

ارزیابی فعالیت بعضی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت سمیت کادمیوم در دو رقم گندم

ایمان جوادزین^۱، *بابک متشعزاده^۲ و علی احمدی^۳

^۱دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ^۲دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ^۳استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۶

چکیده

سابقه و هدف: گندم یکی از غلاتی است که به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه و پرجمعیت دارای نقش مهمی در تامین غذای افراد جامعه است. بنابراین توجه به جزئی‌ترین مسائل در رابطه با این محصول راهبردی، اهمیت بسیار زیادی در تامین امنیت غذایی و حفظ استقلال کشور دارد. اولین پاسخ گیاهان به محض قرارگیری در معرض سطوح بالای فلزات سنگین از جمله کادمیوم، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است. در بررسی تأثیر سمیت کادمیوم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در ارقام مختلف گندم، فعالیت این آنزیم تحت شرایط تنش افزایشی قابل‌توجه نشان داد (۳۲). خان و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تحت تنش کادمیوم، فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز (APX) در همه ارقام گندم مورد بررسی، افزایش یافت (۲۵). میلونه و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که در گندم تیمار شده با کادمیوم، فعالیت آنزیم پروکسیداز (POX) افزایش یافت (۳۲). فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در برنج تحت شوری، افزایش یافت (۳۴). با توجه به اهمیت موضوع، این پژوهش با هدف بررسی مقدار برداشت کادمیوم و تغییرات فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پروکسیداز و گویاکول پروکسیداز) طی سه مرحله نمونه‌برداری در دو رقم گندم نان ایرانی به مرحله اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش طی سه زمان نمونه‌برداری (۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از کشت بذر) در دو رقم گندم نان ایرانی در قالب آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در گلخانه پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح کادمیوم صفر (Cd₀ (شاهد)، ۲۵ (Cd₂₅)، ۵۰ (Cd₅₀) و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم (Cd₁₀₀) (از منبع نترات کادمیوم) و دو رقم گندم (آزادی و الوند) بود.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش سطح کادمیوم از Cd₀ تا Cd₅₀ فعالیت آنزیم SOD در هر یک از زمان‌های نمونه‌برداری در دو رقم آزادی و الوند افزایش یافت. در تیمار Cd₁₀₀ فعالیت آنزیم SOD در هر دو رقم و در هر سه زمان نمونه‌برداری کاهش یافت. شدت کاهش در زمان سوم نمونه‌برداری به‌طور مشخص بیش از دو مرحله قبلی بود، به‌عنوان مثال در رقم الوند و آزادی در تیمار Cd₁₀₀ نسبت به تیمار Cd₅₀ فعالیت آنزیم SOD به‌ترتیب ۳۹ و ۳۷ درصد کاهش نشان داد. در یک زمان نمونه‌برداری مشخص، با افزایش سطح کادمیوم خاک، فعالیت آنزیم CAT در هر دو رقم آزادی و الوند کاهش یافت. بیش‌ترین کاهش فعالیت این آنزیم در رقم الوند، در تیمار Cd₁₀₀ نسبت به

* مسئول مکاتبه: moteshare@ut.ac.ir

تیمار شاهد و در زمان سوم نمونه‌برداری با ۷۳ درصد کاهش مشاهده شد. همانند آنزیم SOD فعالیت آنزیم POX نیز با افزایش سطح کادمیوم خاک، افزایش یافت، با این تفاوت که بر خلاف آنزیم SOD فعالیت این آنزیم به‌طور پیوسته روندی افزایشی تا تیمار Cd₁₀₀ نشان داد. با افزایش سطح کادمیوم خاک، فعالیت آنزیم APX در هر دو رقم آزادی و الوند افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی و با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت رقم الوند توانایی بیش‌تری در تجمع کادمیوم نسبت به رقم آزادی نشان داد که این خصوصیت، از دیدگاه امنیت غذایی (علی‌رغم تولید زیست‌توده بیش‌تر رقم الوند در مقایسه با رقم آزادی)، محدودیت به‌شمار می‌رود.

واژه‌های کلیدی: گندم، کادمیوم، تنش اکسیداتیو، آنزیم

مقدمه

خاک‌های کشاورزی در بسیاری از قسمت‌های جهان کم و بیش به فلزات سنگین از قبیل کادمیوم، مس، روی، نیکل، کبالت، کروم، سرب و آرسنیک آلوده شده‌اند (۴۳). کادمیوم یکی از عناصر سمی است که در محیط زیست تحرک بالایی دارد، در خاک‌های غیرآلوده، مقدار کادمیوم معمولاً کم‌تر از ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم است اما با توجه به ترکیب مواد مادری می‌تواند تا سه میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز برسد (۴۱). منابع اصلی وجود کادمیوم در اراضی کشاورزی کاربرد درازمدت کودهای فسفاته، لجن فاضلاب و ته‌نشست اتمسفری است (۲، ۳۰، ۳۷). کادمیوم با انتقال از خاک به گیاه و سپس به زنجیره غذایی انسان، از سال‌ها قبل به‌عنوان یک نگرانی زیست‌محیطی مطرح است (۴۲). طبق آمار، مقدار توزیع (شامل واردات و تولید) کودهای فسفاته در سال ۱۳۸۸ در سطح کشور رقمی بالغ بر ۷۳۷ هزار و ۸۵۹ تن بوده است (آمارنامه جهاد کشاورزی، ۲۰۱۲) که با احتساب مقدار متوسط و خوش‌بینانه ۲۵ میلی‌گرم کادمیوم به‌زای هر کیلوگرم کود فسفاته (هر کیلوگرم کود فسفاته به‌طور متوسط تا ۱۷۰ میلی‌گرم کادمیوم می‌تواند داشته باشد (۲۵) و با فرض مرغوب بودن سنگ فسفات اولیه، فقط در سال ۸۸ مقدار ۱۸ هزار و ۴۴۷ کیلوگرم کادمیوم از طریق کودهای فسفاته به

ناچار وارد اراضی کشاورزی کشور شده است. روندی که سال‌ها ادامه داشته است. بنابراین توجه به مقدار ورودی کادمیوم به سبب غذایی خانوارها از طریق گندم به‌ویژه در جامعه ایران که نقش نان همواره در تامین غذای جامعه برجسته است، اهمیت دارد. اولین پاسخ گیاهان به محض این که در معرض سطوح بالای فلزات سنگین از قبیل کادمیوم قرار می‌گیرند، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است. سمیت فلزات سنگین به‌طور مستقیم از طریق واکنش هابر-ویس منجر به ROS و تنش اکسیداتیو^۲ در گیاهان می‌شود (۱۷)، سازوکارهای غیرمستقیم اثرگذاری این فلزات نیز شامل برهم‌کنش با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، اختلال در زنجیره انتقال الکترون یا اختلال در متابولیسم عناصر غذایی گیاهان است. به هر حال گیاهان راهبردهایی را جهت مقابله با اثرات مخرب سمیت فلزات سنگین در طول تکامل توسعه داده‌اند (۱۷). گیاهان عالی جهت مقابله با ROS، مجهز به سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیداتیو شده‌اند (۱۸). تعادلی که بین تولید و حذف ROS در گیاهان وجود دارد، بر اثر تنش‌های زیستی و غیرزیستی از قبیل شوری، تابش فرابنفش، خشکی، فلزات سنگین، درجه حرارت‌های بالا، کمبود عناصر غذایی، آلودگی هوا،

1- Reactive Oxygen Species (ROS)

2- Oxidative Stress

تنش کادمیوم، فعالیت آنزیم APX در همه ارقام گندم مورد بررسی، افزایش یافته بود (۲۵). هسو و کائو (۲۰۰۷) گزارش کردند که تیمار جوانه‌های برنج با پراکسید هیدروژن، منجر به افزایش فعالیت آنزیم APX و محافظت از جوانه‌های برنج تحت تنش کادمیوم شد (۲۲). میلونه و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که در گندم تیمار شده با کادمیوم، فعالیت آنزیم POX افزایش یافت (۳۲). افزایش فعالیت این آنزیم در جوانه‌های برنج تحت تنش شوری نیز گزارش شده است (۲۶). فعالیت آنزیم CAT در بسیاری از گیاهان بررسی شده است (۳۶). در بررسی فعالیت آنزیم CAT در برنج مشخص شد که فعالیت این آنزیم تحت تنش شوری افزایش یافت (۳۴). توجه ویژه به این نکته ضروری است که اولین تغییرات ناشی از حضور کادمیوم در خصوصیات زیستی-شیمیایی و در حد مولکولی در گیاهان رخ می‌دهد و سپس این اثرات خود را در عوارض ظاهری مانند کاهش عملکرد نشان می‌دهد. بنابراین اگر این تغییرات به موقع و با کمک ارزیابی شاخص‌های زیستی-شیمیایی که شاخص‌هایی ارزشمند جهت بررسی این تغییرات هستند، شناسایی شود، قبل از کاهش عملکرد و مهم‌تر از آن قبل از ورود غیرقابل بازگشت مقادیر بحرانی کادمیوم به زنجیره غذایی جامعه‌ای مانند ایران که نان در سبد غذایی خانوارهای آن حضور پررنگی داشته و همیشگی داشته است، فرصت کافی جهت اتخاذ تصمیم‌ها و اقدامات مناسب و متناسب با شرایط ایجاد شده وجود خواهد داشت. گندم یکی از غلاتی است که به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه و پر جمعیت دارای نقش مهمی در تامین غذای افراد جامعه است. بنابراین توجه به جزئی‌ترین مسائل در رابطه با این محصول راهبردی، اهمیت بسیار زیادی در تامین امنیت غذایی و حفظ استقلال کشور دارد. با توجه به اهمیت موضوع، این پژوهش با هدف بررسی مقدار جذب کادمیوم و تغییرات فعالیت

حمله آفات و بیماری‌ها دچار اختلال می‌شود (۲۲). چنین اختلالاتی منجر به افزایش ناگهانی ROS در درون سلول می‌شود که ترکیباتی بسیار واکنش‌پذیر بوده و باعث آسیب رساندن به پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، ساختار DNA و در نهایت مرگ سلول می‌شود (۲۲). تنش ناشی از تجمع ROS می‌تواند به واسطه سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پروکسیداز (APX)، گویاکول پروکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) محدود و کنترل شود (۲۲). آنزیم SOD مؤثرترین آنزیم آنتی‌اکسیدان است که در تمام موجودات هوازی حضور دارد و به‌عنوان اولین خط دفاعی سلول در برابر ROS شناخته می‌شود. این آنزیم سبب حذف رادیکال اکسیژن و تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به‌عنوان محصول واکنش می‌شود (۲۲). آنزیم APX سبب احیای پراکسید هیدروژن می‌شود. ویژگی بارز این آنزیم، کاهش سریع کارایی آن در حضور مقادیر بیش از حد پراکسید هیدروژن است (۲۲). آنزیم POX نیز مانند APX سبب حذف پراکسید هیدروژن می‌شود با این تفاوت که با اکسیداسیون یک پیش‌ماده مانند ترکیبات فنولیک پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کند (۲۲). آنزیم CAT به‌طور مستقیم پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند. این آنزیم یکی از سریع‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است به‌طوری‌که یک مولکول از آن می‌تواند در کم‌تر از یک دقیقه تقریباً شش میلیون مولکول پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه کند (۲۲). در بررسی تأثیر تنش کادمیوم بر فعالیت آنزیم SOD در ارقام مختلف گندم، فعالیت این آنزیم تحت شرایط تنش افزایشی قابل توجه نشان داد (۳۲). افزایش فعالیت این آنزیم در حضور کادمیوم در سایر محصولات زراعی از جمله گندم و لوبیا، توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (۱۱، ۳۴، ۳۶). خان و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تحت

پتاسیم از منبع کلرید پتاسیم به خاک تمام گلدان‌ها افزوده شد (جدول ۱).

شاخص‌های انتخاب دو رقم از بین ارقام مختلف گندم جهت کشت در آزمایش بر اساس آزمایش پیش‌تیمار و با توجه به تغییرات وزن خشک اندام هوایی و مقدار کادمیوم در اندام هوایی چهارده رقم ابتدایی مورد بررسی (شامل ارقام بهار، نیک‌نژاد، مرودشت، پارسی، سیوند، شیراز، روشن، پیش‌تاز، آزادی، شهریار، پیشگام، امید، الوند و نوید) بود. واحدهای آزمایش شامل گلدان‌های سه کیلوگرمی بود. تعداد پانزده بذر در هر گلدان کشت شد که پس از ده روز به تعداد ۱۰ گیاهچه در هر گلدان کاهش یافت. شرایط دمایی گلخانه بین ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس حفظ شد. آبیاری گلدان‌ها به مدت ۶۰ روز با آب مقطر به روش وزنی صورت گرفت. مرحله اول نمونه‌برداری ۳۰ روز پس از کشت صورت گرفت. جهت انتخاب نمونه مناسب برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها، از بین ۱۰ بوته هر واحد آزمایشی، یک بوته انتخاب شد که وضعیتی مشابه از لحاظ میزان رشد و موقعیت آن در اکثر گلدان‌ها داشت. سپس برگ دوم و سوم از بالا که رشد رویشی کافی داشت، برداشت شد و بلافاصله در نیتروژن مایع به منظور توقف فعالیت آنزیم در لحظه نمونه‌برداری، منجمد شد. نمونه‌ها بلافاصله به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. مرحله دوم نمونه‌برداری پس از ۴۵ روز و مرحله سوم نمونه‌برداری پس از ۶۰ روز از شروع کشت برای تهیه نمونه‌های سنجش فعالیت آنزیم صورت گرفت. مقدار کادمیوم پس از هر مرحله نمونه‌برداری در بخش هوایی و ریشه با استفاده از دستگاه جذب اتمی (شیمادزو AA-6800) اندازه‌گیری شد (۱۳).

برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پروکسیداز و گویاکول پروکسیداز) طی سه مرحله نمونه‌برداری در دو رقم گندم نان ایرانی به مرحله اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

مرحله کاشت و نمونه‌برداری از ارقام مورد بررسی در گلخانه: برای انجام این پژوهش، آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح کادمیوم صفر Cd_0 (شاهد)، ۲۵ (Cd_{25}) ، ۵۰ (Cd_{50}) و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم (Cd_{100}) و دو رقم گندم (آزادی و الوند) بود. تیمارهای کادمیوم از طریق افزایش نمک نترات کادمیوم $(Cd(NO_3)_2 \cdot 2H_2O)$ به خاک گلدان‌ها اعمال شد. سه زمان نمونه‌برداری به فواصل ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از کشت انتخاب شد. گلدان‌ها قبل از کشت بذر، به مدت شش ماه به منظور ایجاد تعادل در خاک در شرایط برخوابش (انکوباسیون) نگهداری شد. جهت ضدعفونی کردن بذر، ابتدا بذرها به مدت ۳۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۹۶ درصد غوطه‌ور شده سپس برای ۱۵ ثانیه در محلول آب اکسیژنه قرار گرفته و در نهایت با آب مقطر شسته شدند. قبل از کشت، خاک زراعی از مزرعه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن بر اساس روش‌های استاندارد تعیین گردید (۱۳). حد بحرانی پتاسیم برای کشت گندم در خاک‌های کشور ۲۵۰ میلی‌گرم پتاسیم در کیلوگرم خاک گزارش شده است (۳۱)، بنابراین ۱۰۰ میلی‌گرم

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش.

Table 1. Physical and chemical properties of the soil tested.

مقدار content	خصوصیت property	مقدار content	خصوصیت property
17.00	فسفر قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم) Available P (mg kg ⁻¹)	لوم رسی	کلاس بافت خاک Soil texture class
4.38	مس قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم) Available Cu (mg kg ⁻¹)	8.10	اسیدیته و قلیائیت خاک Soil pH
5.66	آهن قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم) Available Fe (mg kg ⁻¹)	1.55	قابلیت هدایت الکتریکی (dSm ⁻¹) Electrical conductivity (dSm ⁻¹)
3.33	منگنز قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم) Available Mn (mg kg ⁻¹)	12.20	ظرفیت تبادل کاتیونی (cmol.kg ⁻¹) CEC (Cmole kg ⁻¹)
2.69	روی قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم) Available Zn (mg kg ⁻¹)	8.00	کربنات کلسیم معادل (درصد) Equivalent calcium carbonate (%)
0.75	کادمیوم (میلی گرم بر کیلوگرم) Cd (mg kg ⁻¹)	0.09	نیتروژن کل (درصد) Total Nitrogen (%)
		170.00	پتاسیم قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم) Available K (mg kg ⁻¹)

۱/۵ میلی لیتر تقسیم شد و بلافاصله به تانکر نیتروژن مایع منتقل گردید. از عصاره به دست آمده برای سنجش فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، APX و POX توسط دستگاه الیزا ریدر^۱ استفاده شد. محتوی پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش براد فورد (۱۹۷۶) تعیین شد (۷). فعالیت آنزیم SOD طبق روش دیندسا و همکاران (۱۹۸۰) انجام گرفت (۱۲). مقدار جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم‌های CAT و POX با استفاده از روش چاک ماک و همکاران (۱۹۹۳) اندازه‌گیری شد (۱۰). در سنجش فعالیت آنزیم CAT با افزودن پراکسید هیدروژن، مقدار آن بر اثر تجزیه شدن به واسطه فعالیت آنزیم CAT شروع به کاهش کرد و مقدار کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر برای یک دقیقه ثبت شد. در سنجش فعالیت آنزیم POX اکسیداسیون گویاگول در طول موج ۴۹۰ نانومتر و

عصاره‌گیری پروتئین و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: عصاره‌گیری پروتئین نمونه‌ها به روش چو و سئو (۲۰۰۵) انجام شد (۱۱). برای این منظور، ۰/۵ گرم از نمونه‌های منجمد شده در یک هاون ریخته شد و سپس دو میلی لیتر بافر فسفات (بافر استخراج) ۱۰۰ میلی مولار (با اسیدیته ۷/۸) که محتوی EDTA ۰/۱ میلی مولار و پلی‌وینیل پیرولیدون (PVPP) یک درصد بود، اضافه شد و در ادامه با استفاده از نیتروژن مایع محتویات هاون ساییده شد تا یک مخلوط همگن تهیه شود. محتویات هاون به یک لوله ۱۵ میلی لیتری منتقل شد و توسط دستگاه سانتریفیوژ برای مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲ هزار دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. استخراج همه نمونه‌ها در مدت کوتاهی انجام و همواره از بافر تازه استفاده شد. پس از سانتریفیوژ نمودن نمونه‌ها، مایع رویی داخل فالكون‌های ۱۵ میلی لیتر در پنج لوله اپندورف

1- Coastar UV-Plate

مشخص، فعالیت ویژه آنزیم بر حسب واحد فعالیت بر میلی‌گرم پروتئین در آن تیمار به دست آمد. تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین در سطح پنج درصد با آزمون LSD صورت گرفت.

نتایج و بحث

کادمیوم ریشه و بخش هوایی: نتایج تجزیه واریانس مربوط به اثر تیمارهای آزمایش بر مقدار کادمیوم ریشه و بخش هوایی هر دو رقم مورد بررسی نشان داد که از یک طرف بین سطوح مختلف کادمیوم و از طرف دیگر بین ارقام آزادی و الوند از نظر مقدار کادمیوم در ریشه و بخش هوایی تفاوت معنی‌داری وجود داشت، همچنین اثرات متقابل دو عامل رقم و کادمیوم برای مقدار کادمیوم معنی‌دار بود (جدول ۲).

تغییرات مقدار جذب ثبت شد. فعالیت آنزیم APX به روش آسادا (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد، برای این منظور، کاهش جذب مخلوط واکنش و سرعت کاهش پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه الیزا ریدر قرائت شد (۴). در این پژوهش از روش سنجش پیوسته^۱، پس از محاسبه مقدار جذب اصلاح شده که از تفاضل میزان جذب در چاهک‌های حاوی پروتئین (میکروپلیت‌ها) نمونه و چاهک‌های خالی به دست می‌آید، اقدام به رسم نمودار پراکندگی بین مقدار جذب اصلاح شده و سری زمانی قرائت جذب‌ها شد. سپس شیب خط این نمودار به دست آمد که بیانگر واحد فعالیت آنزیم است. از تقسیم این مقدار بر مقدار هر یک از پروتئین‌های نمونه‌های مورد آزمایش در یک تیمار

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مقدار کادمیوم در دو رقم گندم در سطوح مختلف کادمیوم در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری.

Table 2. Analysis of variance cadmium in two cultivars of wheat at different time of sampling.

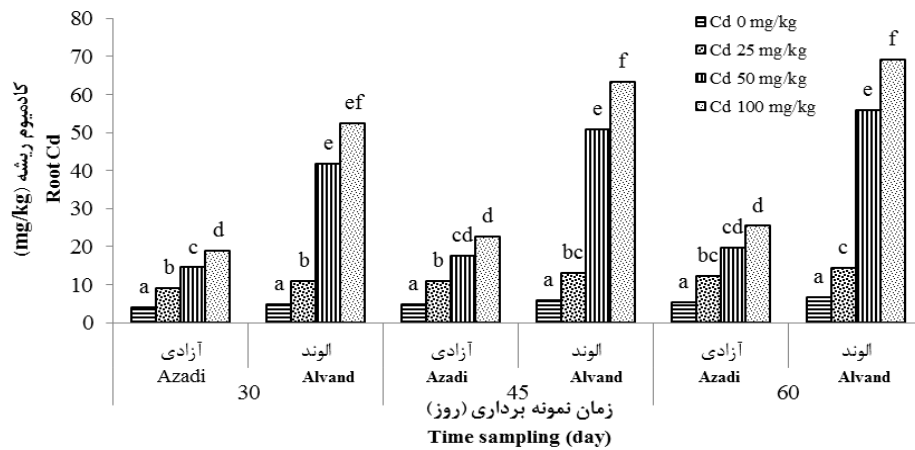
میانگین مربعات MS (Mean-square)						مراحل مختلف نمونه‌برداری Different stages of sampling	
مرحله سوم Third stage		مرحله دوم Second stage		مرحله اول First stage		محل نمونه‌برداری Location of Sampling	
بخش هوایی Shoot	ریشه Root	بخش هوایی Shoot	ریشه Root	بخش هوایی Shoot	ریشه Root	درجه آزادی Degrees of freedom	منابع تغییر Sources of change
370.44**	2306.35**	303.80**	1914.27**	210.10**	1313.13**	3	کادمیوم Cadmium
425.55**	2596.88**	341.25**	2229.74**	239.37**	1496.05**	1	رقم Cultivar
115.18**	748.97**	99.22**	637.82**	69.65**	435.31**	3	کادمیوم*رقم Cadmium*Cultivar
0.53	3.29	0.23	4.44	0.39	3.07		خطا MS

^{ns} غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح پنج درصد و ** معنی‌دار در سطح یک درصد.

^{ns}, * and **, Not significant, significant in P<0.05 and P<0.01, respectively.

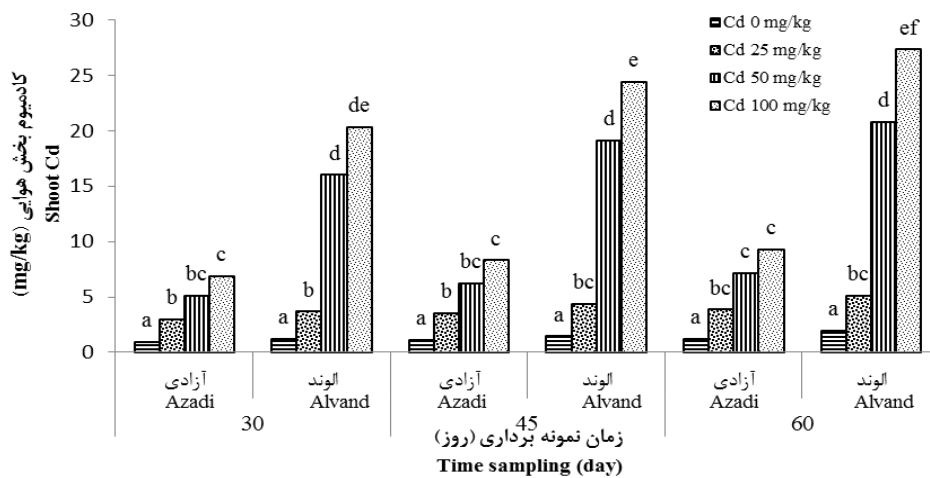
۳۸۹ درصد افزایش مشاهده شد. وضعیتی شبیه به کادمیوم ریشه در رابطه با کادمیوم بخش هوایی نیز مشاهده شد، به این معنی که با افزایش سطح کادمیوم خاک، برداشت و انتقال آن به بخش هوایی هر دو رقم مورد بررسی نیز افزایش یافت، با این تفاوت که مقدار کادمیوم در بخش هوایی رقم الوند بیش از رقم آزادی بود (شکل‌های ۱ و ۲). نویسندگان در پژوهشی گزارش کردند که جذب کادمیوم در بخش هوایی ارقام مختلف گندم موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی گردید (۲۴).

در هر سه زمان نمونه‌برداری با افزایش سطح کادمیوم خاک، مقدار آن در ریشه هر دو رقم مورد بررسی افزایش یافته بود. نکته قابل توجه بیشتر بودن مقدار کادمیوم جذب شده توسط رقم الوند در مقایسه با رقم آزادی در هر سه زمان نمونه‌برداری بود، به‌عنوان مثال مقدار کادمیوم ریشه در زمان اول نمونه‌برداری در رقم الوند در تیمارهای Cd₂₅، Cd₅₀ و Cd₁₀₀ به ترتیب ۱/۱، ۲/۸۸ و ۲/۷۷ برابر مقدار کادمیوم جذب شده توسط رقم آزادی بود. بیش‌ترین افزایش مقدار کادمیوم ریشه در زمان دوم نمونه‌برداری و در رقم الوند در تیمار Cd₅₀ نسبت به تیمار Cd₂₅ با



شکل ۱- تغییرات غلظت کادمیوم ریشه در سطوح مختلف کادمیوم در مراحل مختلف نمونه‌برداری.

Figure 1. Changes in the concentration of cadmium roots in different levels of cadmium in different stages of sampling.



شکل ۲- تغییرات غلظت کادمیوم بخش هوایی در سطوح مختلف کادمیوم در مراحل مختلف نمونه‌برداری.

Figure 2. Changes in the concentration of cadmium shoots in different levels of cadmium in different stages of sampling.

متابولیسمی برای مقابله با سمیت عناصر سنگین دارند (۱۲)، به نظر می‌رسد مقاومت بالاتر رقم الوند به دلیل سمیت‌زدایی کادمیوم درون سلول‌های این رقم باشد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: کادمیوم با تولید گونه‌های فعال اکسیژن سبب بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (۳۵). برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، گیاهان در طول تکامل مجهز به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده‌اند (۳۵).

نتایج جدول تجزیه واریانس مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در زمان اول نمونه‌برداری مشخص کرد که به‌استثنای آنزیم آسکوربات پروکسیداز، برای سایر آنزیم‌ها بین دو رقم آزادی و الوند و همچنین بین سطوح مختلف کادمیوم، تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P \leq 0.01$) (جدول ۳). در رابطه با وضعیت فعالیت آنزیم‌ها در زمان‌های دوم و سوم نمونه‌برداری (جدول‌های ۴ و ۵) ملاحظه شد بین دو رقم آزادی و الوند و همچنین چهار سطح کادمیوم تفاوت معنی‌داری برای همه آنزیم‌های مورد بررسی وجود داشت ($P \leq 0.01$). سایر نتایج با مراجعه به جدول‌های ۳ تا ۵ قابل مشاهده است.

مقدار کل کادمیوم خاک یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در مقدار کادمیوم گیاهان رشد کرده در خاک‌های آلوده می‌باشد (۴۳). در حضور کادمیوم در خاک، بین این آلاینده و عناصر ریزمغذی دوظرفیتی گیاه برای جذب شدن رقابت ایجاد می‌شود که در این حالت گیاهان برای جذب عناصر ریزمغذی که به واسطه اثر رقت و رقابت با کادمیوم جذب آن‌ها دچار مشکل شده است، شروع به ترشح سیدروفور کرده که همین مسأله منجر به جذب بیش‌تر کادمیوم توسط ریشه و انتقال آن به بخش هوایی گیاه می‌شود (۳۱)، از طرفی پتانسیل سمیت فلزات سنگین در محیط زیست، بستگی به مقدار آن در محلول خاک دارد و هرچه مقدار فلزات در فاز محلول بیش‌تر باشد، جذب آن‌ها توسط گیاه نیز بیش‌تر خواهد بود (۸). افزایش برداشت کادمیوم توسط گیاه همگام با افزایش مقدار آن در خاک توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (۳۸). بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان گفت بین دو رقم آزادی و الوند از لحاظ برداشت کادمیوم از محیط رشد تفاوت معنی‌داری وجود داشت، تجمع بیش‌تر کادمیوم در ریشه و بخش هوایی رقم الوند نسبت به رقم آزادی را می‌توان به سازگاری بهتر این رقم در تجمع کادمیوم درون سلول‌های خود نسبت داد. گیاهان سازوکارهای مختلفی از قبیل جلوگیری از تجمع عناصر، سمیت‌زدایی و مقاومت

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم گندم در سطوح مختلف کادمیوم در زمان اول. نمونه‌برداری.

Table 3. Analysis of variance activity of antioxidants enzymes at different levels of cadmium in first time of sampling.

میانگین مربعات MS (Mean-square)				
خطا	رقم * کادمیوم Cadmium * Cultivar	کادمیوم Cadmium	رقم Cultivar	منابع تغییر Sources of change
MS	3	3	1	درجه آزادی Degrees of freedom
0.003	2.03**	217.05**	7.26**	SOD
0.02	1.67*	1679.25**	80.66**	CAT
0.11	875.77 ^{ns}	159924.88**	24.00 ^{ns}	APX
2.43	205370.49**	9934464.93**	812176.04**	POX

^{ns} غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح پنج درصد و ** معنی‌دار در سطح یک درصد.

^{ns}, * and **, Not significant, significant in $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم گندم در سطوح مختلف کادمیوم در زمان دوم. نمونه‌برداری.

Table 4. Analysis of variance activity of antioxidants enzymes at different levels of cadmium in second time of sampling.

خطا	میانگین مربعات MS (Mean-square)			منابع تغییر Sources of change
	رقم*کادمیوم Cadmium*Cultivar	کادمیوم Cadmium	رقم Cultivar	
MS	3	3	1	درجه آزادی Degrees of freedom
0.29	0.34**	261.37**	3.30**	SOD
0.03	16.30*	8786.64**	173.88**	CAT
0.31	3.38 ^{ns}	161330.77**	661.50**	APX
4.33	56442.71**	6315076.04**	251126.04**	POX

^{ns} غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح پنج درصد و ** معنی‌دار در سطح یک درصد.

^{ns}, * and **, Not significant, significant in P<0.05 and P<0.01, respectively.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم گندم در سطوح مختلف کادمیوم در زمان سوم. نمونه‌برداری.

Table 5. Analysis of variance activity of antioxidants enzymes at different levels of cadmium in third time of sampling.

خطا	میانگین مربعات MS (Mean-square)			منابع تغییر Sources of change
	رقم*کادمیوم Cadmium*Cultivar	کادمیوم Cadmium	رقم Cultivar	
MS	3	3	1	درجه آزادی Degrees of freedom
0.01	1.11**	347.42**	18.90**	SOD
0.12	26.96*	10019.32**	96.40**	CAT
0.54	21.66*	190731.83**	682.66**	APX
2.47	21903.82**	9801128.82**	245026.09**	POX

^{ns} غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح پنج درصد و ** معنی‌دار در سطح یک درصد.

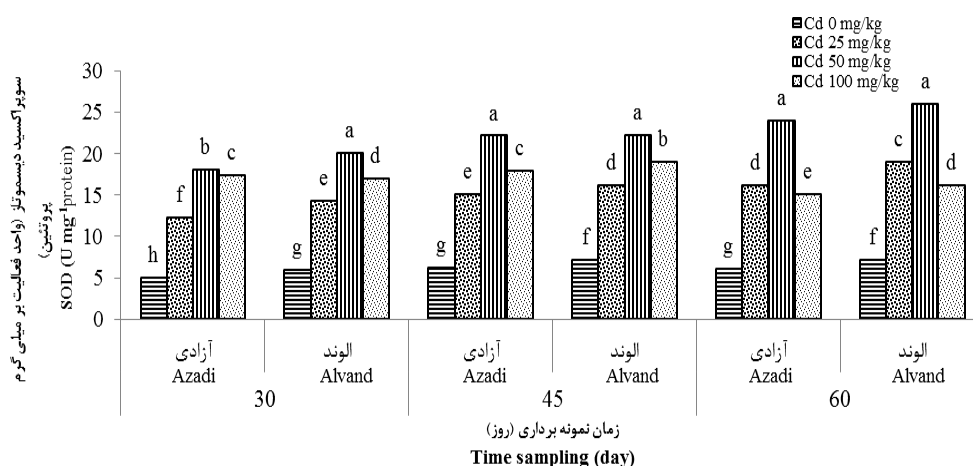
^{ns}, * and **, Not significant, significant in P<0.05 and P<0.01, respectively.

دو رقم آزادی و الوند افزایش یافت (شکل ۳). بیش‌ترین افزایش در زمان سوم نمونه‌برداری در رقم آزادی با ۴۰۰ درصد افزایش فعالیت آنزیم SOD در تیمار Cd₅₀ نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد، در رقم

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: آنزیم SOD اولین خط دفاعی سلول در برابر تنش اکسیداتیو است (۱۷). با افزایش سطح آلودگی کادمیوم از Cd₀ تا Cd₅₀ فعالیت آنزیم SOD در هر یک از زمان‌های نمونه‌برداری در

آنتی‌اکسیداتیو در رقم الوند بیش از رقم آزادی باشد. در تیمار Cd₁₀₀ فعالیت آنزیم SOD در هر دو رقم و در هر سه زمان نمونه‌برداری کاهش یافت. شدت کاهش در زمان سوم نمونه‌برداری به‌طور مشخص بیش از دو مرحله قبلی بود، به‌طوری‌که در رقم الوند و آزادی در تیمار Cd₁₀₀ نسبت به تیمار Cd₅₀ فعالیت آنزیم SOD به‌ترتیب ۳۹ و ۳۷ درصد کاهش نشان داد. کاهش فعالیت این آنزیم در تیمار Cd₁₀₀ را می‌توان به سطح بالای کادمیوم در خاک نسبت داد که به‌نظر می‌رسد بیش از حد آستانه تحمل زیستی و کارایی سیستم آنتی‌اکسیداتیو گندم باشد. نتایجی مشابه در رابطه با افزایش فعالیت آنزیم SOD در حضور کادمیوم و آلومینیوم به‌ترتیب در لوبیا و سویا گزارش شده است (۹، ۴۰). همچنین افزایش فعالیت این آنزیم تحت تنش کادمیوم در ذرت نیز مشاهده شده است (۲۷).

الوند نیز در همین زمان نمونه‌برداری و همین سطح آلودگی، افزایش ۳۷۱ درصدی فعالیت آنزیم SOD مشاهده شد، همچنین با گذشت زمان افزایشی تدریجی در فعالیت آنزیم SOD در هر دو رقم مورد بررسی مشاهده شد. نکته قابل‌توجه افزایش بیش‌تر فعالیت آنزیم SOD با افزایش سطح کادمیوم نسبت به فعالیت همین آنزیم با گذشت زمان در هر دو رقم مورد بررسی است، به‌عبارت دیگر در این آزمایش مشخص شد که سطح تنش نسبت به‌مدت تنش تأثیری بیش‌تر در افزایش فعالیت آنزیم SOD تا تیمار Cd₅₀ داشته است. همچنین به‌طورکلی فعالیت این آنزیم در رقم الوند بیش از رقم آزادی بود، مسأله‌ای که احتمالاً می‌تواند دلیل توانایی بیش‌تر رقم الوند در مقایسه با رقم آزادی برای تجمع بیش‌تر کادمیوم درون سلول‌های خود باشد (شکل‌های ۱ و ۲)، به‌عبارت دیگر این احتمال وجود دارد که کارایی سیستم



شکل ۳- تغییرات فعالیت آنزیم SOD در دو رقم گندم در سه زمان مختلف نمونه‌برداری در سطوح مختلف کادمیوم.

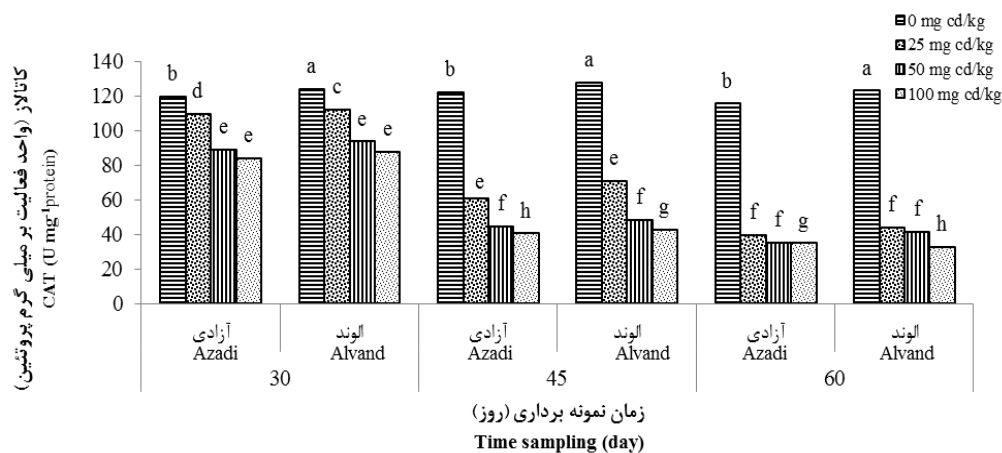
Figure 3. Changes of activity SOD in two cultivars of wheat at three different time of sampling in different levels of cadmium.

CAT در هر دو رقم آزادی و الوند کاهش یافت (شکل ۴). نکته قابل‌توجه کاهش شدیدتر فعالیت این آنزیم با طولانی شدن مدت تنش بود. به‌عنوان مثال فعالیت آنزیم CAT در تیمار Cd₂₅ نسبت به تیمار

آنزیم کاتالاز: آنزیم CAT پراکسید هیدروژن به‌دست آمده از فعالیت آنزیم SOD را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند (۱۷). در یک زمان نمونه‌برداری مشخص، با افزایش سطح کادمیوم خاک، فعالیت آنزیم

شده است. به‌عنوان مثال در بعضی پژوهش‌ها مشخص شد که فعالیت آنزیم CAT در گیاهان تحت تنش کادمیوم از جمله رازیانه، سویا و فلفل کاهش یافت (۶، ۱۱، ۲۶، ۲۸)، در حالی که سایر پژوهشگران افزایش فعالیت این آنزیم را در حضور کادمیوم گزارش کرده‌اند (۱۷، ۱۹، ۳۳، ۳۹). علت کاهش فعالیت آنزیم CAT، برهم‌کنش پروتئین‌های دخیل در ساختار آن با ROS، کاهش تولید آنزیم CAT و تغییر ساختار پیش‌واحد‌های پروتئینی مورد نیاز آن است (۱۵، ۲۰، ۲۹).

شاهد در زمان‌های اول تا سوم نمونه‌برداری برای رقم الوند به‌ترتیب ۱۰، ۴۵ و ۶۴ درصد کاهش نشان داد. بیش‌ترین کاهش فعالیت این آنزیم در رقم الوند، در تیمار Cd₁₀₀ نسبت به تیمار شاهد و در زمان سوم نمونه‌برداری با ۷۳ درصد کاهش مشاهده شد. بر خلاف آنزیم SOD در این پژوهش مشاهده شد که مدت تنش در مقایسه با سطح تنش بیش‌تر سبب کاهش فعالیت آنزیم CAT شد. به‌طورکلی در پژوهش‌های مختلفی که به بررسی تأثیر تنش اکسیداتیو بر فعالیت آنزیم CAT پرداخته‌اند، نتایج مختلفی از افزایش و کاهش فعالیت این آنزیم گزارش



شکل ۴- تغییرات فعالیت آنزیم CAT در دو رقم گندم در سه زمان مختلف نمونه‌برداری در سطوح مختلف کادمیوم.

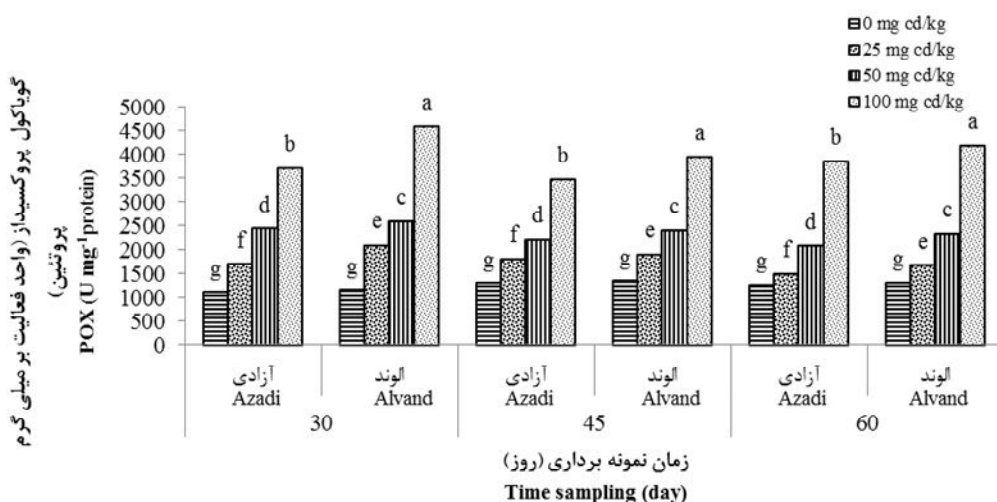
Figure 4. Changes of activity CAT in two cultivars of wheat at three different time of sampling in different levels of cadmium.

تا تیمار Cd₁₀₀ نشان داد، هر چند با طولانی‌تر شدن مدت تنش، فعالیت این آنزیم در مقایسه با زمان اول نمونه‌برداری در هر دو رقم آزادی و الوند کاهش نشان داد (شکل ۵). افزایش بیش‌تر فعالیت آنزیم POX در تیمار Cd₁₀₀ نسبت به افزایش فعالیت آن در دیگر سطوح کادمیوم در هر دو رقم آزادی و الوند مشاهده شد، هر چند این افزایش بیش‌تر فعالیت آنزیم POX در رقم الوند بیش از رقم آزادی بود. به‌عنوان مثال در زمان اول نمونه‌برداری در تیمار Cd₁₀₀ نسبت به تیمار

آنزیم گویاکول پروکسیداز: آنزیم POX ایندول استیک اسید (IAA) را تجزیه کرده و نقش مهمی در تولید زیستی لیگنین و دفاع از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو با تجزیه پراکسید هیدروژن دارد، این آنزیم از ترکیبات آروماتیک از قبیل گویاکول و پیراگالول به‌عنوان الکترون‌دهنده استفاده می‌کند (۵). همانند آنزیم SOD فعالیت آنزیم POX نیز با افزایش سطح کادمیوم خاک، افزایش یافت با این تفاوت که بر خلاف آنزیم SOD فعالیت این آنزیم به‌طور پیوسته روندی افزایشی

کادمیوم توسط سایر پژوهشگران در برنج، گندم، رازیانه و سایر محصولات زراعی نیز گزارش شده است (۳، ۱۱، ۲۲، ۳۲).

شاهد، فعالیت آنزیم POX به ترتیب در اقام آزادی و الوند ۳۳۶ و ۳۶۵ درصد افزایش نشان داد. فعالیت آنزیم POX با توجه به گونه گیاهی و شرایط تنش بسیار متغیر است، افزایش فعالیت این آنزیم در حضور

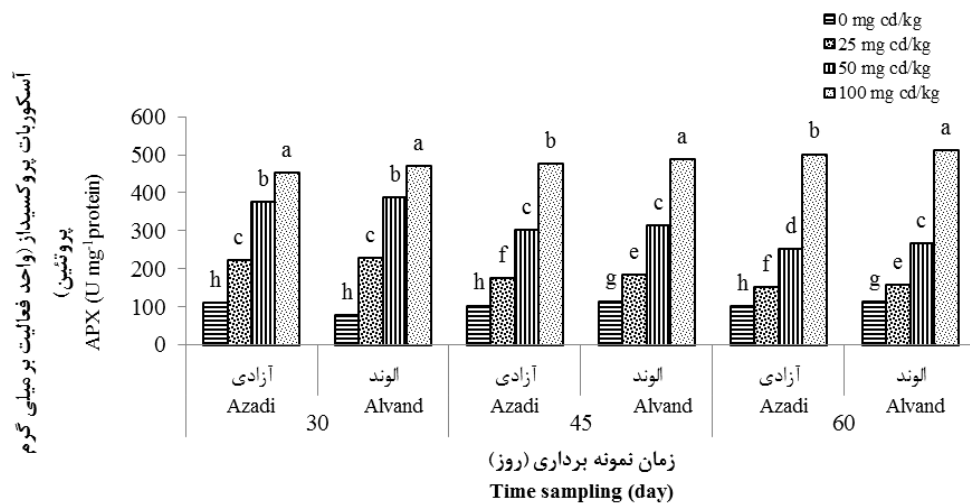


شکل ۵- تغییرات فعالیت آنزیم POX در دو رقم گندم در سه زمان مختلف نمونه برداری در سطوح مختلف کادمیوم.

Figure 5. Changes of activity POX in two cultivars of wheat at three different time of sampling in different levels of cadmium.

تنش، فعالیت آنزیم APX کاهش یافت. در رقم الوند افزایش فعالیت آنزیم APX در Cd₂₅ تیمار نسبت به تیمار شاهد در سه زمان اول، دوم و سوم نمونه برداری به ترتیب ۱۰۴، ۶۰ و ۴۱ درصد افزایش نشان داد که مشابه با وضعیت رقم آزادی، با طولانی شدن مدت تنش، فعالیت این آنزیم کاهش یافت اما این کاهش فعالیت کم تر از رقم آزادی بود، وضعیتی که در تیمار Cd₅₀ نیز مشابه با تیمار Cd₂₅ در هر دو رقم آزادی و الوند مشاهده شد، اما در تیمار Cd₁₀₀ فعالیت آنزیم APX در هر دو رقم مورد بررسی تقریباً ثابت شد (شکل ۶). افزایش فعالیت آنزیم APX در گندم، کلزا و سایر محصولات زراعی تحت تنش کادمیوم توسط دیگر پژوهشگران گزارش شده است (۳، ۲۵، ۳۳).

آنزیم آسکوربات پروکسیداز: آنزیم APX با شرکت در چرخه آسکوربات- گلوکاتینون احیاء شده، از آسکوربات به عنوان الکترون دهنده استفاده کرده و پراکسید هیدروژن را تجزیه می کند. این آنزیم در مقایسه با آنزیم های POX و CAT کارایی بیشتری در حذف ROS دارد (۱۷). به طور کلی با افزایش سطح کادمیوم خاک، مقدار فعالیت آنزیم APX در هر دو رقم آزادی و الوند افزایش یافت، نکته قابل توجه تأثیر عامل مدت تنش بر فعالیت این آنزیم در هر دو رقم مورد بررسی بود، به این معنی که فعالیت آنزیم APX در رقم آزادی در تیمار Cd₂₅ نسبت به تیمار شاهد در زمان های اول، دوم و سوم نمونه برداری به ترتیب ۱۰۵، ۷۵ و ۵۰ درصد افزایش نشان داد، به عبارت دیگر با گذشت زمان و طولانی تر شدن مدت



شکل ۶- تغییرات فعالیت آنزیم APX در دو رقم گندم در سه زمان نمونه برداری در سطوح مختلف کادمیوم.

Figure 6. Changes of activity APX in two cultivars of wheat at three different time of sampling in different levels of cadmium.

کادمیوم در محیط رشد ریشه دارد، مسأله‌ای که در مورد فعالیت آنزیم APX به‌ویژه در زمان اول نمونه برداری (اوایل فصل رشد) صدق نمی‌کند. همچنین می‌توان بررسی و تفسیر فعالیت آنزیم SOD را به‌عنوان مکمل آنزیم POX در ارزیابی مقاومت و امنیت غذایی ارقام مورد بررسی توصیه کرد. با توجه به نتایج متناقض متعددی که در مورد افزایش و کاهش فعالیت آنزیم CAT در محصولات زراعی مختلف تحت تنش کادمیوم گزارش شده است (۶، ۱۱، ۱۷، ۱۹، ۲۳، ۲۸، ۳۳)، بررسی و تفسیر فعالیت این آنزیم به‌عنوان شاخصی مناسب از میزان مقاومت ارقام مختلف گندم باید با احتیاط صورت گیرد. به‌طورکلی و با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت که کارایی سیستم آنتی‌اکسیداتیو رقم الوند بیش از رقم آزادی است. در نهایت برای تعیین ارقام مقاوم و در عین حال مناسب جهت کشت در اراضی آلوده به کادمیوم، انجام پژوهش‌های بیشتر به‌ویژه در زمینه عناصر غذایی و سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ارقام مختلف گندم در مراحل مختلف رشد و در سطوح مختلف کادمیوم خاک ضروری به‌نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در محصولات زراعی تحت تنش از آنجا که منعکس‌کننده اولین واکنش‌های گیاهان است، اهمیت زیادی در ارزیابی وضعیت آلودگی اراضی کشاورزی به فلزات سنگین از قبیل کادمیوم و اتخاذ تصمیم‌های مناسب و متناسب با شرایط تنش دارد. از طرفی می‌توان به بررسی ویژگی‌های کیفی فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهان زراعی در شرایط تنش و پیش از کاهش عملکرد پرداخت. نتایج این پژوهش نشان داد که رقم الوند در مقایسه با رقم آزادی توانایی بیشتری در تجمع کادمیوم در ریشه و بخش هوایی خود دارد، مسأله‌ای که از دیدگاه گیاه‌شناسی یک مزیت و از دیدگاه امنیت غذایی جامعه‌ای مانند ایران که در آن گندم در نقش دروازه ورودی زنجیره غذایی آن محسوب می‌شود یک نقطه ضعف است. از طرفی با توجه به مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم مورد بررسی می‌توان گفت که آنزیم POX به‌دلیل معنی‌دار بودن تفاوت آن بین ارقام الوند و آزادی در سطوح مختلف کادمیوم و در زمان‌های مختلف نمونه برداری حساسیت بیشتری به حضور

منابع

1. Agricultural report. 2011. Ministry statistics (inputs distribution), Statistics and Information of the Ministry of Agriculture, Tehran, Iran.
2. Adams, M.L., Zhao, F.J., McGrath, S.P., Nicholson, F.A., and Chambers, B.J. 2004. Predicting cadmium concentrations in wheat and barley grain using soil properties. *J. Environ. Qual.* 33: 532-541.
3. Arvind, P., and Prasad, M.N.V. 2003. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L: a free-floating freshwater macrophyte, *Plant Physiol. Biochem.* 41: 391-397.
4. Asada, K. 1984. Chloroplasts: formation of active oxygen and its scavenging. *Methods Enzymol.* 105: 422-429.
5. Asada, K. 1999. the water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 601-639.
6. Balestrasse, K.B., L. Gardey, S.M., and Gallego, M.L. 2001. Tomaro, Response of antioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress, *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 497-504.
7. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-54.
8. Buffle, J. 1988. Complexation Reactions in Aquatic Systems, an Analytical Approach, John Wiley and Sons, Chi Chester.
9. Cakmak, I., and Horst, W.J. 1991. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant.* 83: 463-468.
10. Cakmak, I., Strboe, D., and Marschner, H. 1993. Activities of hydrogen peroxide scavenging enzymes in germinating wheat seeds. *J. Exp. Bot.* 44: 127-132.
11. Cho, U.H., and Seo, N.H. 2005. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Sci.* 168: 113-120.
12. Cobbett, C.S. 2000. Phytochelation biosynthesis and function in heavy-metal detoxification: Current opinion. *Plant Biol.* 3: 211-216.
13. Dhindsa, R.S., Dhinsa, P.P., and Thorpe, T.A. 1980. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* 32: 127-132.
14. Emami, A. 1997. Methods of plant analysis Volume I, Soil and Water Research Institute, Technical Bulletin No. 982.
15. Feieraband, J., and Engel, S. 1986. Photo inactivation of catalase in vitro and in leaves, *Arch. Biochem. Biophys.* 251: 567-576.
16. Foyer, C.H., and Noctor, G. 2005. Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell.* 17: 1866-1875.
17. Gill, S.S. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry.* 48: 909-930.
18. Guo, T.G., Zhang, M., Zhou, F., Wu, Z., and Chen, J. 2004. Effects of aluminum and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barley genotypes with different Al resistance. *Plant Soil.* 258: 241-248.
19. Hasan, S.A., Hayat, S., Ali, B., and Ahmad, A. 2008. 28-Homobrassinolide protects chickpea (*Cicer arietinum*) from cadmium toxicity by stimulating antioxidants. *Environ. Pollut.* 151: 60-66.
20. Hertwig, B., Streb, P., and Feieraband, J. 1992. Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. *Plant Physiol.* 100: 1547-1553.
21. Hsu, Y.T., and Kao, C.H. 2004. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Plant Growth Regul.* 42: 227-238.

22. Hsu, Y.T., and Kao, C.H. 2007. Heat shock-mediated H₂O₂ accumulation and protection against Cd toxicity in rice seedlings. *Plant Soil*. 300: 137-147.
23. Iannelli, V., Pietrini, L., Fiore, L., Petrilli, A., and Massacci, M.A. 2002. Antioxidant response to cadmium in *Phragmites australis* plants. *Plant Physiol. Biochem.* 40: 977-982.
24. Javadzarin, I., and Moteszarezhadeh, B., and Tafvizi, M. 2016. Study of Absorption Potassium and Cadmium in Different Wheat (*Triticum aestivum*) Cultivars under Cadmium Stress. *Environmental Stress in Crop Sciences*. 9: 2. 194-205.
25. Kabata-Pendias, A., and Pendia, H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, New York, USA.
26. Khan, N., Samiullah, A., Singh, S., and Nazar, R. 2007. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *J. Agro. Crop Sci.* 193: 435-444.
27. Koji, Y., Shiro, M., Michio, K., Mitsutaka, T., and Hiroshi, M. 2009. Antioxidant capacity and damages caused by salinity stress in apical and basal regions of rice leaf. *Plant Prod. Sci.* 12: 319-326.
28. Lagriffoul, A., Mocquot, B., and Mench, M. 1998. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*. 200: 241-250.
29. Leon, A.M., Palma, J.M., Corpas, F.J., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C., Chatterjee, D., Mateos, R.M., del Rio, L.A., and Sandalio, L.M. 2002. Antioxidant enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium. *Plant Physiol. Biochem.* 40: 813-820.
30. MacRae, E.A., and Ferguson, I.B. 1985. Changes in catalase activity and hydrogen peroxide concentration in plants in response to low temperature. *Physiol. Plant.* 65: 51-56.
31. Malakooti, M.J. 1998. Determine the critical level strategic advice and proper nutrient fertilizer products in the country, publications of agricultural education to train and equip the human resources department of the Ministry of Agriculture Tat.
32. McLaughlin, M.J., Parker, D.R., and Clarke, J.M. 1999. Metals and micronutrients – food safety issues. *Field Crop Res.* 60: 143-163.
33. Meharg, A.A. 1993. The role of the plasmalemma in metal tolerance in angiosperms. *Physiol. Plant.* 88: 191-198.
34. Milone, M.T., Sgherri, C., Clijsters, H., and Navari-Izzo, F. 2003. Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentrations of cadmium, *Env. Exp. Bot.* 50: 265-273.
35. Mobin, M., and Khan, N.A. 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J. Plant Physiol.* 164: 601-610.
36. Nagamiya K., Motohashi, T., Nakao, K., Prodhon, S.H., Hattori, E., Hirose, S., Ozawa, K., Ohkawa, Y., Takabe, T., Takabe, T., and Komamine, A. 2007. Enhancement of salt tolerance in transgenic rice expressing an *Escherichia coli* catalase gene, *katE*. *Plant Biotechnol. Rep.* 1: 49-55.
37. Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., and Sreekanth, T.V.M. 2010. Heavy metals occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ Chem Lett.* 8: 189-216.
38. Polidoros, N.A., and Scandalios, J.G. 1999. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.), *Physiol. Plant.* 106: 112-120.
39. Ranieri, A., Castagna, A., Scebbba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., and Pagliari, M. 2005. Oxidative stress and phytochelatin characterization in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiol. Biochem.* 43: 45-54.
40. Sauerbeak, D.R. 1991. Plant element and soil properties governing plant uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. *Water Air Soil Pollut.* 227: 57-58.
41. Skorzynska-Polit, E., Drazkiewicz, M., and Krupa, Z. 2003. The activity of the antioxidative system in cadmium-treated *Arabidopsis thaliana*. *Biol. Plant.* 47: 71-78.

42. Somashekaraiah, B.V., Padmaja, K., and Prasad, A.R.K. 1992. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. *Physiol. Plant.* 85: 85-89.
43. Song, A., Zhang Li, Z., Xue, J., Fan, G.F., and Liang, Y. 2009. Silicon-enhanced resistance to cadmium toxicity in *Brassica chinensis* L. is attributed to Si-suppressed cadmium uptake and transport and Si-enhanced antioxidant defense capacity. *J. Hazard. Mater.* 172: 74-83.
44. Wagner, G.J. 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv. Agron.* 51: 173-212.
45. Yadav, S.K. 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South Afric. J. Bot.* 76: 167-179.



Evaluating Activity of some Antioxidant Enzymes under Cadmium Toxicity in Two wheat Cultivars

I. Javadzarin¹, *B. Motesharezadeh² and A. Ahmadi³

¹M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science and Engineering, University of Tehran,

²Associate Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, University of Tehran,

³Professor, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran

Received: 11/18/2015; Accepted: 09/06/2016

Abstract

Background and Objectives: Wheat is one of the crops that have an important role especially in developing countries for feeding people. Therefore paying attention to the most minor issues related to this crop strategy has a great role in ensuring food security and maintaining the independence of the country. First response of plants as soon as being exposed to high levels of heavy metals such as cadmium is production of reactive oxygen species (ROS). Effect of cadmium stress on superoxide dismutase (SOD) activity in different varieties of wheat showed a significant increase (31). Khan *et al.* (2007) reported that under cadmium stress, ascorbate peroxidase (APX) enzyme activity in all varieties of the wheat had risen. Milone *et al.* (2003) showed that in plants treated with cadmium, peroxidase (POX) activity increased. Catalase (CAT) enzyme activity in rice increased under salt stress (33). According to importance of this issue, this study examined the uptake of cadmium and changes in activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase and peroxidase Guaiacol) three stage sampling was conducted at two Iranian bread wheat cultivars.

Materials and Methods: A factorial experiment in completely randomized has been designed and performed with three replications in the research greenhouse in Tehran University, College of Agriculture and Natural Resources. The treatments were consisted of four levels of Cd (0 (as control), 25, 50 and 100 mg Cd kg⁻¹ soil), three times of sampling (30, 45 and 60 days after seed planting) and two cultivars of Iranian wheat (Alvand and Azadi), respectively.

Results and Discussion: The results showed with increasing cadmium level in soil (Cd₀ to Cd₅₀), SOD activity in two cultivars of wheat and three time of sampling increased. On the other hand, in Cd₁₀₀, SOD activity in two cultivars of wheat and three time of sampling decreased. Level of decreasing in third time of sampling was clearer compared to first and second time of sampling. For example Alvand and Azadi cultivars in Cd₁₀₀ treatment showed 39 and 37 percent reduce. For two cultivars and in every three stage of sampling, CAT activity showed a decrease when level of cadmium increased. Alvand cultivar showed the greatest decrease in third time of sampling with 73 percent, when level of cadmium was 100 mg/kg. Similar to SOD activity, POX activity increased, when level of cadmium increased, but activity of POX increased continuously. APX activity increased when level of cadmium increased. Generally result of this research showed that efficiency of antioxidative system in Alvand cultivar was more of Azadi cultivar.

Conclusion: Our results showed that Alvand cultivar compared with Azadi cultivar is more able to accumulate cadmium in its root and shoot that based on a botanical point of view is an advantage and from the perspective of food security is a disadvantage.

Keywords: Wheat, Cadmium, Oxidative stress, Enzyme

* Corresponding Author; Email: moteshare@ut.ac.ir

