زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال هشتم، شماره بیست و هفتم، بهار ۱۳۹۵، صفحه ۱-۱۶
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۰۴
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۰۴/۰۷
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۱۰/۱۹
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰

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

عزت‌اله اسفندیاری * و نادر رستمی
گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

چکیده

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

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

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

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

مقدمه

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

کادمیوم عنصری غیرضروری برای گیاهان است و هیچ‌گونه عملکرد زیستی شناخته شده‌ای ندارد (Balsberg, 1989؛ Soltani *et al.*, 2006)، اما به علت تحرک بالای این عنصر در خاک، در صورت حضور در محیط ریشه، به راحتی توسط گیاه جذب و به اندام‌های هوایی آن انتقال می‌یابد (Lozano-Rodriguez *et al.*, 1997). تجمع این عنصر در گیاه سبب تغییرات مورفولوژیک مانند پیچش برگی، کلروزه و نکروزه شدن برگ ها، قرمز و قهوه‌ای شدن حاشیه برگ‌ها، کاهش سطح برگ، کاهش وزن خشک کل، قهوه‌ای شدن ریشه و کاهش رشد گیاه می‌گردد (Oloumi and Manouchehri-Kalantari, 2003). همچنین، این عنصر سبب تغییراتی در فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه می شود که می‌توان به واکنش با گروه سولفیدریل موجود در ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌ها (Oloumi and Manouchehri-Kalantari, 2003)، تأثیر منفی بر روابط آبی گیاه و تبادلات گازی روزنه (Goncalvez *et al.*, 2007؛ Saremi Rad *et al.*, 2014) و فرآیندهای تنفس و فتوسنتز اشاره کرد. در پی تأثیرات منفی کادمیوم بر فرآیندهای درون سلولی، تولید انواع اکسیژن فعال (رادیکال سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن منفرد) در سلول‌های گیاهی افزایش می‌یابد (Ammar *et al.*, 2008). انواع اکسیژن فعال، میل ترکیبی بسیار بالایی برای واکنش با مولکول‌های زیستی مهم سلول نظیر: لیپیدها، پروتئین ها و نوکلئیک اسیدها دارند. عواقب این پدیده به ترتیب: پراکسیداسیون لیپیدی، واسرشته شدن پروتئین‌ها و جهش در ساختار DNA است (Smeets *et al.*, 2005؛ Esfandiari and Vahdati Rad, 2012؛ Esfandiari and Javadi, 2014). مولکول‌های زیستی یاد شده نقش‌های کلیدی و مهمی را در سلول‌ها ایفا می‌نمایند. برای مثال، لیپیدها در تشکیل ساختار غشاها، به‌عنوان یکی از نقاط کلیدی تنظیم متابولیسم، شرکت می‌کنند (Esfandiari and Mahboob, 2014a؛ Saremi Rad *et al.*, 2014). در اثر اکسیداسیون لیپیدهای غشایی، ضمن بروز اختلال در نفوذپذیری انتخابی غشاها، متابولیت سمّی 4-hydroxynonenal تولید می‌گردد (Schneider *et al.*, 2008). این متابولیت حتی در مقادیر اندک (حدود ۱۰ تا ۲۰ میکرومولار) برای سلول سمّی است و سبب فعال شدن یکسری مسیرهای متابولیسمی مخرب دیگر می‌شود (Schneider *et al.*, 2008). از جمله آنها می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم اندونوکلئاز و رهاسازی آنزیم

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

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

همان طور که اشاره شد تجمع کادمیوم در خاک های زراعی بیش از سایر عناصر سنگین است (Merrikhpour, 2015) که مصرف بی‌رویه کودهای فسفاته و عدم خلوص آنها از مهم ترین دلایل انباشته شدن این عنصر به شمار می آید. میزان بالای کادمیوم در خاک‌های زراعی می‌تواند همانند دیگر تنش‌های محیطی، رشد و نمو و در نهایت عملکرد گندم را کاهش داده، امنیت غذایی انسان را از نظر کمّی و کیفی به خطر اندازد. با توجه به اهمیت گندم در تغذیه انسان، آگاهی از الگوی جذب و توزیع کادمیوم در اندام‌های مختلف ژنوتیپ های این گیاه و تأثیر مقادیر بالای عنصر یاد شده بر رشد و نمو ضروری به‌نظر می‌رسد. بر این اساس، شش رقم گندم نان با روش آیروپونیک کشت و الگوی جذب و توزیع کادمیوم و رشد و نمو گیاهچه های گندم در پاسخ به غلظت بالای کادمیوم بررسی شد.

مواد و روش‌ها

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

ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۶۵ درصد و شدت نور ۶۰۰۰ لوکس پرورش یافتند (Esfandiari *et al*., 2011). لازم به ذکر است که در روش هواکشت در طول دوره رشد گیاهچه‌ها آب و محلول غذایی به طور خودکار در هر ۱۵ دقیقه، پنج ثانیه بر روی ریشه‌ها مه‌پاشی شده و ریشه‌ها در محیط کاملاً اشباع از رطوبت در هوا معلق بود. در سیستم هواکشت در مقایسه با روش آب‌کشت، محلول غذایی کمتری نیاز است.

گیاهچه‌های گندم تا هفت روز پس از جوانه‌زنی تنها با مه‌پاشی آب، تا ۱۴ روز پس از جوانه زنی با محلول غذایی ۵۰ درصد و پس از زمان یاد شده با محلول غذایی کامل تغذیه شدند. ترکیب عناصر غذایی مورد استفاده در طول دوره رشد، بر اساس مقادیر به دست آمده در پژوهش Esfandiari و همکاران (۲۰۱۱) انجام گرفت. پس از رسیدن گیاهچه‌های گندم به مرحله ۴ تا ۵ برگی، کلرید کادمیوم ۲۰۰ میکرومولار به محلول غذایی افزوده شد. همچنین، از محلول غذایی (بدون کلرید کادمیوم) به عنوان شاهد استفاده شد. گیاهچه‌ها به مدت ۱۴ روز در این شرایط نگهداری شد، سپس از برگ های بالغ و کاملاً توسعه یافته که پس از اعمال تیمار کادمیوم رشد یافته بودند، برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن و شاخص‌های بروز تنش اکسیداتیو، نمونه برگی تهیه و بلافاصله در نیتروژن مایع غوطه‌ور شد. نمونه‌های برداشت شده تا زمان اندازه‌گیری شاخص های مورد نظر (به شکل بافت گیاهی و بدون استخراج عصاره آنزیمی) در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. همچنین، برای اندازه گیری کادمیوم در برگ و ریشه گیاهچه‌های گندم، تعدادی از برگ های بالغ و کاملاً توسعه یافته به‌همراه ریشه آنها برداشت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد. لازم به ذکر است که ریشه‌های گیاهچه‌ها پیش از خشک شدن چندین بار با آب دیونیزه شستشو داده شد تا کادمیوم احتمالی موجود روی ریشه ها حذف شده، در نتیجه نهایی تأثیر منفی نداشته باشد.

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

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

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

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

کاتالاز: برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، کمپلکس واکنشی حاوی: ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته=۷)، ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱/۲۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی است که حجم نمونه‌ها با افزودن آب مقطر به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. تغییرات در جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از ضریب خاموشی ۳۶/۶ cm^{-1} $mmol^{-1}$ محاسبه شد (Aebi, 1984).

آسکوربات پراکسیداز: کمپلکس واکنشی حاوی: ۲۵۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۱ میلی‌مولار، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۴ میلی‌مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج شده بود. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی ۲/۸ cm^{-1} $mmol^{-1}$ محاسبه شد (Sairam *et al.*, 2002).

گایاکول پراکسیداز: کمپلکس واکنشی حاوی: ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده‌است. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی ۲۶/۶ cm^{-1} $mmol^{-1}$ محاسبه شد (Panda *et al.*, 2003).

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

(*et al.*, 1981). کمپلکس واکنشی حاوی: ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته=۷/۴)، ۴۵۰ میکرولیتر گلوتاتیون احیا شده ۳/۵ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر ۱-کلرو ۲ و ۴- دی نیترو بنزن ۳۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی cm^{-1} $mmol^{-1}$ ۰/۰۰۹۶ محاسبه شد (Carmagnol *et al.*, 1981).

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

اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی و پراکسید هیدروژن: میزان پراکسیداسیون لیپیدی بر اساس روش Stewart و Bewley (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. در حدود ۰/۵ گرم از برگ‌های گندم در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید همگن و به مدت ۱۰ دقیقه با نیروی ۱۵۰۰۰g (مدل ROTANTA460/460R، Hettich، آلمان) سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از روشناور حاصل با ۴ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ درصد تری‌کلرواستیک اسید محتوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل گردید. نمونه‌ها دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با نیروی ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ (مدل ROTANTA460/460R، شرکت Hettich، آلمان) شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد. میزان پراکسید شدن لیپیدها با استفاده از اختلاف بین طول موج‌های جذبی و ضریب خاموشی cm^{-1} $mmol^{-1}$ ۱۵۵ به دست آمد.

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

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

نتایج و بحث

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

مطالعه گندم در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت و به‌ترتیب به: ۹۴/۰۲، ۸۵/۷۱، ۹۱/۶۶ و ۹۰/۳۲ درصد شاهد رسید (جدول ۱).

رشد ریشه و افزایش طول آن نتیجه تقسیم سلولی و رشد سلول های حاصل در ناحیه مریستمی بود و هر گونه کاهش در تقسیم سلولی، تمایز زود هنگام سلول‌های حاصل و چوبی شدن سریع دیواره سلولی به کاهش طول ریشه منجر می گردد. کادمیوم از جمله عناصری است که بر ناحیه مریستمی اثر منفی داشته، با کاهش تقسیم سلولی و سریع تر نمودن تمایز سلولی و چوبی نمودن زود هنگام دیواره سلولی سلول های جدید، سبب کاهش رشد ریشه می گردد (Popova *et al*., 2008). کاهش طول ریشه در اثر کادمیوم توسط Oloumi و Manouchehri-Kalantari (۲۰۰۳)، Zheng و همکاران (۲۰۱۰)، Amooaghaie و همکاران (۲۰۱۲)، Saremi Rad و همکاران (۲۰۱۴) نیز گزارش شده است که آنها دلیل آن را ناشی از تجمع کادمیوم در ریشه عنوان نموده‌اند.

وزن خشک بخش‌های مختلف گیاهچه‌های گندم حاصل تثبیت و احیای دی‌اکسید کربن به کربوهیدرات طی فرآیند فتوسنتز و تبدیل کربوهیدرات حاصل به سایر مولکول های زیستی سازنده ساختار گیاه است (Esfandiari and Mahboob, 2014b). بنابراین، هر عاملی که بتواند بر فرآیند فتوسنتز و بیوسنتز مولکول‌های زیستی دیگر تأثیر گذارد، به کاهش رشد و نمو و تولید ماده خشک منجر می گردد. کادمیوم عنصری است که در صورت تجمع در برگ سبب بسته شدن روزنه‌ها و در نهایت کاهش هدایت روزنه‌ای می‌شود (Popova *et al*., 2008؛ Krantev *et al*., 2008؛ Wahid *et al*., 2008؛ Saremi Rad *et al*., 2014). کاهش هدایت روزنه‌ای، میزان دسترسی سلول‌های فتوسنتز کننده به دی‌اکسید کربن را کاهش می‌دهد که برآیند آن عدم تأمین متابولیت‌های مورد نیاز برای رشد سلول‌های گیاهی است. به‌علاوه، مقادیر بالای کادمیوم با ایجاد اختلال در فرآیند تنفس (Saremi Rad *et al*., 2014)، تولید انرژی و اسکلت کربنی لازم برای تولید سایر مولکول‌های زیستی سلول را کاهش می‌دهد. همچنین، این عنصر مانع تثبیت و احیای نیتروژن در سلول‌های گیاه می گردد که در اثر آن تبدیل اسیدهای α-کتونی به آمینو اسیدها با محدودیت مواجه می‌شود (Esfandiari and Mahboob, 2014b). بنابراین، کادمیوم با ایجاد اختلال در اجرای فرآیندهای فوق مانع تأمین کافی و به موقع مولکول‌های زیستی سلول می‌شود که برآیند آن کاهش وزن خشک بخش های مختلف گیاهچه است. علاوه بر موارد یاد شده، کادمیوم با ایجاد اختلالات تغذیه‌ای و برهم زدن تعادل آبی گیاه کاهش وزن خشک را سبب می گردد (Soltani *et al*., 2006). در این راستا، Yang و همکاران (۱۹۹۶) کاهش جذب کلسیم را در اثر افزایش میزان کادمیوم در محیط گزارش کرده‌اند که با توجه به نقش‌های فیزیولوژیک کلسیم در سلول های گیاهی، کاهش جذب این عنصر می‌تواند به کاهش رشد گیاه و تولید ماده خشک منجر شود. از سوی دیگر، کادمیوم سبب یکسری تغییرات در ساختار اندامک‌های داخل سلول می‌شود. Minoui و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای بر روی گیاه *Chlorophytum comosum* گزارش کردند که تعداد کلروپلاست و تیلاکوئیدهای موجود در گیاه، در مقادیر ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم، در مقایسه با شاهد کاهش یافته است.

در حالی که ساختار بقیه اندامک‌ها تغییر چندانی نداشته است. اما در مقادیر بالاتر از این میزان، ساختار اندامک‌ها غیرطبیعی شده و تغییر نشان می‌دهند که می‌تواند از دلایل کاهش تولید ماده خشک در مقادیر بالای کادمیوم به‌شمار آید. کاهش وزن خشک ریشه (Gong *et al*., 2003؛ Ghaderin and Jamali Hajiani, 2010) و وزن خشک کل توسط برخی از محققان (Yang *et al*., 1996؛ Oloumi and Manouchehri-Kalantari, 2003؛ Hafezi *et al*., 2009) در مقادیر بالای کادمیوم گزارش شده است.

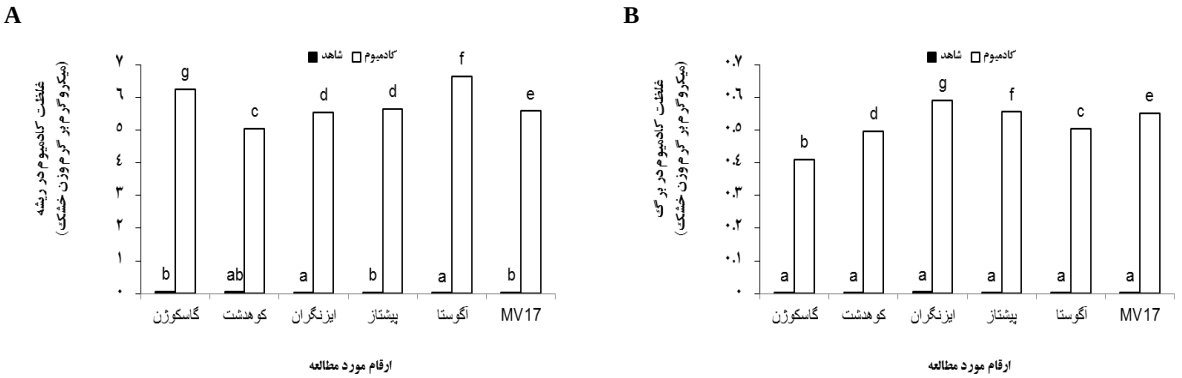
جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر طول ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی و وزن خشک کل گیاهچه‌های گندم. مقادیر، میانگین ۵ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P>۰/۰۵ است.

	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم)	وزن خشک اندام‌های هوایی (میلی‌گرم)	وزن خشک کل گیاهچه (میلی‌گرم)
شاهد (صفر میکرومولار کادمیوم)	۴۵/۰۴a	۱۴a	۴۸a	۶۲a
تیمار (۲۰۰ میکرومولار کادمیوم)	۴۲/۳۵b	۱۲b	۴۴b	۵۶b

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

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

با اندام‌های هوایی نیز توسط Kalantari و Oloumi (۲۰۰۵) و El-Beltaghi و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده‌است. در مطالعه حاضر، بین ۵/۵۶ تا ۱۰/۶۷ درصد کادمیوم تجمع یافته در ریشه به برگ ها انتقال یافت که کمترین و بیشترین مقدار به‌ترتیب به ارقام گاسکوژن و ایزنگران تعلق داشت. اگرچه میزان این عنصر در برگ به مراتب کمتر از کادمیوم انباشته شده در ریشه بود، اما با توجه به افزایش معنی‌دار این عنصر در برگ در مقایسه با شاهد (در حدود ۱۱۸ تا ۵۵۵ برابر شاهد به ترتیب در ارقام ایزنگران و پیشتاز)، می‌توان گفت که سازوکارهای مورد استفاده در ریشه گیاهچه های ارقام گندم برای ممانعت از انتقال کادمیوم به اندام های فوقانی مؤثر نبوده است. افزایش و تجمع کادمیوم در تمام بخش‌های گیاهان مورد مطالعه از جمله برگ ها با زیادتر شدن میزان این عنصر در محیط ریشه توسط Lozano-Rodriguez و همکاران (۱۹۹۷)، Liu و همکاران (۲۰۰۶)، Izadiyar و Yargholi (۲۰۱۰) و Saremi Rad و همکاران (۲۰۱۴) گزارش شده‌است.



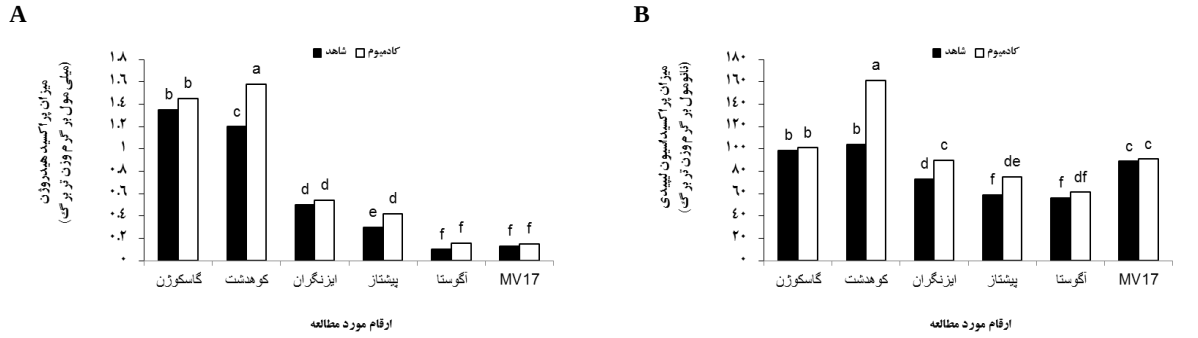
شکل ۱- A) میزان کادمیوم تجمع یافته در ریشه و B) برگ گیاهچه های ارقام گندم مورد مطالعه. مقادیر، میانگین ۵ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P>۰/۰۵ است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با وجود کادمیوم در محیط، میزان پراکسید هیدروژن، به عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات سمّی آسیب‌رسان به مولکول‌های زیستی مهم، تنها در سلول‌های برگ ارقام کوهدشت و پیشتاز به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل ۲-A) و به ترتیب به ۱۳۱/۶۷ و ۱۴۰ درصد شاهد رسید. همچنین، در پی افزودن کادمیوم به محیط، پراکسیداسیون لیپیدی تنها در برگ ارقام کوهدشت، ایزنگران و پیشتاز افزایش یافت و به‌ترتیب به ۱۵۴/۸، ۱۲۲/۶۸ و۱۲۷/۵۷ درصد شاهد رسید. اما در سایر ارقام مورد مطالعه تغییرات این شاخص در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۲-B).

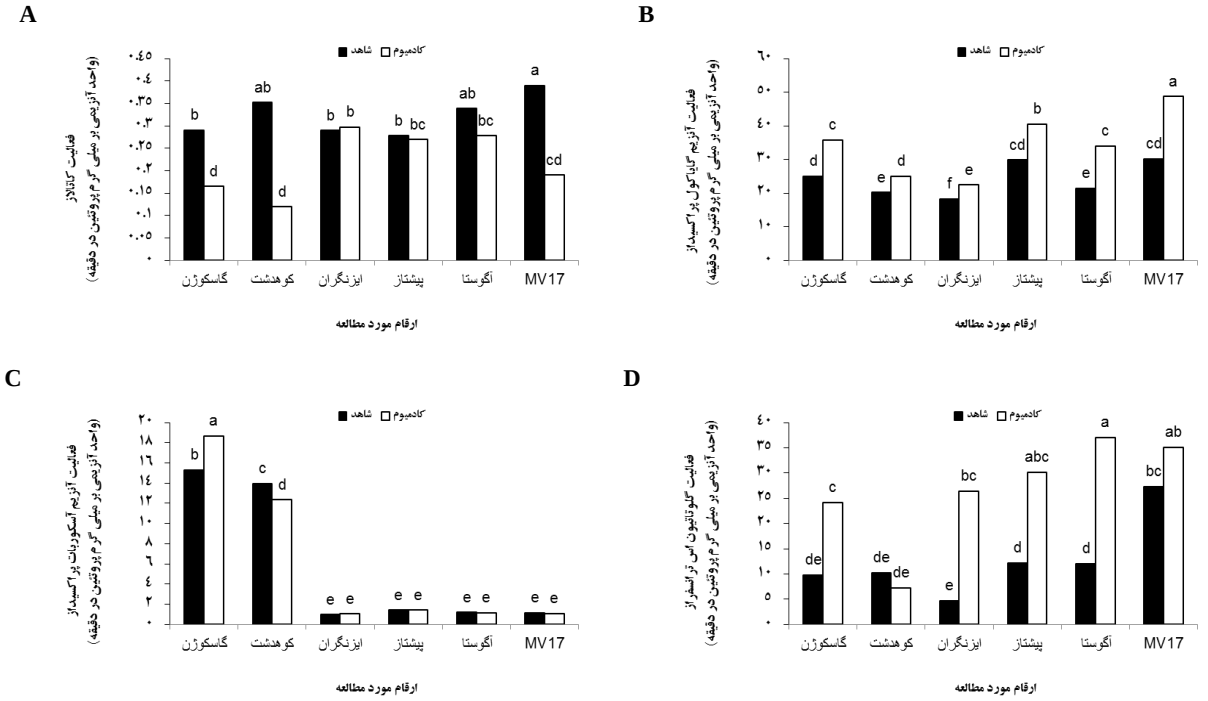
در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز به‌عنوان مهم‌ترین آنزیم‌های دخیل در جمع‌آوری پراکسید هیدروژن ارزیابی شد. نتایج نشان داد که در پی حضور کادمیوم در محیط، فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ ارقام گاسکوژن، کوهدشت و MV17 به طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد کاهش یافت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

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

با توجه به کاهش وزن خشک ریشه، اندام های هوایی و کل گیاهچه های گندم در اثر حضور کادمیوم (جدول ۱) و تجمع این عنصر در ریشه و برگ ارقام مورد مطالعه (شکل ۱) به‌همراه تأثیر منفی کادمیوم بر فرآیندهای حیاتی گیاه نظیر: عدم مصرف محصولات نوری فتوسنتز در چرخه کالوین در پی کاهش هدایت روزنه‌ای (Saremi Rad *et al*., 2014) انتظار می‌رفت که تولید انواع اکسیژن فعال در سلول های برگ روند صعودی داشته باشد و در تمامی ارقام مورد مطالعه میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی در مقایسه با شاهد افزایش یابد و تنش اکسیداتیو اتفاق بیافتد. افزایش تولید انواع اکسیژن فعال و بروز تنش اکسیداتیو در مقادیر بالای کادمیوم نیز توسط محققان متعدد (Oloumi and Manouchehri-Kalantari, 2003؛ Cho and Seo, 2005؛ Kalantari and Oloumi, 2005؛ Unyayar *et al*., 2006؛ Martins *et al*., 2011؛ Shan *et al*., 2012) گزارش شده است. در پژوهش حاضر، کاهش تولید ماده خشک در حضور کادمیوم نشان دهنده افت فعالیت چرخه کالوین یا سایر مسیرهای متابولیسمی است که کربوهیدرات‌های حاصل از چرخه کالوین را به سایر مولکول های زیستی تبدیل می‌نمایند، که می‌توان کاهش ماده خشک را بیانگر حساسیت این ارقام گندم به دوز کادمیوم مورد مطالعه دانست. با کاهش فعالیت چرخه کالوین، به دلیل بسته شدن زنجیر انتقال الکترون کلروپلاستی، تولید انواع اکسیژن فعال در کلروپلاست افزایش می‌یابد (Edreva, 2005). در حالی که بر خلاف انتظار، نتایج نشان داد که در اثر حضور کادمیوم در محیط، میزان پراکسید هیدروژن، به‌عنوان یکی از انواع اکسیژن فعال و از مهم‌ترین ترکیبات سمّی آسیب‌رسان به مولکول‌های زیستی مهم، تنها در سلول های برگ ارقام کوهدشت و پیشتاز (شکل ۲-A) و میزان پراکسیداسیون لیپیدی پس از افزودن کادمیوم به محیط تنها در برگ ارقام کوهدشت، ایزنگران و پیشتاز به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل ۲-B). با توجه به نتایج پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان شاخص ارزیابی وقوع تنش اکسیداتیو، می‌توان ارقام را بر اساس این شاخص، به دو بخش عدم افزایش (گاسکوژن، آگوستا و MV17) و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی (کوهدشت، ایزنگران و پیشتاز) تقسیم نمود.



شکل ۲- A) اثر کادمیوم بر میزان پراکسید هیدروژن و B) پراکسیداسیون لیپیدی در برگ گیاهچه های ارقام گندم مورد مطالعه. مقادیر، میانگین ۵ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P>۰/۰۵ است.



شکل ۳- A) اثر کادمیوم بر فعالیت آنزیم های کاتالاز، B) گایاکول پراکسیداز، C) آسکوربات پراکسیداز و D) گلوتاتیون S-ترانسفراز در برگ گیاهچه‌های ارقام گندم مورد مطالعه. مادیر، میانگین ۵ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P>۰/۰۵ است.

در رقم کوهدشت کاهش فعالیت آنزیم های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز (شکل ۳-A و C) در حضور کادمیوم، می‌تواند از دلایل افزایش تولید پراکسید هیدروژن (شکل ۱-A)، به شمار آید. اگرچه در این رقم فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به طور معنی‌داری افزایش یافت، اما نتوانست کاهش سایر آنزیم‌های جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن را جبران نماید (شکل ۳-B). علاوه بر این، در بین ارقام مورد مطالعه بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدی در رقم کوهدشت اتفاق افتاد که می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت

آنزیم های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون S-ترانسفراز (شکل ۳-D) و تجمع پراکسید هیدروژن باشد (شکل ۲-A). در ارقام ایزنگران و پیشتاز اگرچه در حضور کادمیوم میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش یافته است (شکل ۳-B)، اما فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تغییر معنی‌داری نشان نداد (شکل ۳-A و C). همچنین، اگرچه در ارقام ایزنگران و پیشتاز فعالیت آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز در حضور کادمیوم در مقایسه با شاهد افزایش داشت (شکل ۳-D) اما، در بین ارقام مورد مطالعه بیشترین تجمع کادمیوم در این ارقام مشاهده شد (شکل ۱). عدم افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (شکل ۳-A) و کافی نبودن افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون S- ترانسفراز (شکل ۳-D) می تواند از دلایل افزایش پراکسیداسیون لیپیدی (شکل ۲- B) به‌شمار آید. زیرا آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه های گلوتاتیون-آسکوربات و مهلر به عنوان آنزیم نهایی نقش مهمی در جمع‌آوری پراکسید هیدروژن برعهده دارد (Mittler, 2002؛ Edreva, 2005). لازم به ذکر است که بر خلاف چرخه مهلر که تنها در کلروپلاست اجرا می گردد، چرخه گلوتاتیون-آسکوربات در اندامک‌های دیگر مانند میتوکندری و سیتوسول اجرا می‌شود (Edreva, 2005). افزایش فعالیت چرخه‌های یاد شده می تواند از تجمع پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نماید (Edreva, 2005). همچنین، آنزیم گلوتاتیون S- ترانسفراز قادر است کادمیوم و متابولیت سمّی 4-Hydroxynonenal را به داخل واکوئول منتقل نموده و سمّیت آن را به حداقل برساند (Schneider *et al.*, 2008) در نتیجه، تأثیر منفی آنها بر نقاط کلیدی متابولیسم به کمترین مقدار خواهد رسید. Cho و Seo (۲۰۰۵)، Unyayar و همکاران (۲۰۰۶) و Shan و همکاران (۲۰۱۲) معتقدند که در اثر کادمیوم تولید انواع اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن بر سازوکارهای جمع‌آوری کننده آنها غلبه کرده و سبب افزایش آسیب به غشاها و تنش اکسیداتیو می گردد.

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

است (شکل ۲). به بیان دیگر، به دلیل توانایی این ارقام در جداسازی و نگهداری کادمیوم در بخش‌هایی مانند واکوئول، علیرغم کاهش فعالیت چرخه کالوین و افت تولید ماده خشک، به دلیل عدم افزایش تولید انواع اکسیژن فعال، لزومی به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نیست. Cho و Seo (۲۰۰۵) و Zhang و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عدم تجمع پراکسید هیدروژن را مهم‌ترین عامل مقاومت به کادمیوم عنوان کرده‌اند. از طرفی، Martins و همکاران (۲۰۱۱) ضمن گزارش افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در اثر افزودن کادمیوم به محیط در برگ توتون، اظهار نمودند که این آنزیم نقش بسیار مهمی در تنظیم و جمع‌آوری پراکسید هیدروژن و مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از مقادیر بالای کادمیوم بر عهده دارد. افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز و آنزیم‌های جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن، در اثر افزودن کادمیوم به محیط توسط El-Beltaghi و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش شده است. آنها معتقدند که فعالیت بالای این آنزیم‌ها از آثار منفی این عنصر کاسته و سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و تنش اکسیداتیو می‌گردد. بدین ترتیب، سلول‌های گیاه در شرایط پایدارتری قرار گرفته و فعالیت‌های متابولیک آنها حفظ می‌گردد (El-Beltaghi *et al*., 2010).

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

سپاسگزاری

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

منابع

Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Method of Enzymology 105(1): 121-126.

Aghabarati, A., Hosseini, S. M., Esmaili, A. and Maralian, H. (2009) The effect of irrigation with municipal effluent on physic-chemical characteristics of soil, accumulation of nutrients and Cd in Olive trees. Environmental Sciences 6(3): 1-10 (in Persian).

Ammar, W., Nouairi, I., Zarrouk, M., Ghorbel, M. and Jemal, F. (2008) Antioxidative response to cadmium in roots and leaves of tomato plants. Biologia Plantarum 52(4): 727-731.

Amooaghaie, A., Marefat, E. and Shabani, L. (2012) Interaction of salicylic acid and cadmium on growth, photosynthetic pigments and ion distrubiution in arial parts of soybean plantlets. Iranain Journal of Plant Biology 4(14): 75-88 (in Persian).

Balsberg, P. M. (1989) Toxicity of heavy metal (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. Water, Air and Soil Pollution 47(3-4): 287-314.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72(1-2): 248-254.

Carmagnol, F., Sinet, P. M., Rapin, J. and Jerome, H. (1981) Glutathione S-transferase of human red blood cells assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: hiperbilirubinemia and impaired renal function. Clinica Chimica Acta 117(2): 209-217.

Cho, U. and Seo, N. (2005) Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. Plant Science 168(1): 113-120.

Edreva, A. (2005) Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A submolecular approach. Agriculture, Ecosystems and Environment 106(2): 119-133.

El-Beltaghi, H., Amal, A. and Rashed, M. (2010) Response of antioxidative enzymes to cadmium stress in leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.). Notulae Scientia Biologicae 2(4): 76-82.

Esfandiari, E. and Javadi, A. (2014) Role of scavenging enzymes and hydrogen peroxide and glutathione S-transferase in mitigating the salinity effects on wheat. Iranian Journal of Plant Biology 6 (2): 1-16 (in Persian).

Esfandiari, E. and Mahboob, S. A. (2014a) Plant biochemistry, vol. I. Tabriz University of Medical Science Press, Tabriz (in Persian).

Esfandiari, E. and Mahboob, S. A. (2014b) Plant biochemistry, vol. II. Tabriz University of Medical Science Press, Tabriz (in Persian).

Esfandiari, E. and Vahdati Rad, A. (2012) Decline of tolerance in leaf photooxidative-stress with age in sunflower. Iranian Journal of Plant Biology 4 (4): 1-14 (in Persian).

Esfandiari, E., Javadi, A., Shokrpour, M. and Shekari, F. (2011) The effect of salt stress on the antioxidant defense mechanisms on wheat seedling. Fresenius Environmental Bulletin 20(8): 2021-2036.

Ghaderin, S. M. and Jamali Hajiani, N. (2010) Tolerance, uptake and accumulation of cadmium in *Matthiola chenopodiifolia* Fisch & C. A. Mey (Brassicaceae). Iranian Journal of Plant Biology 2(6): 87-98 (in Persian).

Goncalvez, J., Beker, A., Cargnelutti, D., Tabaldi, L., Pereira, L., Battisti, V., Spanevello, R., Morsch, V., Nicoloso, R. and Schetinger, M. (2007) Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of the antioxidant system in cucumber seedling. Brazilian Journal Plant Physiology 19(3): 223-232.

Gong, J., David, A. and Julian, I. (2003) Long-distance root-to-shoot transport of phytochelatins and cadmium in *Arabidopsis*. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America 100(17): 10118-10123.

Hafezi, M., Shoushtari, A. N., Asrar, Z. and Torkzadeh, M. (2009) Effects of toxic concentrations of cadmium on nodulation and nitrogen fixation of different stranis of *Sinorhizobium meliloti* in *Medicago sativa*. Iranian Journal of Biology 22(4): 626-635 (in Persian).

Izadiyar, M. H. and Yargholi, B. (2010) Study of cadmium absorption and accumulation in different parts of four forages. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science 9(3): 231-238.

Kalantari, K. and Oloumi, H. (2005) Study the effects of $CdCl_2$ on lipid peroxidation and antioxidant compounds content in *Brassica napus*. Iranian Journal of Science and Technology 29(A1): 201-208.

Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G. and Popova, L. (2008) Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. Journal of Plant Physiology 16(9): 920-931.

Liu, D. H., Wang, J., Zou, H. and Jiang, L. S. (2006) Uptake and accumulation of cadmium and some nutrient ions by roots and shoots of maize (*Zea mays* L.). Pakistan Journal of Botany 38(3): 701-709.

Lozano-Rodriguez, E., Hernandez, L. E., Bonay, P. and Carpena-Ruiz, R. O. (1997) Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances. Journal of Experimental Botany 48(1): 123-128.

Martins, L., Migue, P., Cardoso, A., Pinto, A., Mota, A., Lurdes, S., Gonc, A. and Varennes, A. (2011) Oxidative stress induced by cadmium in *Nicotiana tabacum* L., effects on growth parameters, oxidative damage and antioxidant responses in different plant parts. Acta Physiology Plantarum 33(4): 1375-1383.

Merrikhpour, H. (2015) Evaluation of heavy metal amounts in soils of agricultural land under cucumber cultivation and phosphorus chemical fertilizers application. 4th Iranian Congress of Trace elements, Hamedan, Iran (in Persian).

Minoui, S., Minai-tehrani, D., Samiee, K. and Farivar, Sh. (2008) Study of the macroscopic and microscopoic changes of the effect of cadmium on *Chlorophytum comosum*. Iranian Journal of Biology 21(3): 737-747 (in Persian).

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7(9): 405-410.

Oloumi, H. and Manouchehri-Kalantari, Kh. (2003) Study the effects of cadmium chloride on growth parameters, chlorophyll, carotenoids, proteins and suger content in canola plants. Pajouhesh va Sazandegi 59(2): 74-80 (in Persian).

Panda, S. K., Singha, L. B. and Khan, M. H. (2003) Does aluminium phytotoxicity induce oxidative stress in greengram (*Vigna radiate*)?. Bulgarian Journal of Plant Physiology 29(1-2): 77-86.

Popova, L., Maslenkova, L., Yordanova, R., Krantev, A., Azalai, G. and Janda, T. (2008) Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. Gen Applied Plant Physiology 34(3-4): 133-148.

Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 16(5): 1037-1046.

Saremi Rad, B., Esfandiari, E., Shokrpour, M., Sofalian, O., Avanes, A. and Mousavi, S. B. (2014) Cadmium effects on some morphological and physiological parameters in wheat at seedling stage. Iranian Journal of Biology 27(1): 1-11 (in Persian).

Schneider, C., Porter, N. and Brash, A. (2008) Routes to 4-hydroxynonenal: fundamental issues in the mechanisms of lipid peroxidation. Journal of Biological Chemistry 283(23): 15539-15543.

Sergiv, I., Alexieva, V. and Karanov, E. (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Comptes Rendus de l′Academie Bulgare Des Sciences 51(4): 121-124.

Shan, S., Liu, F., Li, A. and Wan, S. (2012) Effects of cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant enzyme activities in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. Journal of Agricultural Science 4(6): 142-151.

Smeets, K., Cuypers, A., Lambrechts, A., Semane, B., Hoet, P., Van Laere, A. and Vangronsveld, J. (2005) Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. Plant Physiology and Biochemistry 43(5): 437-444.

Soltani, F., Ghorbanli, M. and Manoucheri-Kalantari, Kh. (2006) Effect of cadmium on photosynthetic pigments, sugers and malondealdehyde content in *Brassica napus* L.. Iranian Journal of Biology 19(2): 136-147 (in Persian).

Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1980) Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. McGraw-Hill Companies, Inc., New York.

Stewart, R. R. C. and Bewley, J. D. (1980) Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. Plant Physiology 65(2): 245-248.

Unyayar, S., Celik, A., Ozlem, F. and Gozel, A. (2006) Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*. Mutagenesis 21(1): 77-81.

Wahid, A., Ghani, A. and Javed, F. (2008) Effect of cadmium on photosynthesis, nutrition and growth of mungbean. Agronomy for Sustainable Development 28(2): 273-280.

Yang, X., Baligar, V., Martens, D. and Clark, R. (1996) Cadmium effects on influx and transport of mineral nutrients in plant species. Journal of Plant Nutrition 19(3-4): 643-656.

Zarkovic, N. (2003) 4-Hydroxynonenal as a bioactive marker of pathophysiological processes. Molecular Aspects of Medicine 24(4-5): 281-291.

Zheng, G., Lv, H., Gao, R. and Wang, S. (2010) Effects of cadmium on growth and antioxidant responsesin *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. Plant, Soil and Environment 56(11): 508-515.

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

Ezatollah Esfandiari * and Nader Rostami
Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

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

* Corresponding Author: esfandiari@maragheh.ac.ir