نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد هفتم، شماره چهارم، زمستان ۹۳
۱۹۵-۱۷۹
http://ejcp.gau.ac.ir

تأثیر کلریدهای کادمیوم و جیوه بر برخی صفات فیزیولوژیک در دو رقم گندم نان

سیده یلدا رئیسی ساداتی[۱] و *سدابه جهانبخش گده‌کهریز[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه بیوتکنولوژی در کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی،
[۲]استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۱۲

چکیده

یکی از تنش‌های غیرزیستی مهم که روی غلات از جمله گندم تأثیر منفی می‌گذارند، فلزات سنگین می‌باشد. آلودگی خاک به فلزات سنگین با پیشرفت و توسعه صنایع و مصرف کودهای شیمیایی حاوی عناصر سنگین به‌عنوان یکی از دغدغه‌های زیست‌محیطی عمده در جوامع بشری تبدیل شده است. یکی از راه‌های مقابله گیاهان در مقابل اثرات منفی فلزات سنگین تولید گونه‌های فعال اکسیژن با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در سلول‌های گیاهی می‌باشد. به‌منظور بررسی صفات فیزیولوژیکی درگیر در ایجاد مقاومت به‌این تنش‌ها یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به اجرا در آمد. فاکتور اول ارقام گندم شامل گنبد (مقاوم) و تجن (حساس) بود. فاکتور دوم محلول‌پاشی با فلزات سنگین در هفت سطح (کلرید جیوه در چهار غلظت ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرومولار، کلرید کادمیوم در دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار و شاهد) و فاکتور سوم زمان‌های نمونه‌برداری بعد از اعمال تیمار در دو سطح (۸ و ۱۶ ساعت) بودند. نتایج حاصل نشان داد که با تیمار کلریدهای کادمیوم و جیوه، میزان پروتئین کل و قند محلول افزایش یافت. همچنین با افزایش غلظت کلرید جیوه از فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز کاسته شد، ولی برعکس با افزایش غلظت کلرید کادمیوم میزان فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یافت. بنابراین این تحقیق نشان داد که محلول‌پاشی کلرید کادمیوم و جیوه در حد میکرومولار و میلی‌مولار نیز قادر بوده تا سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه را تحریک و تقویت نماید و گیاه را نسبت به بروز تنش از جمله فلزات سنگین متحمل‌تر سازد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، صفات فیزیولوژیک، کلرید کادمیوم، کلرید جیوه، گندم

*مسئول مکاتبه: jahanbakhsh@uma.ac.ir

مقدمه

تنش‌های غیرزیستی از جمله فلزات سنگین باعث ایجاد خسارات زیادی به گندم می‌شوند. صنعتی شدن جوامع باعث آزادسازی ترکیبات سمی زیادی در بیوسفر شده است. از میان فلزات سنگین، کادمیوم و جیوه به‌عنوان سمی‌ترین فلزات در محیط، در نظر گرفته می‌شوند. این فلزات از عمده‌ترین آلاینده‌های محیطی محسوب می‌شوند که سمیت آن‌ها به دلایل اکولوژیک، تکاملی، تغذیه‌ای و محیطی مشکل بزرگی به‌شمار می‌رود (امانی، ۲۰۰۸). فلزات سنگین ممکن است آنزیم‌های اصلی را از طریق جایگزین شدن با کاتیون‌های فعال‌کننده، غیرفعال نمایند (کوچکی و همکاران، ۲۰۰۵). به‌دنبال توقف رشد ناشی از فلزات سمی مکانیسم‌های مختلفی از جمله موارد زیر برای سازش و تعادل سلولی ممکن است رخ دهد: ۱) بالاتر رفتن فعالیت بعضی از آنزیم‌های درگیر در تنظیم کاتابولیسم برای حفظ تولید انرژی سلولی ۲) استفاده از سیستم انتقال موردنیاز با انرژی کم برای وارد کردن اسیدآمینه و منابع کربنی دیگر ۳) تسهیل سنتز اسیدهای آمینه پیوند فلزی و دیگر منابع کربن ٤) تقویت سیستم انتقالی- فلزی برای تنظیم فلزات درون سلولی (ایسارانکورا و همکاران، ۲۰۰۹). کادمیوم به‌عنوان یکی از سمی‌ترین فلزات با تشکیل کمپلکس‌های پیچیده با ترکیبات آلی مانند پروتئین‌ها از فعالیت ضروری سلول‌ها جلوگیری می‌کند و با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید گونه‌های فعال اکسیژن زوال غشا را فراهم می‌کند و میل ترکیبی شدیدی با گروه‌های سولفیدریل، هیدروکسیل و لیگاندهای حاوی نیتروژن دارد. در نتیجه این عنصر بسیاری از آنزیم‌های مهم را غیر فعال کرده و با ممانعت از فعالیت آنزیم روبیسکو تثبیت CO_2 را در گیاه کاهش می‌دهد، در نتیجه، باعث کاهش فتوسنتز می‌شود. همچنین منجربه اختلال در تنفس و سایر فرآیندهای متابولیک در گیاه می‌گردد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). کادمیوم با تولید فرم‌های مختلفی از انواع اکسیژن فعال (ROS)[1] واکنش سمی ایجاد کرده و موجب آسیب به پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و DNA شده و در نهایت منجربه ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (زانگ و همکاران، ۲۰۱۰). گونه‌های فعال اکسیژنی همچنین روی بیان ژن‌ها تأثیر گذاشته و موجب تغییر در بسیاری از فرآیندها مانند رشد، چرخه سلولی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و پاسخ به تنش‌های غیر زنده می‌شوند (سینگ‌ژیل و توتجا، ۲۰۱۰). گلوتاتیون و فیتوکلاتین شدیداً با کادمیوم واکنش داده و کادمیوم آزاد را در داخل سیتوزول برگ کاهش می‌دهد و در نتیجه سمیت کادمیوم را

1- Reactive Oxygene Species

محدود می‌کند (اشنایدر و همکاران، ۲۰۰۹). جیوه به‌عنوان یکی از فلزات سمی دیگر با تجمع در دیواره سلولی و ورود به سیتوپلاسم سبب تنش اکسیداتیو شده که به‌دنبال آن گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر را در گیاهان تولید می‌کند. این فرآیند سبب آسیب در ساختار لیپیدهای غشایی شده و متابولیسم سلولی را دچار اختلال می‌کند. این عنصر همچنین فعالیت میتوکندری‌ها را متوقف می‌سازد (زئو و همکاران، ۲۰۰۷). سمیت جیوه در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد در گیاه باعث کاهش پتانسیل آبی، اختلال در تغذیه گیاه، تغییر در تراوایی غشای سلولی، توقف رشد ریشه و ساقه و کاهش در تولید پروتئین و جوانه‌زنی می‌گردد (زئو و همکاران، ۲۰۰۸). کربوهیدرات‌ها گروهی از ترکیبات آلی بوده که دارای کربن، هیدروژن و اکسیژن هستند. ساده‌ترین کربوهیدرات‌ها که دارای بیشترین خصوصیات این گروه بوده قندهای سه کربنه (تریوز) گلیسرآلدئید و دی‌هیدروکسی استون می‌باشند (هاپکینز و هونر، ۲۰۰۸). به‌علاوه افزایش کربوهیدرات به‌عنوان یک پیام متابولیکی عمل می‌کند و موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به دفاع و کاهش فتوسنتز می‌شود (کوکال و همکاران، ۲۰۰۸). از جمله واکنش‌های گیاه در مقابل این گونه تنش‌ها فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) می‌باشد که موجب خنثی‌سازی فعالیت گونه‌های فعال اکسیژنی تولید شده در سلول‌ها می‌گردد و تولید گونه‌های فعال اکسیژنی در سلول‌های گیاهی سبب تحریک و افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور می‌شود (میشرا و همکاران، ۲۰۰۹). هدف از این آزمایش بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف جیوه و کادمیوم بر مقدار کمی پروتئین کل، میزان قند محلول و فعالیت آنزیم‌های دخیل در تحمل به تنش در مرحله سه برگچه‌ای گیاه بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. به‌این منظور آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. فاکتور اول، ارقام گندم در دو سطح شامل رقم گنبد (مقاوم به فوزاریوم) و تجن (حساس به فوزاریوم) بود. فاکتور دوم مربوط به فلزات سنگین در هفت سطح (کلرید جیوه در چهار غلظت ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرومولار، کلرید کادمیوم در دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار و شاهد) و فاکتور سوم زمان‌های نمونه‌برداری بعد از اعمال تیمار در دو سطح (۸ و ۱۶ ساعت) بودند. بذور گندم نان (ارقام گنبد و تجن) از مرکز تحقیقات مغان تهیه و استریل شدند، و به‌منظور جوانه‌زنی درون کاغذ صافی‌هایی مربعی

شکل به روش ساندویچی به‌مدت ۲ روز در ژرمیناتور قرار داده شدند و در نهایت بذرهای جوانه‌دار شده از هر رقم، برای کشت به گلخانه منتقل شدند. محلول‌پاشی با کلرید کادمیوم و کلرید جیوه در مرحله ۳ برگچه‌ای انجام گرفت. ۸ و ١٦ ساعت بعد از محلول‌پاشی، نمونه‌برداری از نمونه شاهد و تیمار انجام شد و نمونه‌ها بلافاصله به داخل نیتروژن مایع منتقل و در یخچال ۷۰- نگهداری شدند.

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی: جهت تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد (١٩٧٦) در طول موج ٥٩٥ نانومتر استفاده گردید.

استخراج پروتئین جهت بررسی فعالیت آنزیمی: برای استخراج پروتئین ۰/۲ گرم بافت تر از نمونه‌های فریز شده در یک هاون چینی محتوای ۲ میلی‌لیتر بافر Tris-HCL ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ خوب سائیده شد. همگن‌های حاصل به لوله سانتریفوژ منتقل شد و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، سانتریفوژ گردید (به روش سودهاکر و همکاران، ۲۰۰۱). در پایان مرحله سانتریفیوژ، محلول رویی (حاوی عصاره پروتئینی) جهت بررسی فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز مورد استفاده قرار گرفتند.

سنجش آنزیم کاتالاز: فعالیت سینتیکی آنزیم کاتالاز با استفاده از روش چنس و مهلی (١٩٥٥) همراه با تغییراتی سنجیده شد. به‌این منظور ۲/۵ میلی‌لیتر بافر تریس به‌همراه ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه با ٦٠ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ مخلوط شدند. منحنی تغییرات جذب در طول موج ٢٤٠ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

سنجش آنزیم پراکسیداز: برای اندازه‌گیری فعّالیّت کمی پراکسیداز از روش کار و میشرا (١٩٧٦) با یکسری تغییرات استفاده گردید. به‌این منظور ابتدا محلول‌های بافر تریس ۱ مولار، آب اکسیژنه ۵۰ میلی‌مولار، پیروگالل ۱۰۰ میلی‌مولار تهیه شد و سپس از هر یک مواد ذکر شده، ۱۰ میلی‌لیتر برداشته و محلول حاصل به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و در نهایت ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول فوق با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ٤٢٥ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

سنجش آنزیم پلی‌فنل اکسیداز: فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با روش کار و میشرا (١٩٧٦) با یکسری تغییرات بررسی شد. برای این منظور ۱/۵ میلی‌لیتر بافر تریس با ۰/٤ میلی‌لیتر پیروگالل و ۰/۱ میلی‌لیتر

عصاره آنزیمی خوب مخلوط و به‌مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت، منحنی تغییرات جذب در طول موج ٤٢٠ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت شد.

فعالیت هر یک از آنزیم‌ها بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش قندهای کل برگ: استخراج قندهای کل از جوان‌ترین برگ با استفاده از روش اوموکولو و همکاران (١٩٩٦) انجام گرفت. به‌این منظور ۰/۱ گرم نمونه برگی با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در هاون چینی خوب سائیده و عصاره به‌دست آمده به‌مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. اندازه‌گیری مقدار قند با استفاده از روش مک‌ردی و همکاران (۱۹۵۰) انجام گردید و مقدار قند محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ٦٢٠ نانومتر اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک دو نرم‌افزار SAS و SPSS و مقایسه میانگین‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱ درصد انجام گرفت. رسم جداول با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۱) که اثر متقابل سه‌جانبه فلز سنگین × رقم × زمان در مورد صفات میزان پروتئین کل، قند محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در ارقام مورد بررسی گندم (گنبد و تجن) معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود. بنابراین از روش برش داده در بررسی اثرات متقابل دوگانه استفاده گردید (جداول ۲، ۳ و ٤).

میانگین مربعات اثر متقابل رقم در زمان برش داده شده مربوط به صفات میزان قند محلول در رقم گنبد در زمان ۸ ساعت بعد از محلول‌پاشی و همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در رقم تجن (۸ و ١٦ ساعت) از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت، بنابراین از مقایسه میانگین آن‌ها صرف‌نظر شد.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در زمان برای میزان قند محلول (جدول ۲) نشان داد از نظر آماری در رقم گنبد (١٦ ساعت بعد از محلول‌پاشی) اختلاف معنی‌داری بین افزایش غلظت کلرید جیوه و شاهد وجود نداشت، اما با افزایش غلظت در تیمار با کلرید کادمیوم کاهش معنی‌داری در

میزان قند محلول نسبت به حالت کنترل مشاهده شد. در رقم تجن (٨ و ١٦ ساعت) با افزایش غلظت‌های کلرید جیوه اختلاف معنی‌داری در میزان قند محلول نسبت به شاهد مشاهده نشد به‌جز غلظت ٥ میکرومولار (١٦ ساعت) که کاهش معنی‌داری در مقدار قند محلول نسبت به حالت شاهد نشان داد و با افزایش غلظت کلرید کادمیوم تفاوت معنی‌داری در میزان قند محلول نسبت به شاهد وجود داشت، چنانچه با افزایش غلظت کلرید کادمیوم بر میزان قند محلول افزوده شد.

جدول ١- تجزیه واریانس صفات درگیر در ایجاد مقاومت به فلزات در برگ گندم و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کربوهیدرات	پروتئین کل	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز	کاتالاز
رقم	١	٠/٠٠٢٤**	٠/٠٦٧*	٦/٧٠**	٤/٣٨**	٠/٠٠٧^{ns}
فلز سنگین	٦	٠/٠٠٢٥**	٠/٠٥٩**	٣/١٤**	١/٩٥**	٠/٢٠٢**
زمان	١	٠/٠٠٠٤*	٠/١١٦**	٣/٢٧**	٢/٩٣**	٠/٤٤٠**
فلز سنگین×رقم	٦	٠/٠٠٤٠**	٠/٠٣٢**	٢/١١**	١/٩٦**	٠/٠٢٢**
زمان×رقم	١	٠/٠٠٦٨**	٠/٠٠٣^{ns}	٠/٥٤^{ns}	٠/٥٤**	٠/٠٠٤^{ns}
زمان×فلز سنگین	٦	٠/٠٠٢١**	٠/٠١٧**	٠/٥٤٨**	٠/٦٨**	٠/٠٧٦**
زمان×فلز سنگین×رقم	٦	٠/٠٠٣٤**	٠/٠٢٦**	٠/٦٤٢**	٠/٦٦**	٠/٠١٦**
خطا ضریب تغییرات	٥٦	٠/٠٠٠٧	٠/٠٠٢	٠/١٦٧	٠/٠٨٢	٠/٠٠٢
		٤/٤	١٤/٤	٢١/٨	١٧/٢	٤/٧

^{ns}، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ٥ و ١ درصد.

نتایج مقایسه میانگین برای میزان پروتئین کل در رقم گنبد (٨ و ١٦ ساعت) افزایش معنی‌داری را در سطوح کلرید جیوه و کلرید کادمیوم نسبت به شاهد نشان داد (جدول ٣). در رفم تجن (٨ ساعت) با افزایش غلظت‌های کلرید جیوه و کلرید کادمیوم اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین کل نسبت به حالت کنترل مشاهده شد اما ١٦ ساعت بعد با افزایش غلظت‌های کلرید جیوه و کلرید کادمیوم کاهش معنی‌داری در میزان پروتئین کل نسبت به شاهد ملاحظه گردید. بیشترین میزان پروتئین کل در رقم تجن، ٨ ساعت با غلظت ٢٠ میکرومولار (٠/٣٤٩) و کمترین میزان مربوط به شاهد (٠/٠٢١) است.

جدول ۲- مقایسه میانگین برش یافته اثر متقابل سه‌جانبه رقم × فلز سنگین × زمان توسط عامل رقم × زمان برای میزان قند محلول.

صفت مورد مطالعه	زمان (ساعت) × رقم	میانگین صفات						
		غلظت کلرید جیوه (میکرومولار)				غلظت کلرید کادمیوم (میلی‌مولار)		
		۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۰/۲۵	۰/۵
میزان قند محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	گنبد*۱۶	۱/۴۳^{a}	۱/۳۶^{a}	۱/۳۰^{a}	۱/۲۴^{ab}	۱/۳۷^{a}	۰/۵۵^{c}	۰/۳۷^{d}
	تجن*۸	۱/۳۸^{a}	۱/۴۰^{a}	۱/۴۰^{a}	۱/۴۶^{a}	۱/۴۵^{a}	۰/۹۱^{c}	۱/۳۰^{ab}
	تجن*۱۶	۱/۳۸^{a}	۰/۸۵^{b}	۱/۴۱^{a}	۱/۳۰^{a}	۱/۳۳^{a}	۰/۴۹^{c}	۰/۷۰^{b}

میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال آزمون T تفاوت معنی‌داری ندارند.

LSD: ۰/۱۵۸

نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین برای میزان فعالیت کاتالاز (جدول ۳) در رقم گنبد (۸ ساعت)، تفاوت معنی‌داری را در رابطه با افزایش سطوح کلرید جیوه و کلرید کادمیوم نسبت به حالت شاهد نشان داد، اما ۱۶ ساعت بعد، به‌جز غلظت ۵ میکرومولار کلرید جیوه که با شاهد از نظر فعالیت کاتالاز تفاوت معنی‌دار نداشت در بقیه غلظت‌ها (۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرومولار) اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد ملاحظه گردید. در رقم تجن (۸ ساعت) با افزایش غلظت‌های کلرید جیوه و کلرید کادمیوم اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت کاتالاز نسبت به حالت کنترل مشاهده نشد، اما ۱۶ ساعت بعد از اعمال تیمار کلرید جیوه و کلرید کادمیوم اختلاف معنی‌داری در رابطه با فعالیت کاتالاز بین شاهد و افزایش غلظت‌ها وجود داشت. در رقم گنبد و تجن (۸ ساعت) ابتدا با افزایش غلظت کلرید کادمیوم میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش و بعد (۱۶ ساعت) افزایش یافت. بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در رقم گنبد (۱۶ ساعت) تحت تیمار کلرید جیوه ۱۵ میکرومولار و کمترین فعالیت این آنزیم مربوط به رقم گنبد (۸ ساعت) با غلظت ۱۰ میکرومولار بود.

همچنین مطابق با جدول ٤ نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان داد که از لحاظ آماری در رقم گنبد به‌جز تیمار با کلرید کادمیوم (۱۶ ساعت) با افزایش غلظت تیمارها کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت پراکسیداز ملاحظه گردید. بیشترین و کمترین میزان فعالیت پراکسیداز رقم گنبد به‌ترتیب مربوط به شاهد و غلظت ۱۰ میکرو مولار کلرید جیوه بود.

جدول ٣- مقایسه میانگین برش یافته اثر متقابل سه‌جانبه رقم× فلز سنگین× زمان توسط عامل رقم× زمان برای صفات پروتئین کل و فعالیت آنزیم کاتالاز.

صفات مورد مطالعه	زمان (ساعت) × رقم	میانگین صفات						
		غلظت کلرید جیوه (میکرومولار)				غلظت کلرید کادمیوم (میلی‌مولار)		
		٠	٥	١٠	١٥	٢٠	٠/٢٥	٠/٥
پروتئین کل (گرم بر گرم وزن تر برگ)	گنبد×٨	٠/٠٢^{a}	٠/٠٥^{b}	٠/٢٧^{c}	٠/١٤^{c}	٠/٢٠^{c}	٠/١٢^{d}	٠/١٥^{d}
	گنبد×١٦	٠/٠٢^{a}	٠/٠٣^{b}	٠/١١^{b}	٠/٠٢^{c}	٠/٢٣^{c}	٠/١٠^{c}	٠/٠٤^{c}
	تجن×٨	٠/١٢^{a}	٠/١٠^{b}	٠/١١^{bc}	٠/١٢^{c}	٠/٣٤^{c}	٠/١٦^{c}	٠/١٨^{cd}
	تجن×١٦	٠/١٢^{a}	٠/١٦^{a}	٠/١٠^{ab}	٠/٠٨^{b}	٠/٠٥^{b}	٠/١٨^{b}	٠/١٠^{bc}
کاتالاز (تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین)	گنبد×٨	١٠/٥٠^{a}	٥/١٢^{b}	٠/٨٦^{c}	١/٧١^{c}	١/٤٨^{c}	١/٦٤^{c}	١/٥٠^{c}
	گنبد×١٦	١٠/٥٠^{a}	٦/٢٣^{a}	٢/١١^{b}	١٠/٨٣^{c}	١/٣٩^{d}	٢/٢٦^{d}	٤/١٥^{d}
	تجن×٨	٢/٤٦^{a}	٣/٠٩^{a}	٢/٧٨^{a}	٢/٢٤^{a}	١/٠٢^{ab}	١/١٩^{ab}	٠/٩٢^{ab}
	تجن×١٦	٢/٤٦^{a}	١/٤٧^{b}	٢/٥١^{b}	٣/٤٦^{b}	٥/٩٦^{b}	٠/٩٠^{bc}	١/٩٦^{c}

LSD پروتئین کل: ٠/٠١٣ LSD کاتالاز: ١/٦٩٤

جدول ٤- مقایسه میانگین برش یافته اثر متقابل سه‌جانبه رقم× فلز سنگین× زمان توسط عامل رقم× زمان برای میزان فعالیت پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز.

صفات مورد مطالعه	زمان (ساعت) × رقم	میانگین صفات						
		غلظت کلرید جیوه (میکرومولار)				غلظت کلرید کادمیوم (میلی‌مولار)		
		٠	٥	١٠	١٥	٢٠	٠/٢٥	٠/٥
پراکسیداز (تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین)	گنبد×٨	١٣/٩٨^{a}	٧/٨٨^{b}	١/١٢^{c}	٢/٢٠^{c}	١/٥٧^{c}	٢/٤٦^{c}	١/٨٤^{c}
	گنبد×١٦	١٣/٩٨^{a}	٩/٩٥^{b}	٢/٤٣^{b}	١٠/٥٣^{c}	١/٣٥^{d}	٢/٩٥^{d}	٦/٢٣^{d}
پلی‌فنل اکسیداز (تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین)	گنبد×٨	٣٠/١٢^{a}	١٦/٤٣^{b}	٢/٣٤^{c}	٤/٢٥^{c}	٣/٠١^{c}	٥/١٠^{c}	٣/٩٦^{c}
	گنبد×١٦	٣٠/١٢^{a}	٢٠/٦٠^{a}	٥/٤٠^{ab}	٢٤/٢٦^{b}	٢/٧٥^{b}	٦/٠٢^{b}	١٢/٢٨^{bc}

LSD پراکسیداز: ٢/٨٩ LSD پلی‌فنل اکسیداز: ٧/٦٣

نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نشان داد (جدول ٤) از لحاظ آماری در رقم گنبد (٨ ساعت) با افزایش غلظت‌های کلرید جیوه و کلرید کادمیوم در رابطه با فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز اختلاف معنی‌داری با شاهد وجود داشت. در رقم گنبد (١٦ ساعت) از نظر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تحت تیمار کلرید جیوه ۵ و ۱۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری با شاهد ملاحظه نگردید اما در غلظت ۱۵ و ۲۰ میکرومولار و تیمار با کلرید کادمیوم از نظر فعالیت پلی‌فنل اکسیداز کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان فعالیت پلی‌فنل اکسیداز رقم گنبد به‌ترتیب مربوط به شاهد و غلظت ۱۰ میکرو مولار کلرید جیوه (٨ ساعت) بود.

بحث

میزان قند محلول و پروتئین کل: گیاه می‌تواند با افزایش قند محلول، ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب نگه دارد و از آن‌جا که فلزات سنگین باعث از بین رفتن کلروفیل برگ‌ها شده، چنانچه بررسی علائم ظاهری در گیاهچه‌های گندم شاهد و تیمار شده با کادمیوم و جیوه نشان داد افزایش غلظت کادمیوم و جیوه در گیاهچه‌ها موجب بروز کلروز برگی به‌صورت رنگ سبز متمایل به زرد در برگ‌ها شد. در نتیجه باعث کاهش میزان کربوهیدرات می‌شود و در داخل سلول موجب فعال شدن ژن‌های مقاومت می‌گردد (بلتون، ۲۰۰۹)، که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر در رابطه با رقم گنبد (١٦ ساعت) مطابقت دارد. احتمالاً به‌علت مصرف شدن قند در جهت سنتز پروتئین‌ها و پلی‌پپتیدهایی از جمله فیتوکلاتین‌ها و گلوتاتیون غلظت قند کاهش می‌یابد. تحقیقات نشان داده است که با ورود کاتیون Cd^{+2} به سلول‌های برگ، سرعت تنفس کند شده و در نتیجه تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلول به‌وجود می‌آید، به‌علاوه رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیک تغییر می‌کند. وجود Cd^{+2} در سیتوسل سلول‌های برگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده قندهای غیرمحلول و اسید اینورتاز و سوکروز سنتاز می‌شود (ورما و دبی، ۲۰۰۱). افزایش میزان قند محلول در تیمار با کلرید کادمیوم در گیاهان کلزا، گلرنگ و عدس توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (نورانی‌آزاد و کفیل‌زاده، ۲۰۱۱). گیاه در جهت مقابله با تنش فلزات سنگین شروع به سنتز پروتئین‌های دفاعی می‌کند و در این راستا متابولیت‌ها و آنزیم‌های موجود در ساختار پروتئین‌ها را درگیر می‌سازد. در رقم گنبد افزایش بیان این

پروتئین‌ها در اثر جیوه در برگ‌های گندم احتمالاً به‌دلیل افزایش سنتز بعضی آنزیم‌ها از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، همچنین سنتز پروتئین‌ها و پلی‌پپتیدهای درگیر در سیستم دفاعی سلول در برابر یون‌ها (متالوتیونین‌ها و فیتوکلاتین‌ها) می‌باشد. کریمی و نوجوان (۲۰۰۷) نشان دادند که با افزایش غلظت کادمیوم پروتئین‌های محلول برگ در عدس افزایش می‌یابد. این افزایش می‌تواند بیانگر افزایش آنزیم‌های درگیر در مکانیسم دفاعی گیاه و پلی‌پپتیدهای آنتی‌اکسیدان باشد. این نتیجه با نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر در رقم گنبد و تجن (۸ ساعت بعد از محلول‌پاشی) تحت تیمار کلرید جیوه مطابقت دارد. کادمیوم شباهت زیادی با لیگاندهای نیتروژن و پروتئین‌های گوگردی دارد و به‌همین دلیل با تشکیل پیوند و اتصال به گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌ها موجب مهار و اختلال در ساختار آن‌ها و کنترل احیایی سلول می‌گردد، همچنین موجب تخریب کانال‌های یونی و نشت یونی می‌شود (میشرا و همکاران، ۲۰۰۹). کاهش میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای به‌علت از بین رفتن ساختارهای پروتئینی و حضور رادیکال‌های آزاد نسبت داده می‌شود که با نتایج ما در رابطه با رقم گنبد و تجن (١٦ ساعت) مطابقت دارد.

فعایت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز): کادمیوم از طریق آسیب به لیپیدهای غشایی، عملکرد غشای سلول را تغییر می‌دهد و این مسئله می‌تواند فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با غشاء مانند H^+-ATPase را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین در سطح سلولی، کادمیوم با کاهش قابلیت ارتجاع دیواره سلولی سبب کاهش فشار تورگر شده و مانع رشد سلول‌ها می‌شود (آینا و همکاران، ۲۰۰۷). کادمیوم برخلاف فلزاتی مانند مس و آهن که از طریق چرخه احیایی مثل فنتون[1] و یا واکنش‌های هابر– ویز[2] موجب تنش اکسیداتیو می‌شود، از طریق مکانیسم‌های غیرمستقیم مانند مداخله در سیستم‌های دفاعی، تخریب زنجیره انتقال الکترون و القای پراکسیداسیون چربی موجب خسارت به سلول می‌گردد (بناویدز و همکاران، ۲۰۰۵). غلظت‌های بالای کادمیوم موجب ایجاد سمیت در گیاه و به سبب آن باعث ایجاد تنش‌های اکسیداتیو می‌شود. تنش‌های اکسیداتیو با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن از جمله رادیکال‌های سوپراکسید (O^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) به سلول‌های گیاهی آسیب وارد می‌کنند و رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل آغازگر واکنش‌هایی است که موجب پراکسیداسیون چربی می‌شود (چن و همکاران،

1- Fenton
2- Haber-weiss

۲۰۰۷). برای کم کردن و از بین بردن انواع اکسیژن‌های فعال و اجتناب از آسیب‌های اکسیداتیو در گیاهان، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد (اسمیت و همکاران، ۲۰۰۸). تنش‌های اکسیداتیو ناشی از یون جیوه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را به‌دنبال دارد که تولید آن‌ها میزان تنش اکسیداتیو را نشان می‌دهد (زئو و همکاران، ۲۰۰۷)، که با نتایج به‌دست آمده در رابطه با رقم تجن (۱٦ ساعت بعد از محلول‌پاشی) مطابقت دارد. کاتالاز آنزیم مشترکی است که تقریباً در تمام موجودات زنده در حضور اکسیژن یافت می‌شود. یک مولکول کاتالاز در هر ثانیه می‌تواند میلیون‌ها مولکول پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل کند (چلیکانی و همکاران، ۲۰۰٤). حذف مقادیر اضافی گونه‌های فعال اکسیژنی و دخالت در تنظیم سلولی به عهده دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز است که کاتالاز در این عملکرد نقش مؤثرتری را ایفا می‌کند. نقش کاتالاز در سیستم دفاعی و پدیده پیری در گیاهان نیز به اثبات رسیده است (میورا و همکاران، ۲۰۰۷). از آن‌جایی که کاتالاز به حفظ هموستازی اکسیژن فعال در زمان تنش‌های زنده و غیر زنده کمک می‌کند، فعالیت آن در گیاه به هنگام تنش بیشتر می‌شود (مقبونیا و همکاران، ۲۰۰۷). عدم تعادل بین H_2O_2 تولیدی و القاء شده منجر به تجمع مقدار زیادی H_2O_2 در تیمارهای کادمیوم می‌شود و وجود آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز از تجمع H_2O_2 جلوگیری می‌کند و در نتیجه تحمل گیاه نسبت به تنش را افزایش می‌دهد (زانگ و همکاران، ۲۰۱۰). در تحقیق حاضر فعالیت کاتالاز به‌طور معنی‌داری در ارقام تیمار شده با کادمیوم افزایش یافته است که احتمالاً نشان‌دهنده تخریب H_2O_2 و پراکسیدهای سمی در تجمع کادمیوم به‌وسیله کاتالاز انجام می‌گیرد و آن هم به نوبه خود می‌تواند پراکسیداسیون چربی‌ها را به‌واسطه رادیکال‌های آزاد در طی سمیت کادمیوم کاهش دهد. پوراکبر و اشرفی (۲۰۱۱) نشان دادند که کادمیوم موجب افزایش فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، تجمع پراکسید هیدروژن و مرگ سلولی در ذرت می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم گنبد و تجن (۱٦ ساعت بعد از محلول‌پاشی) با نتایج حاصل از تحقیقات فوق مطابقت دارد. با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن در داخل سلول‌ها از بین می‌رود و گیاه برای مقابله با تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژنی میزان فعالیت این آنزیم را افزایش می‌دهد. کادمیوم سبب کاهش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه، بازدارندگی فعالیت بعضی آنزیم‌ها، رسوب عناصر ضروری یا متابولیت‌ها و سبب تخریب سلولی می‌گردد (قوش و همکاران، ۲۰۰۵). در تحقیقی ساندالیو و

همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که در اثر تجمع کادمیوم در برگ‌های نخود H_2O_2 القاء شده منجربه بازداشتن از فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز می‌شود. کاهش در فعالیت کاتالاز نیز به‌عنوان یک پاسخ عمومی در بسیاری از تنش‌های شدیدتر محیطی مانند شوری، خشکی، سرما و تنش فلزات سنگین گزارش شده است که این امر احتمالاً به‌علت بازدارندگی از سنتز آنزیم یا تغییر در تجمع زیر واحدهای این آنزیم است (شاه و همکاران، ۲۰۰۱). این مسئله می‌تواند دلیلی بر کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار کلرید کادمیوم رقم گنبد و تجن (۸ ساعت بعد از محلول‌پاشی) باشد. حامید و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که کلرید کادمیوم و کلرید جیوه باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه بامیه می‌شود که ظاهراً به‌دلیل مهار سنتز آنزیمی می‌باشد که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. نورانی آزاد و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که کلرید جیوه باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در برگ‌های گیاه شوید می‌گردد. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان در برگ‌ها و فعال شدن دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از سازوکارهای تحمل به سمیت جیوه باشد که با نتایج حاصل از این تحقیق در رابطه با رقم تجن (١٦ ساعت بعد از محلول‌پاشی) مطابقت دارد. میزان جذب کادمیوم توسط گیاه و غلظت آن در یک گیاه، به شرایط محیطی، فیزیولوژیکی و فاکتورهای بیوشیمیایی بستگی دارد. گیاهان برای مقابله با خسارت ناشی از تنش‌های اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد و به‌ویژه پراکسید هیدروژن از سیستم آنتی‌اکسیدانتی پیچیده‌ای استفاده می‌کنند، که اجزای ابتدایی آن شامل کاروتنوئیدها، آسکوربات، گلوتاتیون و توکوفرول‌ها است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و آنزیم‌های دخیل در چرخه آسکوربات- گلوتاتیون نظیر گلوتاتیون ردوکتاز هستند (بابی و جینی، ۲۰۱۱). به‌نظر می‌رسد پراکسیدازها عموماً به‌عنوان آنزیم‌های مسمومیت‌زدای گونه‌های اکسیژن فعال عمل می‌کنند، زیرا هیدروژن پراکسید ماده‌ای است که برای دامنه گسترده‌ای از واکنش‌های وابسته به پراکسیداز به‌عنوان ماده پذیرنده الکترون عمل می‌کند. در این میان، پراکسیدازها در امر شکستن H_2O_2 از طریق چندین سازوکار مختلف عمل می‌کنند (کاوانو، ۲۰۰۳). بنابراین چنین استنباط می‌گردد که محلول‌پاشی تیمارهای برتر از لحاظ سطوح فعالیت آنزیم پراکسیداز موجب شکسته شدن هیدروژن پراکسید در سلول خواهد شد و به‌این شکل از تولید گونه‌های فعال اکسیژنی جلوگیری می‌نماید. بنابراین، با بالا رفتن سطوح فعالیت این آنزیم گیاه کمتر مورد تهاجم گونه‌های فعال اکسیژنی قرار می‌گیرد، زیرا اصولاً آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌عنوان اصلی‌ترین آنزیم‌های از

بین برنده H_2O_2 شناخته شده‌اند (تیواری و همکاران، ۲۰۰۵). پراکسیدازها از جمله آنزیم‌هایی به‌شمار می‌روند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به انواع تنش‌ها دارند. پراکسیدازها مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن می‌باشند و از جمله پروتئین القا شده در طول دفاع گیاه میزبان در برابر تنش، تولید پراکسیداز می‌باشد. پراکسیدازها به خانواده بزرگی از مولتی‌ژن‌ها تعلق دارند و در طیف گسترده‌ای ازفرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تشکیل لیگنین و سوبرین، سنتز فیتوالکسین‌ها و متابولیسم گونه‌های فعال اکسیژنی دخالت می‌کنند (الماگرو و همکاران، ۲۰۰۹). سوپر اکسید دیسموتاز نخستین آنزیمی است که در فرآیند رفع مسمومیت دخیل است و موجب تبدیل O_2^- به پراکسید هیدروژن می‌گردد و تجمع پراکسید هیدروژن به‌وسیله آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز کاهش می‌یابد و سبب کاهش میزان این رادیکال در اندامک‌های سلولی می‌شود. این آنزیم‌ها سبب تبدیل پراکسید هیدروژن به اکسیژن و آب می‌شوند (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۹). پلی‌فنل اکسیداز در بیشتر گیاهان عالی یافت می‌شود و با نام‌های کاتکول اکسیداز، کاتکولاز و تریوزیناز نامیده می‌شود در حضور اکسیژن دو نوع واکنش نشان می‌دهد، این واکنش‌ها عبارت از هیدروکسی کردن ترکیبات مونو فنل و تبدیل آن‌ها به ترکیبات کوئینین می‌باشد و وظیفه اصلی آن کاتالیز نوعی کوئینون از فنل‌ها در مجاورت مولکول اکسیژن است. از جمله نقش‌های اصلی این آنزیم، تأثیرات آن بر تشکیل ریشه‌های نابه‌جا و سازماندهی و نمو ریشه است (ایلماز و همکاران، ۲۰۰۳).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج حاصل از بررسی غلظت پروتئین کل و قندهای محلول نشان داد که گیاهان در جهت مقابله با انواع تنش تمام انرژی خود را صرف سنتز عوامل دخیل در مکانیسم دفاعی می‌کنند. چنانچه تحت تیمار کلرید کادمیوم و کلرید جیوه میزان پروتئین کل و قند محلول که در مکانیسم‌های دفاعی گیاه نقش اساسی دارند، افزایش می‌یابد. همچنین داده‌های حاصل از بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز نشان داد که از میزان فعالیت هر سه آنزیم با افزایش غلظت کلرید جیوه کاسته شده و بر عکس با افزایش غلظت کلرید کادمیوم فعالیت این آنزیم‌ها افزایش می‌یابد.

منابع

1.Amani, A.L. 2008. Cadmium induced changes in pigment content, ion uptake, proline content and phosphoenol pyruvate carboxylase activity in *Triticum aestivum* seedlings. Aust. J. Basic. Appl. Sci., 2: 57-62.

2.Almagro, L., Gomez, L.V., Belchi-Navarro, S., Bru, R., Barcelo, A., and Pedreno, M.A. 2009. Class III peroxidases in plant defense reactions. J. Exp. Bot., 60: 377-390.

3.Aina, R., Labra, M., Fumagalli, P., Vannini, C., Marsoni, M., Cucchi, U., Bracale, M., Sgorbati, S., and Citterio, S. 2007. Thiol-peptide level and proteomic changes in response to cadmium toxicity in *Oryza sativa* L. roots. Environ. Exp. Bot., 59: 381-392.

4.Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Ann. Biochem., 72: 248-254.

5.Benavides, M.P., Gallego, S.M., and Tomaro, M.L. 2005. Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol., 17: 21-34.

6.Baby, J., and Jini, D. 2011. Development of salt stress-tolerant plants by gene manipulation of antioxidant enzymes. Asian J. Agric. Res. 5: 17-27.

7.Bolton, M.D. 2009. Primary metabolism and plant defense-fuel for the fire. Mol. Plant Pathol., 22: 487-497.

8.Chen, J., Zhu, C., Lin, D., and Sun, Z.X. 2007. The effects of Cd on lipid peroxidation, hydrogen peroxide content and antioxidant enzyme activities in Cd-sensitive mutant rice seedlings. Can. J. Plant sci., 87: 49-57.

9.Chance, B., and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Method. Enzymol., 11: 764-755.

10.Chelikani, P., Fita, I., and Loewen, P.C. 2004. Diversity of structures and properties among catalases. Cell. Mol. Life Sci., 61: 192-208.

11.Ghosh, M., and Singh, S.P. 2005. A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. Environ Pollut., 133: 365-371.

12.Hopkins, W.G., and Huner, N.P.A. 2008. Introduction to Plant Physiology. John Wiley and Sons. New York. P. 503.

13.Hameed, A., Qadri, N.T., Mahmooduzzafar, T., Siddiqi, O., and Iqbal, M. 2011. Differential activation of the enzymatic antioxidant system of *Abelmoschus esculentus* L. under $CdCl_2$ and $HgCl_2$ exposure. Braz. J. Plant Pysiol., 23: 45-55.

14.Isarankura, P., Isarankura, Ch., Kasikun, K., Thipkeaw, K., and Prachayasittikul, V. 2009. Proteomic profiling of *Escherichia coli* in response to heavy metals stress. Eur. J. Scien. Res., 25: 679-688.

15.Kar, M., and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiol., 57: 315-319.

16.Kocal, N., Sonnewald, U., and Sonnewald, S. 2008. Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of

photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. Plant Physiol., 148: 1523-36.
17. Kawano, T. 2003. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. Plant Cell Rep., 21: 829-837.
18. Koocheki, A., Zand, A., Bannayan, M., Rezvani Moghaddam, P., Mahdavi Damghani, A., Jami Al-Ahmadi, M., and Vesal, S.R. 2005. Plant Ecophysiology. Mashhad University Press. 445p.
19. Karimi, G., and Nojavan, M. 2007. An investigation of the effects of cadmium chloride on growth parameters, proline content, the soluble sugar and protein content in lentil (*Lense miller*) seedlings. Paj. Saz., 20: 46-53.
20. Mura, A., Pintus, F., Medda, R., Floris, G., Rinaldi, A.C., and Padiglia, A. 2007. Catalase and antiquitin from *Euphorbia characias*: Two proteins involved in plant defense? Biochemistry., 72: 501-508.
21. Magbanua, Z.V., Moraes, C.M., Brooks, T.D., Williams, W.P., and Luthe, D.S. 2007. Is catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *Aspergillus flavus*? Mol. Plant Microbe., 20: 697-706.
22. Mc-Cready, R.M., Guggolz, J., Silviera, V., and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. Annu. Chem. 22: 1156-1158.
23. Mishra, S., Tripathi, R.D., Dwivedi, S., and Trivedi, P.K. 2009. Thiol metabolism play significant role during cadmium detoxification by *Ceratophyllum demersum* L. Bioresource Technol., 100: 2155-2161.
24. Noorani Azad, H., and Kafilzadeh, F. 2011. The effect of cadmium toxicity on growth, soluble sugars, photosynthetic pigments and some of enzymes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Iran. J. Biol., 24: 854-866.
25. Noorani Azad, H., Hajibagheri, M.R., Chobineh, D., and Ejraee, A.K. 2010. The study of $HgCl_2$ toxicity on the growth and some biochemical traits in Dill (*Anethum graveolens* L.) crop. J. Plant Sci Res., 5: 19-27.
26. Omokolo, N.D., Tsala, N.G., and Djocgoue, P.F. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya Bra. Grif*. Annu. Bot., 77: 153-158.
27. Pourakbar, L., and Ashrafi, R. 2011. Effect of cadmium on generation of hydrogen peroxide and activities of some antioxidant enzymes in maize (*Zea mays* L). Iran. J. Appl Linguistics., 9: 484-473.
28. Schneider, T., Schellenberg, M., Meyer, S., Keller, F., Gehrig, P., Lee, Y., Eberl, L., Martinoia, E., and Riedel, K.M. 2009. Quantitative detection of changes in the leaf-mesophyll tonoplast proteome in dependency of a cadmium exposure of barley (*Hordeum vulgare* L.) plants. Proteomics., 9: 2668-2677.
29. Sudhakar, S., Li, Y., Katz, M.S., and Elango, N. 2001. Translational regulation is a control point in $RUNX_2$/$Cbfa_1$ gene expression. Biochem. Bioph. Res. Co., 289: 616-22.

30.Smeets, K., Ruytinx, J., Semane, B., Belleghem, F.V., Remans, T., Sanden, S.V., Vangronsveld, J., and Cupers, A. 2008. Cadmium-induced transcriptional and enzymatic alterations related to oxidative stress. Environ. Exp. Bot., 63: 1-8.
31.Sandalio, L.M, Dalurzo, H.C, Gomez, M., Romero-Puertas, M., and del-Rio, L.A. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. J. Exp. Bot., 52: 2115-2126.
32.Singh Gill, S., and Tuteja, N. 2010. Reactive Oxygen Species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol. Biochem., 48: 909-930.
33.Shah, K., Kumar, R.G., Verma, S., and Dubey, R.S. 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Sci., 161: 1135-1144.
34.Tewari, R.K., Kumar, P., and Sharma, P.N. 2005. Sign of oxidative stress in the chlorotic leaves of iron starved plants. Plant Sci., 169: 1037-1045.
35.Verma, S., and Dubey, R.S. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biol. plantarum., 44: 117-123.
36.Wang, H., Zhao, S.C., Liu, R.L., Zhou, W., and Jin, J.Y. 2009. Changes of photosynthetic activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to cadmium stress. Photosynthetica., 47: 277-283.
37.Yilmaz, H., Taskin, T., and Otludil, B. 2003. Polyphenol oxidase activity during rooting in cuttings of grapes (*Vitis vinifera* L.) varieties. Turk. J. Bot., 27: 495-498.
38.Zhang, X.X, Fan, X.M, Li, C.J, and Nan, Z.B. 2010. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and antioxidative enzymes in *Achnatherum inebrians* plants infected with *Neotyphodium* endophyte. Plant Growth Regul., 60: 91-97.
39.Zhou, Z.S, Huang, S.Q., Gou, K., Mehta, S.K., Zhang, P.C., and Yang, Z.M. 2007. Metabolic adaptations to mercury-induced oxidative stress in roots of *Medicago sativa* L. J. Inorg. Biochem., 101: 1-9.
40. Zhao, Z.S, Wang, S.J., and Yang, Z.M. 2008. Biological detection and analysis of mercury toxicity to alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. Chemosphere., 70: 1500-1509.
41.Zhang, F., Zhang, H., Wang, G., Xu, L., and Shen, Z. 2009. Cadmium-induced accumulation of hydrogen peroxide in the leaf apoplast of *Phaseolus aureus* and *Vicia sativa* and the roles of different antioxidant enzymes. J. Hazard Mater., 168: 76-84.

EJCP., Vol. 7 (4): 179-195
http://ejcp.gau.ac.ir

The effect of cadmium and mercuric chlorides on some physiological traits of wheat two cultivars

S.Y. Raeesi Sadati[1] and S. Jahanbakhsh Godekahriz[2*]
[1]M.Sc. Student, Dept. of Agriculture Biotechnology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2]Assistant Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
Received: 6-1-2014 ; Accepted: 3-12-2014

Abstract

One of the major abiotic stresses that affected negatively cereals such as wheat is the heavy metals. Soil pollution with heavy metals, resulting from the industrial development and use of fertilizers containing heavy metals become one of the major environmental concerns in society. One way to counteract the negative effects of heavy metals is the production of active oxygen species by antioxidant enzyme activities in plant cells. In order to study the physiological traits involved in resistance to the stresses an experiment was conducted in a factorial experiment based on completely randomized design with three replications. The first factor consisted of Gonbad (tolerant) and Tajan (susceptible) wheat cultivars. The second factor was seven levels of heavy metals (mercury chloride at concentrations of 5, 10, 15 and 20 µM, cadmium chloride at a concentration of 0.25 and 0.5 mM and control) and the third factor was sampling times after treatments at two levels (8 and 16 hours). The results showed that the concentration of the total protein and soluble sugar content were increased with cadmium and mercuric chloride treatment. Increasing concentration of mercuric chloride were reduced catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity but increasing concentration of cadmium chloride enzyme activity increased activity of these enzymes. Thus, this study showed that treatment with cadmium and mercuric chloride at micromolar levels can stimulate plant antioxidant enzyme and make plants more tolerant to the stresses such as heavy metals.

Keywords: Antioxidant enzymes, Cadmium chloride, Mercuric chloride, Physiological traits, Wheat

*Corresponding author; jahanbakhsh@uma.ac.ir