تغییرات آنتی اکسیدانتی در گیاه *Brassica oleracea* 1. cv. saccata تحت تنش با فلز سنگین کادمیوم

معصومه برجیان[۱]، مریم خوش سخن مظفر*[۲]، معصومه خسروی رینه[۳]

[۱]کارشناس ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آشتیان، آشتیان، ایران

*[۲]استادیارگروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران m.khoshm@gmail.com

[۳] استادیارگروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آشتیان، آشتیان، ایران

چکیده

کادمیوم یک فلز آلاینده محیطی است که در طبیعت منتشر می‌شود. منابع مختلف شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند. تنش فلزات سنگین از رشد گیاهان ممانعت نموده و با ایجاد اختلال در تعادل بین تولید گونه های فعال اکسیزن وفعالیت های دفاعی انتی اکسیدانی گیاه ایجاد تنش اکسیداتیو می کند.

این مطالعه به منظور تاثیر کادمیوم بر تغییرات انتی اکسیدانی انزیمهای سوپراکسیددیسموتاز ،کاتالاز، پلی فنول اکسیداز و میزان مالون دی الدهید همچنین میزان کلروفیل و انتوسیانین مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه های مورد نظر از بافت های برگ و ریشه گیاهان ۳۰ روزه برداشت شدندوجهت سنجش پارامتر های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج نشان داد که کادمیوم در شرایط تنش اکسیداتیو بر روی سیستم آنتی اکسیدانی گیاه اثر مثبت داشته است .میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز در اندام هوایی و کاتالاز در اندام هوایی و ریشه و همچنین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در اندام هوایی و ریشه افزایش معنی داری نشان داد. پلی فنل اکسیداز افزایش معنی داری در غلظت ۵ کادمیوم و همچنین کاهش معنی داری در غلظت ۰/۵ کادمیوم در اندام هوایی نشان داد.همچنین میزان آنتوسیانین کل و کلروفیل a و b برگ ها با افزایش غلظت کاهش معنی داری نشان داد .

کلمات کلیدی: کادمیوم، تنش اکسیداتیو، براسیکا اولراسه.

مقدمه

گیاه *B.oleracea* 1. cv. saccata گونه گیاهی شامل بسیاری از ارقام از جمله کلم، گل‌کلم، کلم‌پیچ، کلم بروکسل می‌باشد. در فرم غیر مزروع خود آن‌را به عنوان کلم وحشی شناخته‌اند. این گیاه بومی ساحل جنوبی و غرب اروپا است. این گیاه یک گیاه دو سالانه می‌باشد و قادر به تشکیل روزت تنومند و دارای برگ بزرگ است. سازگاری این گیاه به شرایط محیطی دشوار است. این گیاه به عنوان گیاه مهم در کشاورزی به دلیل داشتن ذخایر غذایی فراوان و گیاه غنی از ویتامین‌ها از جمله ویتامین C پر اهمیت است (۵). تنش‌های محیطی از قبیل خاک، آب و فلزات سنگین یکی از موانع اصلی در تولیدات محصولات کشاورزی و باغی در بسیاری از نقاط دنیا به ویژه مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند ایران محسوب می‌شوند. نظر به صنعتی شدن جوامع در دهه‌های اخیر و تولید مقادیر قابل توجهی پساب‌های صنعتی توسط کارخانجات و رهاسازی آن‌ها در اکوسیستم طبیعی و روان آب‌ها، و از سوی دیگر افزایش استفاده از سوخت‌های فسیلی و احتمال بازگشت ترکیبات احتراق‌یافته به محیط خطر وقوع تنش غیرزنده تجمع فلزات سنگین را در خاک افزایش داده است (۱).

عناصر سنگین عناصری هستند که وزن اتمی آن‌ها بین ۶۳/۵۴۶ تا ۲۰۰/۵۹۰ بوده و رم مخصوص آن‌ها بزرگتر از ۵ گرم بر سانتیمتر مکعب است به این ترتیب عناصری از قبیل روی فلز کروم فلز کادمیوم، سرب، نیکل و نقره جز فلزات سنگین محسوب می‌شوند. عناصر سنگین اغلب به فرم اکسید، هیدروکسید، سیلیکات و سولفات و یا به صورت جذب شده یافت می‌شوند (۴).

در برخی گیاهان مانند چغندر قند تجمع کادمیوم در ریشه ۵ تا ۱۰ برابر اندام هوایی آن بوده و در گیاه سویا نیز فقط ۲ درصد کادمیوم انباشته شده به برگ‌ها منتقل می‌شود (۳۶). اما تجمع کادمیوم در گیاه توتون در برگ‌های آن نیز اتفاق می‌افتد. کادمیوم اغلب در واکوئل‌های سلول‌های گیاهان عالی، همچنین در دیواره سلول و تیغه میانی بین آندودرم و دایره محیطیه گزارش شده است (۴۱). عوامل مهمی در جذب کادمیوم توسط گیاهان موثر می‌باشند که از جمله آن‌ها می‌توان به غلظت کادمیوم در خاک، میزان در دسترس بودن آن، تغییر شکل در حضور مواد آلی دیگر، pH خاک، پتانسیل احیا کنندگی، دما و غلظت فلزات دیگر اشاره کرد(۱۷،۸).

سمیت کادمیوم به شکل‌های مختلف دیده شده است که شامل کاهش عملکرد، کاهش رشد ریشه و برگ، تشکیل مالون دآلدئید (۱۸).

این آسیب ها به دلیل ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که در شرایط تنش مولکولی ناشی از کادمیوم بوجود می‌آیند (۴۰). در این زمان آنزیم های مختلفی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پلی فنول اکسیداز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز وارد عمل شده و با مکانیسم های مختلف این رادیکال ها را از بین می برند.

اکسیژن به اشکال مختلف گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، بخصوص به فرم آنیون رادیکال آزاد سوپراکسید و پراکسید هیدروژن احیا می‌گردد، که خود این‌ها با ترکیبات سلولی واکنش داده سبب صدمات شدید یا جبران ناپذیری شده و در نهایت منتج به مرگ سلول می‌گردند.

تنش‌های محیطی گوناگون و محرک‌های داخلی سبب اختلال در رداکس از طریق افزایش تولید ROS یا کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردند که به همین سبب تنش آنتی‌اکسیدانی رخ می‌دهد. در واکنش به افزایش ROS بروز ژن‌های رمزکننده پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد. در چنین شرایطی بروز ژن‌های رمزکننده پروتئین‌های سلولی نیز کاهش می‌یابد و این حالت باعث مرگ سلول می‌شود(۱۶). از آنجا که گونه‌های براسیکا اولراسه به عنوان گیاهی با قدرت بالای تجمع کادمیوم ذکر شده است، این پژوهش با هدف بررسی اثر غلظت‌های متفاوت فلز کادمیوم بر شاخص‌های رشد این گیاه و نیز بررسی القا تنش اکسیداتیو در گیاه توسط عنصر کادمیوم و تاثیرات آن بر فرایند های بیوشیمیایی در گیاه صورت گرفت.

مواد و روش ها

کشت گیاه و انجام تیمار

برای انجام تحقیق بذر گیاه براسیکا اولراسه از شرکت های معتبر تهیه شد و به مدت ۳ دقیقه در محلول آب ژاول ضد عفونی سطحی شدند و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس بذرها در ظروف پتریدی ای که از نقاط بالا و پایین توسط کاغذ صافی پوشانده شده بود به مدت ۷ روز کشت داده شدند. سپس دانه رست ها به مدت ۷ روز به منظور سازگاری در شرایط کشت هیدروپونیک در دمای ۳ ± ۲۷ قرار گرفتند و سپس به مدت ۱۴ روز با کلرید کادمیوم (cdcl2) در غلظت های ۰/۵و۵ میلی مولار کادمیوم تیمار داده شدند (۱۴). محیط های کشت با پمپ هوادهی شده و هر ۵ روز یک بار تعویض می شدند. تیماردهی با کادمیوم برای مدت ۱۴ روز انجام و سپس نمونه‌های شاهد و تیمارشده (هریک سه تکرار) برداشت شدند. پس از شستشو با آب مقطر، ساقه و ریشه گیاهان از محل یقه گیاه جدا و با نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

سنجش های بیوشیمیایی

برای استخراج و اندازه گیری فعایت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز از روش فتوشیمیایی Cakmak and Horst (۹) پلی فنول اکسیداز از روش Kahn (۲۱)، سنجش میزان پراکسیدان لیپیدهای غشایی بر اساس روش Devos (۱۳) ،سنجش میزان کلروفیل بافت برگ با روش Helrich (۲۰) و اندازه گیری میزان آنتوسیانین کل با استفاده از روش Krizek (۲۳) انجام شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در طول موج ۵۶۰ نانومتر، کاتالاز در ۲۴۰ نانومتر، پلی فنول اکسیداز در ۴۱۰ نانومتر، میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر، میزان کلروفیل بافت برگ در ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و میزان آنتوسیانین کل در ۵۳۰ نانومتر و بر حسب میلی گرم بر وزن تر گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

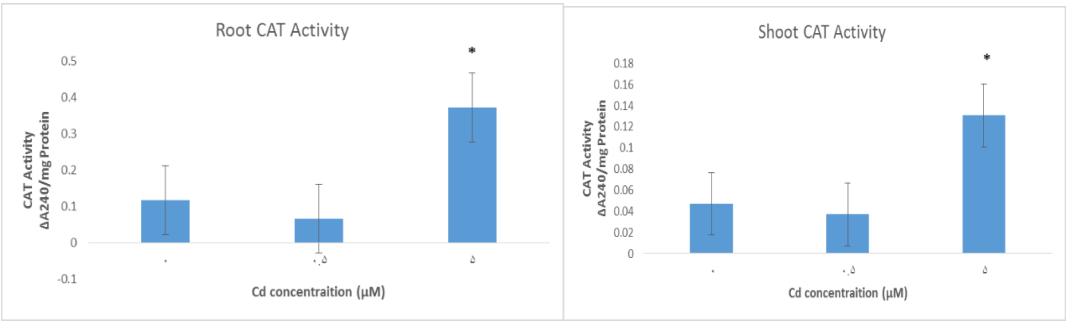
کلیه آنالیزها با سه تکرار مستقل انجام گرفت و سپس نتایج به دست آمده از گروه‌ها به کمک نرم‌افزار spss و انجام تست آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان معنی‌دار بودن یا نبودن آن‌ها در سطح $p \leq 0.05$ بررسی شد.

نتایج و بحث روی نتایج

فعالیت آنزیم های سیستم آنتی اکسیدان

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

تنش فلز سنگین کادمیوم باعث افزایش معنی دار در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی و ریشه تحت غلظت ۵ کادمیوم شده است (شکل۲:الف و ب).

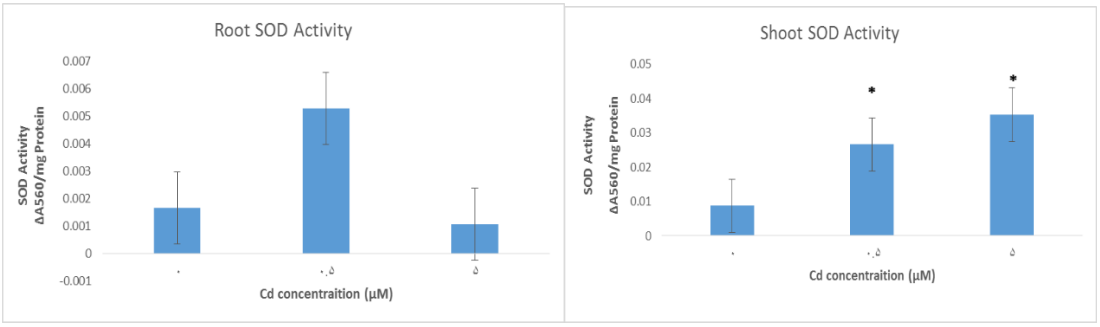


ب الف

شکل ۲: الف - فعالیت CAT در تیمار با دوز های ۰/۵ و ۵ کادمیوم در ساقه تحت شرایط کنترل و تیمار. ب ـ فعالیت CAT در تیمار با دوز های ۰/۵ و ۵ کادمیوم در ریشه تحت شرایط کنترل و تیمار. داده ها میانگین سه تکرار و میله ها ی عمودی نشان دهنده ی انحراف معیار می باشد.

میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز(SOD)

نتایج آنالیز واریانس داده های حاصل از تیمار دو غلظت فلز سنگین کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گیاه براسیکا اولراسه نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در غلظت های ۰/۵ و ۵ اندام هوایی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشته است. در حالی که در این دو غلظت در ریشه، تاثیر کادمیوم معنی دار نیست (شکل ۱:الف و ب).

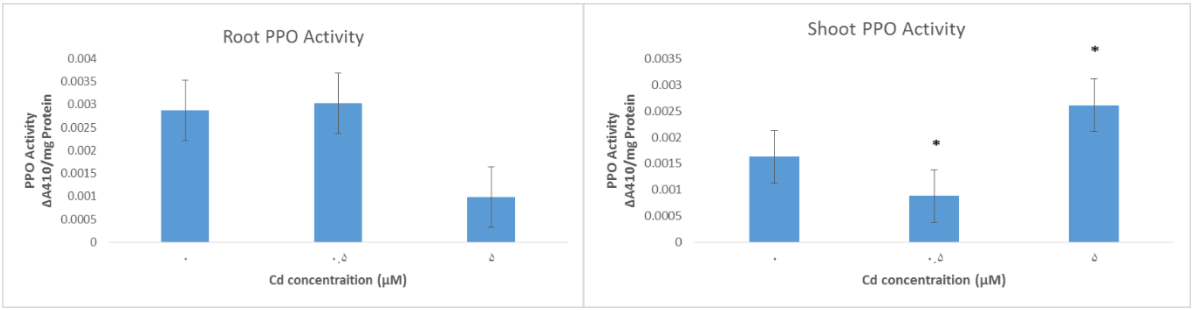


ب الف

شکل ۱: الف- فعالیت SOD در تیمار با دوز های ۰/۵ و ۵ کادمیوم در ساقه تحت شرایط کنترل و تیمار. ب- فعالیت SOD در تیمار با دوز های ۰/۵و ۵ کادمیوم در ریشه تحت شرایط کنترل و تیمار. داده ها میانگین سه تکرار و میله های عمودی نشان دهنده ی انحراف معیار می باشد.

میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز (PPO)

نتایج آنالیز واریانس داده های حاصل از اثر دو غلظت ۰/۵ و ۵ کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز اندام هوایی گیاه براسیکا اولراسه با افزایش معنی داری در غلظت ۵ کادمیوم و کاهش معنی دار در غلظت ۰/۵ کادمیوم همراه بود در حالی که در غلطت ۰/۵ کادمیوم در ریشه این افزایش معنی دار نبود (شکل ۳: الف و ب).

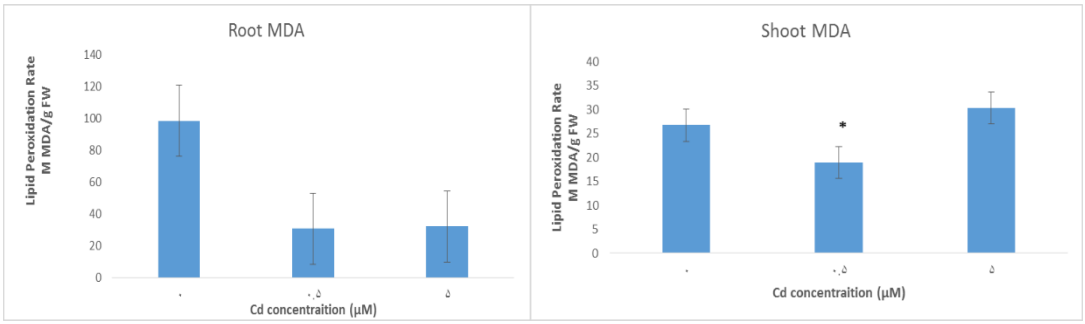


ب الف

شکل ۳: الف- فعالیت PPO در تیمار با دوزهای ۰/۵و ۵ کادمیوم در ساقه تحت شرایط کنترل و تیمار.ب ـ فعالیت PPO در تیمار با دوزهای ۰/۵ و ۵ کادمیوم در ریشه تحت شرایط کنترل و تیمار، داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد.

میزان مالون دی آلدهید اندام هوایی و ریشه (MDA)

نتایج آنالیز واریانس داده های حاصل از تنش فلز سنگین کادمیوم بر میزان مالون دی آلدهید در اندام هوایی گیاه براسیکا اولراسه نشان داد که میزان این ترکیب سمی در اندام هوایی تحت تیمار غلظت ۰/۵ کادمیوم کاهش معنی داری یافت (شکل ۷:الف).

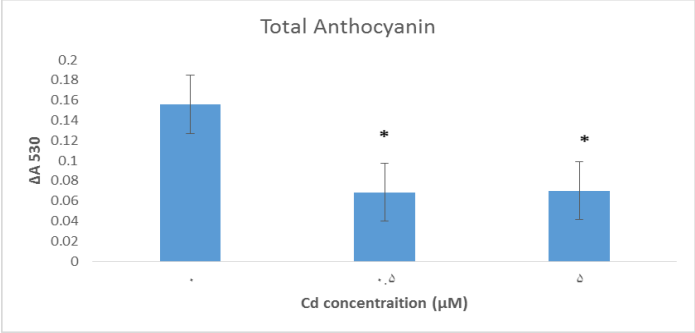


ب الف

شکل ۷: الف- فعالیت MDA در تیمار با دوزهای ۰/۵و ۵ کادمیوم در اندام هوایی تحت شرایط کنترل و تیمار، ب- فعالیت MDA در تیمار با دوزهای ۰/۵و ۵ کادمیوم در ریشه تحت شرایط کنترل و تیمار داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد.

آنتوسیانین کل اندام هوایی

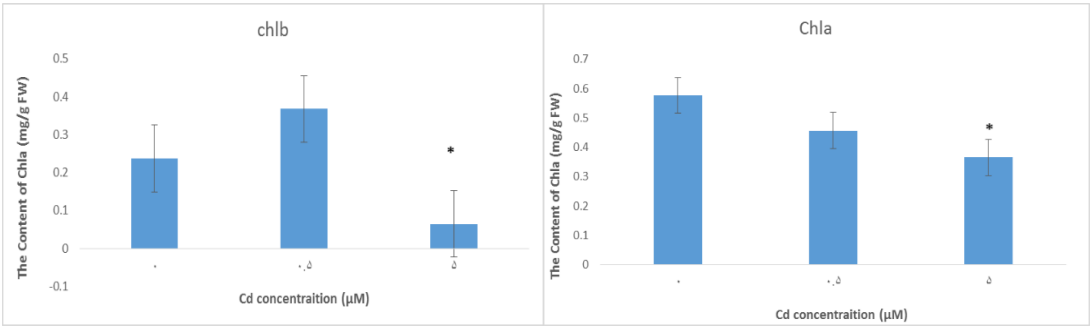
نتایج آنالیز واریانس داده های حاصل از اثر فلز سنگین کادمیوم بر میزان تجمع این فلز در اندام هوایی گیاه براسیکا اولراسه نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محلول های تیمار، تجمع آنتوسیانین کل در برگ های گیاه کاهش یافته است و این کاهش برای هر دو غلظت ۰/۵و ۵ میکرومولار کادمیوم معنی دار بوده است (شکل ۶).



شکل ۶: میزان آنتوسیانین کل در تیمار با دوزهای ۰/۵و ۵ کادمیوم در اندام هوایی تحت شرایط کنترل و تیمار، داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد.

میزان کلروفیل a و b

نتایج آنالیز واریانس داده های حاصل از اثر تیمار ۲ غلظت فلز سنگین کادمیوم بر محتوای کلروفیل a و b نشان داد که میزان کلروفیل a و b گیاه با افزایش غلظت کادمیوم کاهش یافت که این روند کاهش در غلظت ۵ کادمیوم معنی دار بوده است (شکل۸ : الف و ب).



ب الف

شکل ۸: الف - میزان کلروفیل a در تیمار با دوزهای ۰/۵و۵ کادمیوم در برگ تحت شرایط کنترل و تیمار، ب- میزان کلروفیل b در تیمار با دوزهای ۰/۵و۵ کادمیوم در برگ تحت شرایط کنترل و تیمار، داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد.

بحث

علی رغم این که مطالعات متعددی در ارتباط با سمیت کادمیوم صورت گرفته است، به دلیل کشاورزی بودن و مصرف بالای گیاه کلم قرمز، اثر این عنصر در سیستم آنتی اکسیدانی و ایجاد ترکیبات ROS در گیاه مذکور ضروری به نظر می رسد.

گونه‌های فعال اکسیژن در فرایندهای انتقال الکترون در کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی زوم ها تشکیل می شوند. گیاهان در شرایط فیزیولوژیک با فعالیت متابولیت ها و آنزیم های مختلف آنتی اکسیدان غلطت گونه های فعال اکسیژن را کنترل می کند افزایش معنی دار فعالیت آنزیم های سیستم آنتی اکسیدان در تیمار کادمیوم در گیاه براسیکا اولراسه نشان می دهد که در مکانیسم تحمل در آن، سرکوب تخریب اکسیداتیو با تحریک آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز است. دیسموتاسیون آنیون های سوپراکسید توسط SOD و به دنبال آن افزایش کاتالاز و جاروب کردن H_2O_2 سبب تنظیم فعالیت پراکسیدازهای مختلف سلول مانند APX می شود (۴).

SOD اولین سد دفاعی را تشکیل می دهد که رادیکال های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می کند. سپس پرواکسید هیدروژن می تواند توسط آنزیم آسکوربات پرواکسیداز در سیکل آسکوربات-گلوتاتیون که در کلروپلاست عمل می کند یا توسط پرواکسیداز در دیواره سلولی و سیتوپلاسم و یا توسط کاتالاز در پراکسی زوم و میتوکندری به آب و اکسیژن ملکولی تجزیه می شود (۲۸،۱۰). نتایج حاصل از دو تیمار ۰,۵ و ۵ مختلف کادمیوم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه براسیکا اولراسه بیانگر افزایش معنی دار فعالیت SOD به منظور حذف رادیکال سوپراکسید ناشی از تیمار کادمیوم در اندام هوایی در غلظت ۵ و ۰,۵ کادمیوم می‌باشد (شکل ۱: الف). Sharma و Dubey در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که تنش اکسیداتیو ناشی از تیمار کادمیوم سبب افزایش فعالیت SOD در گیاه گندم می شود.

یکی از آنزیم‌های دفاعی مهم کاتالاز است که در همه‌ی موجودات زنده تحت تنش تولید می‌شود. این آنزیم با اثر مستقیم بر پراکسید هیدروژن، سبب کاهش اثرهای سمی آن می‌شود (۴۷). در این آزمایش تیمار کادمیوم سبب افزایش فعالیت کاتالاز شد به طوری که این افزایش در غلظت ۵ کادمیوم در اندام هوایی و غلظت ۵ کادمیوم در ریشه معنی دار بود (شکل ۲ : الف و ب). افزایش فعالیت این آنزیم بیانگر پاسخ گیاه به افزایش میزان H_2O_2 در جهت حدف آن می باشد (۲۸). که این امر همسو با تحقیقی است که توسط Weisang و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در گیاه سویاGlysine max صورت گرفت و افزایش میزان کاتالاز تحت شرایط تنش شوری را نشان داد (۴۸).

فلاونوئیدها یا ترکیبات فنلی در سیتوپلاسم و نیز سطح سیتوپلاسمی شبکه آندوپلاسمی سنتز می‌شوند و با فعالیت آنتی اکسیدانی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش حفاظتی دارند. اکسیداسیون فلاونوئیدها (بویژه o – دی فنل‌ها) در شرایط تنش سبب تولید ترکیبات جاروب‌کننده H_2O_2 مانند سمی کوئینون‌ها و کوینون‌ها می‌گردد (۱۲). پلی فنل اکسیداز در مجاورت مولکول اکسیژن کاتالیز نوعی کوئینون از فنل‌ها را انجام می دهد. البته، هم شرایط رشد مانند بروز شرایط تنش و هم نوع ژنوتیپ بر فعالیت پلی فنل اکسیداز اثر می‌گذارد (۴۹،۲۷). نتایج نشان داد که با افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم PPO با دوز ۰/۵ کادمیوم در ریشه و با دوز ۵ در اندام هوایی افزایش یافت (شکل ۳: الف وب) که این امر نشان‌دهنده افزایش ترکیبات فنولی به ویژه فلاوونوئیدها در شرایط تنش می‌باشد. بنا بر گزارش Aksoy و

همکارانش در سال ۲۰۱۲ افزایش پلی فنول اکسیداز در اندام هوایی و ریشه گیاه سویا Glysin max تحت تیمار کادمیوم و تنش شوری گزارش کرده‌اند (۶). درعین حال در این تحقیق میزان فعالیت آنزیم PPO در اندام هوایی در دوز ۰/۵ کادمیوم کاهش معنی داری نشان داد. مطالعه Rivero و همکارانش در سال ۲۰۰۵ کاهش PPO در برگ گوجه تحت تنش گرما گزارش کردند (۳۸). Chen و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۰ کاهش فعالیت پلی فنل اکسیداز در ریشه گیاهان تحت تنش مس و کادمیوم گزارش کردند (۱۰). که احتمالاً کاهش در میزان PPO در این تحقیق نیز به دلیل غیر فعال شدن آنزیم پلی فنول اکسیداز تحت تیمار فلز سنگین کادمیوم می باشد.

در این تحقیق نتایج حاصل از دو غلظت مختلف کادمیوم بر تولید مالون دی آلدهید در اندام هوایی گیاه براسیکا اولراسه در غلظت ۰/۵ کادمیوم کاهش معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل ۷: الف) که بیانگر اینست که سیستم آنتی اکسیدانی گیاه توانایی از بین بردن رادیکال های آزاد را داشته و توانسته بر کمپلکس تیوباربیوتیک اسید TBA با مالون دی آلدهید غلبه کند و از خسارت اکسیداتیو به گیاه جلوگیری کند (۲۵). که این نتایج با یافته های قناتی و نعمتی در سال ۱۳۸۹ مبنی بر کاهش میزان مالون دی آلدهید در ریشه گیاه لیسیانتوس تحت تأثیر عنصر کادمیوم، به دنبال افزایش کاتالاز و کاهش H_2O_2 و در نتیجه کاهش آسیب به غشای پلاسمایی مطابقت دارد(۳) .گزارش شده است در گیاه گندم Triticum aestivum نیز تحت تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت های تنش شوری فرایند پرواکسیداسیون لیپیدها آغاز شده و محتوای مالون دی آلدهید (MDA) گیاه کاهش یافته است (۲).

از جمله فرآیندهایی که تحت تأثیر تنش ناشی از فلزات سنگین قرار می‌گیرد فتوسنتز و رنگیزه‌های فتوسنتزی است. فلزات سنگین کاهش فتوسنتز را ممکن است از طریق آسیب به سازماندهی فراساختاری کلروپلاست، تغییر در متابولیت‌های فتوسنتزی، جایگزینی یون‌هایی مانند منیزیم و منگنز و غیره با سرب در کلروپلاست و ممانعت از ساختن یا تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی القاء کند (۳۷).

به دلیل تاثیر فلزات بر بیوسنتز کلروفیل و ایجاد تنش اکسیداتیو محتوای کلروفیل در برگ می‌تواند معیاری برای سنجش بروز سمیت محسوب شود. گزارش های متعددی مبنی بر اثر فلز کادمیوم بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی مانند کلروفیل a و b در بسیاری از گونه های گیاهی وجود دارد. که این کاهش به اثر بازدارنده کادمیوم بر جذب آهن و منگنز و نیز مهار آنزیم های گروه سولفیدریل شرکت کننده در مسیر بیوسنتز رنگیزه ها توسط کادمیوم عنوان شده است (۳۵). غلظت بالای کادمیوم، سنتز کلروفیل را از طریق مختل کردن جذب دیگر یون‌های اساسی مانند منیزیم و یا با افزایش آنزیم تخریب کننده کلروفیل (کلروفیلاز) کاهش می‌دهد (۴۵).

فلزات سنگین به وسیله مهار آنزیم‌های گاما – آمینو لوالونیک اسید دهیدوژناز و پروتوکلروفیلد ردوکتاز سبب مهار مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل می شوند (۲۲). در این پژوهش محتوای کلروفیل a و b تحت غلظت ۵ کادمیوم کاهش معنی داری با گیاهان گروه شاهد نشان داد (شکل ۸ : الف و ب).

این نتایج با نتایج Yordanova و همکارانش در سال ۲۰۰۳ در مورد کاهش میزان کلروفیل a و b و به ویژه کلروفیل b بر روی گیاه ذرت تحت تنش غرقابی مطابقت دارد (۵۱).

همچنین در مطالعات Mauchamp A در سال ۲۰۰۴ دیده شده که فتو سیستم II یک جزء حساس فتوسنتز بوده که تحت تأثیر تنش‌های محیطی بوده و چون کلروفیل b بیشتری در این فتوسیستم موجود است، مقدار تخریب کلروفیل b بیشتر است (۲۶). به نظر می رسد کاهش میزان کلروفیل a و b در این تحقیق احتمالاً به دلیل افزایش کلروفیلاز، مهار بیوسنتز پروتوکلروفیلد و یا اختلال در جذب یون های اساسی مانند منیزیم و آهن به دلیل تنش ناشی از تیمار کادمیوم باشد.

سیستم دفاعی غیر آنزیمی در گیاهان سنتز برخی از ترکیبات آنتی اکسیدان مانند آنتوسیانین، کاروتنوئید، توکوفرول، آسکوربیک اسید و ترکیبات فنولی مانند فلاوونوئیدها را القا می کند. این ترکیبات آنتی اکسیدان با رادیکال های آزاد واکنش داده، با دادن الکترون به این رادیکال های واکنش پذیر آنها را به شکل پایدار خود تبدیل می کند (۴۳). آنتوسیانین ها به احتمال زیاد سبب تسهیل ورود فلزات سنگین به واکوئل سلول ها و جمع آوری آنها از سایر بخش ها می شوند (۴۴). در این تحقیق با افزایش غلظت کادمیوم میزان آنتوسیانین در غلظت های ۰/۵و ۵ کادمیوم نسبت به گیاهان گروه شاهد کاهش معنی داری یافته است (شکل ۶). کاهش میزان آنتوسیانین در این پژوهش بیانگر این مطلب است که در غلظت های استفاده شده فلز کادمیوم به دنبال کاهش میزان کلروفیل a و b و کاهش ساخت قند در گیاه براسیکا اولراسه، در ادامه کاهش میزان آنتوسیانین را به همراه داشته است.

کاهش میزان آنتوسیانین در شرایط تنش با کاهش میزان قند بر روی دو رقم گیاه کلزا *Brassica napos* نیز اثبات شده است تخریب ساختار کلروپلاست و ناپایداری کمپلکس‌های رنگدانه-پروتئین، تجزیه کلروفیل‌ها توسط آنزیم تخریب کننده‌ی کلروفیل (کلروفیلاز) موجب کاهش میزان کلروفیل و در نتیجه میزان قند می‌شود (۷).

وقتی نتایج، یافته‌های کار نویسنده را توصیف می‌کنند باید در زمان گذشته و وقتی یافته‌های منتشر شده قبلی را بیان می‌کنند باید در زمان حال نوشته شوند. در تشریح نتایج غالبا نباید به کارهای انجام شده قبلی ارجاع داده شود. اما در بحث و تفسیر نتایج باید یافته‌ها را با نتایج حاصل از مطالعات گذشته مقایسه نمود. نتیجه نهایی باید در چند خط در بخش نتیجه-گیری بیان شود.

نتیجه‌گیری

افرایش آنزیم‌های آنتی اکسیدان در این مطالعه، می‌تواند باعث کاهش تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) شده که قادرند با ایجاد تنش اکسیداتیو، تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی و رشد را مهار کند. در واقع با افزایش اثر آنزیم کاتالاز مخصوصا در غلظت ۵ و از بین رفتن H2O2 های موجود در گیاه، شاخص پراکسیداسیون لیپید کاهش می‌یابد. همچنین به دلیل تأثیر تنش کادمیوم بر آنزیم‌های تولید کلروفیل و فتوسیستم I و II، آنتوسیانین کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه در اکثر غلظت‌های کادمیوم در ریشه معنی‌داری در داده‌ها مشاهده نشد می‌توان نتیجه گرفت که عنصر کادمیوم سریعا از ریشه به ساقه انتقال پیدا می‌کند .

منابع

۱- پیروز، پ. ، منوچهری کلانتری، خ.، نصیبی ،ف ..بررسی فیزیولوژیک گیاه آفتابگردان تحت تنش کروم. زیست گیاهی. سال ۴، شماره ۱۱، ۸۶ – ۷۳،۱۳۹۱.

۲- دولت آبادیان،ا.، مدرس ثانوی ، ع و اعتمادی، ف. . اثر پیش تیمار اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذر گندم (*Triticum aestivum L.*) در شرایط تنش شوری، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۱، شماره ۴، ۱۵ – ۲۶، ۱۳۸۷.

۳- قناتی ، ف و نعمتی، ف. ، تأثیر مثبت آلومینیم در فعال کردن سیستم آنتی اکسیدان ریشه های گیاه لیسیانتوس(*Eustoma grandiflora L.*)، شماره ۲، جلد ۴۱،۴-۵۳، ۱۳۸۹ .

۴- رحیمی، ط.،رونقی ،ع .. اثر کاربرد منابع مختلف روی بر غلظت کادمیوم و برخی عناصر کم مصرف در گیاه اسفناج در یک خاک اهکی. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه ای، شماره ۱۰، ۱۳۹۱

۵- مظفری، الف.،حبیبی، د.،ملکی ،ع .، بابایی،ف. .ارزیابی توان چند گونه زراعی در کاهش آلودگی خاک به فلز سنگین کادمیوم. مجله زراعت و اصلاح نباتات، جلد ۸، شماره ۳. ۱-۱۴، ۱۳۹۱

6- Aksoy M. Seckİn Dİnler B., Changes in Physiological Parameters and Some Antioxidant Enzymes Activities of Soybean (Glycine max L. Merr.) Leaves Under Cadmium and Salt Stress,Journal of Stress Physiology & Biochemistry, Vol. 8. No. 4. 179 – 190, 2012.

7- Bertrand M. and Schoefs B., Photosyntetic pigment metabolism in plants during stress, In: Handbook of plant and crop stress (ed. Pessarakli, M.), Marcel Dekker, New York. 527-543, 1999.

8- Blinda A, Koch B, Ramanjulu S. and Dietz K, De novo synthesis and accumulation of apoplastic proteins in leaves of heavy metal-exposed barley seedlings, Plant, Cell & Environment, 20(8), 969-981, 1997

9- Cakmak, I.. and Horst W. J., Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (Glycine max). Physiol, Plant, 83(3), 463-468 , 1991

10- Chen Y, He Y, Yang Y, Yu Y, Zheng S, Tian G. and Wong M, Effect of cadmium on nodulation and N2-fixation of soybean in contaminated soils. Chemosphere, 50(6), 781-787, 2003

11Conklin P., Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants, Plant, Cell and Environment, 24: 383-394, 2001

12- Dai L. P, Xiong Z.T, Huang Y. and Li M. J, Cadmium-induced changes in pigments, total phenolics, and phenylalanine ammonia-lyase activity in fronds of Azolla imbricata. Environmental toxicology, 21(5), 505-512. ,2006.

13- De Vos C.H.R, Schat H. De Waal M.A.D, Vooijs R. and Ernst W.H.O, Increased resistance to copper-induced damage of root plasma membranein copper tolerant Cilene cucubalus. Physiol, Plant, 82: 523-528., 1991.

14- Del Rio, LA. Sandalio, LM. Yanez, J. Gomez M., , Induction of a manganese-containing superoxide dismutase in leaves of Pisum sativum L. by high nutrient levels of zinc and manganese, Joutnal of Inorganic Biochemistry 24. 25 – 34, 1988.

15- Erdei, S, Hegedûs A, Hauptmann G, Szalai, J. and Horváth, G., Heavy metal induced physiological changes in the antioxidative response system, Acta Biologica Szegediensis, 46(3-4), 89-90. , 2002.

16- Gallego S. M, Benavides M. P. and Tomaro M. L., Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress, plant sci, 121: 151 – 159. , 1996.

17- Gardea-Torresdey J. L, Peralta-Videa, J. R, De La Rosa G. ad Parsons J., Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy, Coordination Chemistry Reviews, 249(17), 1797-1810, 2005.

18- Grant C, Buckley W, Bailey L. and Selles F., Cadmium accumulation in crops, Canadian Journal of Plant Science, 78(1), 1-17. , 1998.

19- Hegedus A, Erdei S. and Horvath G., Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress, Plant Science, 160(6), 1085-1093. , 2001.

20- Helrich K., Official methods of analysis, Inc. U.S.A., 1, 1990.

21- Kahn V., Polyphenol oxidase activity and browning of three avocado varieties, J.Sci, Food Agric., 51: 145-161 , 1975.

22- Khatib M, Rashed Mohasel M, Ganjali, A. and Lahouti M, The effects of different nickel concentrations on some morpho-physiological characteristics of parsley (petroselinum crispum), Iranian journal of field crops research, 2: 295-302., 2008.

23- Krizek D. T, Britz S. J. and Mirecki R. M., Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. Physiologia Plantarum, 103(1), 1-7 , 1998.

24- Levitt J., Responses of plants to environmental stresses, Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses: Academic Press, 2: 283-364 , 2009.

25- Mamdouh F. A., Chromium in receiving environment in Egypt (Overview), Electronical Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 6: 2178-2198, 2007.

26- Mauchamp A. and Methy M., Submergence-induced damage of photosynthetic apparatus in Phragmites australis, Environmental and Experimental Botany, 51(3), 227-235 , 2004.

27- Mayer, A. M.. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. Phytochemistry, 67(21), 2318-2331 ,2006.

28- Mishra S, Srivastava S, Tripathi R, Govindarajan R, Kuriakose S. and Prasad M., Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in Bacopa monnieri L. Plant Physiology and Biochemistry, 44(1), 25-37, 2006.

29- Nakano Y. Asada K., Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinsch chloroplasys, Plant Cell Physiol., 22: 867-880 , 1981.

30- Ohkawa, H, Ohishi, N. and Yagi K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, Analytical biochemistry, 95(2), 351-358, , 1979.

31- Pandey N, Singh A, Pathak G. and Sharma C, Effect of zinc on antioxidant response in maize (Zea mays L.) leaves. Indian journal of experimental biology, 40(8), 954-956, 2002.

32- Pandolfini F, Gabbrielli R. and Comparini C., Nickel toxicity andperoxidase activity in seedlings of Triticum aestivum L, Plant Cell Environ, 15: 719-725,.1992.

33- Peng M. and Kuc J., Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity in vitro and on tobacco leaf disks, Phytopathology, 82(6), 696-699, 1992.

34- Pignocchi, C. and Foyer C. H., , Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signalling. Current opinion in plant biology, 6(4), 379-389, 2003.

35- Prasad M. and Strzalka K., Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants: Springer, 432, 2002.

36- Ramos I, Esteban E, Lucena, J. J. and Gárate A. n., Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of Lactuca sp. Cd–Mn interaction. Plant science, 162(5), 761-767, 2002.

37- Reddy A. M, KumarS. G, Jyothsnakumari G, Thimmanaik S. and Sudhakar C., Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (Macrotyloma uniflorum (Lam.) Verdc. and bengalgram (Cicer arietinum L.). Chemosphere, 60(1), 97-104. , 2005.

38- Rivero R. M, Ruiz J. M. and Romero L., Can grafting in tomato plants strengthen resistance to thermal stress? Journal of the Science of Food and Agriculture, J Sci Food Agric 83:1315–1319, 2003.

39- Sandalio L. M. and Del Río L. A., Intraorganellar distribution of superoxide dismutase in plant peroxisomes (glyoxysomes and leaf peroxisomes), Plant physiology, 88(4), 1215-1218, 1988.

40- Schutzendubel A. and Polle A., Plant responses to abiotic stress: heavy metal – induced oxidative stress and protection by mycorhization. Exprimental Botany. 53:1351-1365.

41- Sharma P. and Dubey R. S., Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, 17(1), 35-52, 2005.

42- Sharma S. S, Kaul S, Metwally A, Goyal, K. C, Finkemeier I.. and Dietz K. J., Cadmium toxicity to barley (Hordeum vulgare) as affected by varying Fe nutritional status, Plant science, 166(5), 1287-1295.

43- Tripathi A. K, Sadhna, T. and Tripathi, S., Changes in some physiological and biochemical characters in Albizia lebbek as bio-indicators of heavy metal toxicity, Journal of Environmental Biology 20: 93-98, 1999.

.44- Tripathi B, Mehta S, Amar A. and Gaur J., Oxidative stress in Scenedesmus sp. during short-and long-term exposure to Cu2+ and Zn2+. Chemosphere, 62(4), 538, 2006.

45- Van Assche F. and Clijsters H., Effects of metals on enzyme activity in plants. Plant, Cell & Environment, 13(3), 195-206, 1990.

46- Vassilev A. and Yordanov I., Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants: a review, Bulg. J. Plant Physiol, 23(3-4), 114-133, 1997.

47- Wang J. p, Raman H, Zhang G. p, Mendham N. and Zhou M. x., Aluminium tolerance in barley (Hordeum vulgare L.): physiological mechanisms, genetics and screening methods. Journal of Zhejiang University Science B, 7(10), 769-787 , 2006.

48- Weisany W, Sohrabi Y, Heidari Gh, Siosemardeh A. and Ghassemi- Golezan K., Changes in antioxidant enzymes activity and plant performances by salinity stress and zinc application in soybean (Glycine mac L.). POJ 5(2): 60-67, 2012.

49- Winkel-Shirley B., Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current opinion in plant biology, 5(3), 218-223 , 2002.

50- Wu F. and Zhang G., Alleviation of cadmium-toxicity by application of zinc and ascorbic acid in barley, Journal of plant nutrition, 25(12), 2745-2761 , 2002.

51- Yordanova R. Y, Christov K. N. and Popova L. P., Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding, Environmental and experimental botany, 51(2), 93-101 , 2003.

Antioxidant Changes in *Brassica oleracea* l. cv. saccata under cadmium stress

Masoumeh borjian[1], Maryam Khoshsokhan Mozaffar[*2], Masoumeh khosravireyneh[3]

[1] Department of Biology, Islamic Azad University, Ashtian branch, Ashtian, Iran

*[2] Department of Biology, Islamic Azad University, Qom branch, Qom, Iran

[3] Department of Biology, Islamic Azad University, Ashtian branch, Ashtian, Iran

Abstract

Cadmium is a heavy metal which accumulates in soil because of using chemical fertilizers & industrial stir. Heavy metals tension prevents the growth of plants due to mainly disturbance of the balance between production of reactive oxygen species and antioxidant defense and thereby causing oxidative stress. purpose of this study is determine the effect of cadmium on the activity of Superoxide dismutase, Polyphenol Oxydase, catalase and malondialdehyde also the content of Anthocyanin and chlorophyll a and b in were measured.

The samples picked up in 30th day and used it for determination of biochemical parameters.

the activity of SOD in aerobiosis bodies and CAT in aerobiosis bodies and in roots also Malondialdehyde has been significant increasing in shoot.

The cadmium treatment have showed the meaningfull inclucreasing of PPO in 5cadmium and also the significant decreasing in 0.5 cadmium in aerobiosis bodies .Anthocyanin and a and b chlorophylls significant has decreased.

Keywords: Cadmium, oxidative stress, *Brassica oleracea*.