های (نقاط مریستمی) رشد کرده در غلظت های مختلف کادمیوم با استفاده از پرایمرهای ژن های مربوطه با استفاده از تکثیر PCR و در مقایسه با نمونه های شاهد انجام گرفت. سطح بیان mRNA مربوط به ژن cyclin B1 در غلظت ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم بر لیتر نسبت به نمونه شاهد تغییری نداشت (شکل۲). اما میزان بیان آن در غلظت های ۲۰، ۳۰ و ۶۰ میلی گرم بر لیتر کاهش یافت و این کاهش با افزایش غلظت کادمیوم روند شدید تری پیدا نمود. در غلظت ۹۰ و۱۲۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم با وجود بدست آوردن RNA باندی از رونوشت برداری معکوس (RT-PCR) آن حاصل نشد. باند های حاصل از RT-PCR ژن CDK-A نشان می دهد که مقدار بیان این ژن در هیچ یک از تیمارهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ میلی گرم بر لیتر در مقایسه با نمونه شاهد تغییری نیافت، اما در غلظت های ۶۰ و ۹۰ میلی گرم بر لیتر کاهش یافت و در غلظت ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر از کادمیوم با وجود بدست آوردن RNA باندی از رونوشت برداری معکوس (RT-PCR) آن بدست نیامد (شکل ۲).

بحث

کادمیوم یکی از عناصر سنگین موجود در پوسته زمین است که جزء عناصر ضروری به حساب نمی آید و نه تنها برای فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه ضروری نیست حتی در مقادیر بسیار کم نیز برای گیاهان و جانوران سمی شناخته شده است (۳۰). این مطالعه نشان داد که کادمیوم در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر اثر افزایشی بر رشد ریشه چه و کلئوپتیل های گندم دارد، این اثر افزایشی توسط ژلین چی و همکاران نیز گزارش شده بود (۳۰) کاهش رشد یکی از اولین اثرات کادمیوم بر گیاهان است، اختلال در رشد می تواند به دلایلی مانند کاهش آب یاخته و کشسانی دیواره یاخته (۹)، اختلال در تعادل آبی گیاه به دلیل کاهش اندازه و تعداد آوند های چوبی، کاهش جذب عناصر غذایی ضروری مانند Ca^{+2}، Mg^{+2}، Fe^{+2} و K^{+} (۱۳) ایجاد شود. همچنین کاهش تولید بیومس می تواند به دلیل اختلال در فرآیندهای فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن (۶،۸،۱۴) در اثر غلظت های سمی کادمیوم رخ داده باشد. به نظر می رسد غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر کادمیوم اثر تحریک کننده بر روی رشد ریشه و کلئوپتیل گندم دارد. ژن های cyclin B1 و CDK-A به عنوان ژن های دخیل در چرخه سلولی شناخته شده اند که موجب رشد در نقاط مریستمی می شوند. از این رو کاهش یا افزایش در بیان این ژن ها می تواند منجر به تغییر در میزان رشد گردد. بنابراین تاثیر یک عامل غیر زیستی در کاهش رشد می تواند نتیجه اثر آن عامل بر بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A و یا سایر ژن های دخیل در رشد باشد (۲۵). امروزه به خوبی روشن شده است که کادمیوم می تواند از نظر کارکردی جایگزین روی گردد (۲۸). روی (Zn^{+2}) یک عنصر ضروری است که شرایط اتصال فاکتورهای رونویسی را بر روی نقاط تنظیمی ژن های مختلف فراهم می آورد (۲۷). این یون جزئی از ساختار آنزیم هایی است که در همانند سازی و ترجمه شرکت می کنند (۲۱). اثر تحریک کنندگی کادمیوم بر رشد در غلظت های پایین (۵ میلی گرم بر لیتر) ممکن است به رقابت بین روی (Zn^{+2}) و کادمیوم برای اتصال به سایت های سلولی مشابهی مرتبط باشد که با کادمیوم میل اتصال بالاتری دارند (۱۵). در بررسی کشت سوسپانسیونی توتون غلظت هایی از کادمیوم که اثر تحریک کنندگی بر رشد داشتند، منجر به افزایش مقدار RNA و سنتز پروتئین شده است و این در حالی بود که میزان سنتز DNA تغییری نداشت (۱۵). از طرف دیگر در سلول های جانوری غلظت تحریک کننده تقسیم سلولی (۱۰۰پیکومول بر لیتر کادمیوم) موجبات افزایش سنتز DNA را فراهم آورده است (۳۰). تمرکز اصلی در مطالعه حاضر فقط بر روی بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A بوده است. افزایش در رشد در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر کادمیوم تغییری در سطوح بیان هیچیک از دو ژن مورد مطالعه نشان نداد. نتیجه این پژوهش گویای این مطلب است که عوامل دیگری غیر از بیان این دو ژن می تواند بر افزایش رشد تاثیر داشته باشد. گزارشات حاکی

www.SID.ir

Archive of SID

از آن است که افزایش رشد در تیمار با غلظت های کم عناصر سنگین، می تواند به دلیل هایپرپولاریزه کردن غشاهای سلولی که منبع انرژی برای جذب کاتیون ها را افزایش می دهد و یا به دلیل افزایش فعالیت آنزیم هایی مانند پروتئازهای یاخته ای باشد (۱۲،۱۷،۱۸،۱۹). کاهش رشد ریشه ها در غلظت های بالاتر از ۵ میلی گرم بر لیتر با افزایش غلظت بیشتر مشهود گردید. این اثر کاهشی می تواند به دلیل تداخل کادمیوم با مکانیزم های تقسیم سلولی باشد (۲). در ریشه گیاه زینتی lupine تجمع سرب منجر به کاهش شاخص های میتوزی گردید که این امر با کاهش میزان پروتئین cyclin همراه بود (۱۰،۲۴). بیان ژن cyclin B1 در پایان مرحله G2 تقسیم سلولی اتفاق می افتد (۱۱،۲۶). اما ژن CDK-A در طول کل چرخه سلولی در گیاهان بیان می شود (۲۳). در تمام موجودات یوکاریوتی تقسیم سلولی توسط کمپلکس پروتئینی تنظیم می شود که از محصول دو ژن cyclin B1 و CDK-A تشکیل شده است (۲۲،۱۶). بنابراین محدود شدن بیان هر کدام از این ژن ها باید موجب محدود شدن تقسیم سلولی و رشد گردد. همان طور که در این تحقیق مشاهده گردید میزان بیان ژن cyclin B1 در غلظت بالاتر از ۱۵میلی گرم بر لیتر که محدودیت رشد را به دنبال داشت، کاهش یافت، در حالی که سطح بیان CDK-A تنها در غلظت های ۶۰ ، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر تحت تاثیر کادمیوم قرار گرفت. با توجه به این که در برخی از تیمارهای با غلظت کم کادمیوم، با وجود تحت تاثیر قرار گرفتن شاخص های رشدی بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A تغییری نکرده بود، می توان نتیجه گرفت که پاسخ متفاوت شاخص های رشدی (افزایش و کاهش رشد) به غلظت های بالا و پایین کادمیوم می تواند به عوامل ناشناخته دیگری غیر از سطوح بیان ژن های cyclin B1 و CDK-A وابسته باشد.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه کارشناس آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد سرکار خانم بوستانی تشکر و قدردانی می شود.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

(۱) حقیقی م، کافی م، تقوی ت، کاشی ع و ثواقبی غ. .تغییرات فعالیت فتوسنتزی و آنزیمی کاهو تحت تاثیر سمیت کادمیم. مجله علوم باغبانی و صنایع کشاورزی .۱۳۷۸، جلد ۲۲، شماره ۲: ۳۷-۲۵.

(۲) سلطانی ف، قربانلی م، و کلانتری خ. اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه های فتوسنتزی ، قندها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) مجله زیست شناسی ایران. ۱۳۸۵. ، جلد ۱۹، شماره ۲: ۱۴۵-۱۳۶.

(3) Andon V, Ivan Y. Reductive Analysis of Factors Limiting Growth of Cadmium-Treated: A Review. Plant Physiol, 1997; 23: 114133-.

(4) Anna F, Cristina G, Wanda C. Effects of Cadmium on Root Apical Meristems of *Pisum Sativum* L.: Cell Viability, Cell Proliferation and Microtubule Pattern as Suitable Markers for Assessment of Stress Pollution. Mutat Res, 2007; 632-919.

(5) Baker A, Brooks RR. Terrestrial Higher Plants Which Hyperaccumulate Metallic Elements. A Review of Their Distribution, Ecology and Phytochemistry. Biorecovery, 19891; 11: 81-126.

(6) Balestrasse KB, Gardey L, Gallego SM, Tomaro L. Response of Antioxidant Defence System in Soybean Nodules and Roots Subjected to Cadmium Stress. Plant Physiol, 2001; 28: 497-504.

(7) Bisova K, Hendrychova J, Cepak V, Zachleder V. Cell Growth and Division Processes Are Differentially Sensitive to Cadmium in *Scenedesmus Quadricauda*. Folia Microbiol, 2003; 48: 805-816.

(8) Chaffei C, Gouia H, Ghorbel M. Nitrogen Metabolism in Tomato Plants Under Cadmium Stress. J Plant Nutr, 2003; 26: 1617-1634.

(9) Costa G, Spitz E. Influence of Cadmium on Soluble Carbohydrates, Free Amino Acids, Protein Content of In vitro Cultured *Lupinus Albus*. Plant Sci, 1997; 128: 131-140.

(10) Deckert J, Gwozdz EA. The Effect of Lead on Cyclin Expression in Lupine Roots. Plant Physiol, 1999; 21: 249–256.

(11) Fobert PR, Coen ES, Murphy P, Doonan H. Patterns of Cell Division Revealed by Transcriptional Regulation of Genes During The Cell Cycle in Plants. EMBO J, 1994; 13: 616-624.

(12) Golldack D, Dietz V, Jin K. Expression of Subtilisin-Like Serin Proteases in *Arabidopsis Thaliana* is Cell-Specific and Responds to Jasmonic Acid and Heavy Metals With Developmental Differences. Physiol Plantarum, 2003; 118: 64-73.

(13) Gussarsson M, Asp H, Adalsteinsson S, Jensen P. Enhancement of Cadmium Effects on Growth and Nutrient Composition of Bireh (*Betula Pendula*) by Buthionine Sulphoximine (BSO). Botany, 1996; 47: 211-215.

(14) Haag-kever A, Schafer HJ, Heiss S, Walter C, Rausch T. Cadmium Expose in *Brassica Juncea* Cause a Decline in Transpiration Rate and Leaf Expansion Without Effect on Photosynthesis. J Exp Bot, 1999; 50: 1827-1835.

(15) Hirt H, Georg C, Barta A. Cadmium-Enhanced Gene Expression in Suspension-Culture Cells of Tobacco. Planta, 1989; 179: 414–420.

(16) Huntley R, Murray H. The Plant Cell Cycle. Plant Biol. 1999; 2: 440-446.

(17) Kennedy CD, Gonsalves FAN. The Action of Divalent Zinc, Cadmium, Mercury, Copper and Lead on The Transroot Potential and H+ Efflux of Excised Roots. Botany, 1987; 38: 800-817.

(18) Khadije B, Bahman K, Ali M. Effect of Cadmium on Growth, Protein Content and Peroxidase Activity in PEA Plants. Botany, 2011; 43: 1467-1470.

(19) Kinraide TB, Ryan PR, Kochian LV. Interactive Effects of Al3+, H+ and Other Cations on Root Elongation Considered in Terms of Cell-Surface Electrical Potential. Plant Physiol, 1992; 99: 1461-1468.

(20) Liu D, Jianl W, Gao X. Effect of Cadmium or Root Growth, Cell Division and Nucleoli in Root Tip Cells of Garlic. Biol Planta, 2003; 47: 79-83.

(21) Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants. Planta, 1997; 32: 313-404.

(22) Meijer M, Murray H. Cell Cycle Controls and The Development of Plant Form. Plant Biol, 2001; 4: 44.49-

(23) Mironov V, Velder D, Montagu M, Inze D. Cyclindependent Kinases and Cell Division in Plants–The Nexus. Plant Cell Rep, 1999; 11: 509-521.

(24) Przymusi R, Wony A. The Reaction of Lupin Roots on The Presence of Lead in The Medium. Biochemistry, 1985; 180: 309-318.

www.SID.ir

Archive of SID
(25) Robert S, Joanna D. Cadmium-Induced Changes in Growth and Cell Cycle Gene Expression in Suspension-Culture Cells of Soybean. Plant Physiol Biochem, 2003; 41: 767-4872.

(26) Shaul O, Mironov V, Burssens S, Montagu M. Two Arabidopsis Cyclin Promoters Mediate Distinctive Transcriptional Oscillation in Synchronized BY-2 Cells. Science, 1996; 93: 4868-4872.

(27) 26) Sluyser M, Gert AB, Brinkman AO, Blankenstein RA. Zincfinger Proteins in Oncogenesis. DNA-Binding and Gene Regulation. Science, 1993; 684: 1-3.

(28) Waalkes MP. Cadmium Carcinogenesis in Review. J Inorg Biochem, 2000; 79: 241-244.

(29) Yasar K, Ahmet S. The Effect of Cadmium on Seed Germination, Root Development and Mitotic of Root Tip Cells of Lentil (*Lens cculinaris medik*). J Agr Sci, 2006; 2: 196-200.

(30) Zglinicki TV, Edwall C, Ostlund E, Lind B, Nordberg M, Ringertz N, Wroblewski J, Very Low Cadmium Concentration Stimulate DNA Synthesis and Cell Growth. J Cell Sci, 1992; 103: 1073-1081.

www.SID.ir